

# IMUNOHEMATOLOGI DAN BANK DARAH



Oleh :

Desi Aryani, AMAK., SE., M.A



Universitas Binawan  
Teknologi Laboratorium Medis  
2023

## LEMBAR PENGESAHAN

Judul Modul : Imunohematologi dan Bank Darah  
Mata Kuliah : Imunohematologi dan Bank Darah  
Kode Mata Kuliah/SKS : TLM20III242/2 SKS  
Nama Penulis : Desi Aryani, AMAK., SE., M.A  
NIP/NIDN : 0316127504  
Program Studi : Teknologi Laboratorium Medis

Jakarta, 13 Januari 2023

Menyetujui,

Ketua Prodi

Tim Penyusun



**NS. Widada., S.Pd., M.Kes**  
NIDN. 0315126603

The image shows a handwritten signature in black ink, which appears to be 'Desi Aryani'.

**Desi Aryani, AMAK, SE, M.A**  
NIDN. 0316127504

Pimpinan Insitusi



**Mia Srimiati, S.Gz., M.Si**  
NIDN 0309078903

# **TIM PENYUSUN MODUL**

MODUL IMUNOHEMATOLOGI DAN BANK DARAH

**Penulis:**

Desi Aryani, AMAK., SE., M.A

**Cover & Layout**

<https://www.kompas.com/sains/read/2022/09/29/120000523/mengenal-golongan-darah-pada-manusia-?page=all>

**Alamat**

Jl. Raya Kalibata No.25,  
RT.3/RW.1, Kalibata,  
Pancoran, SouthJakarta City,  
Jakarta 12750

Email: desi.aryani@binawan.co.id

## **PRA KATA**

Puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas limpahan hidayahnya sehingga penulis dapat menyusun “Modul Imunohematologi dan Bank Darah” dengan baik. Buku ini berisi tentang antigen dan antibodi, sistem golongan darah, sistem administrasi donor darah, teknologi pengolahan darah, dan reaksi transfusi darah.

Buku ini dapat disusun dengan baik berkat kerjasama dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu saya menyampaikan banyak terima kasih kepada segenap pihak yang telah berkontribusi secara maksimal dalam penyelesaian buku ini.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penulisan buku, baik dari segi tata bahasa, susunan kalimat maupun isi. Oleh karena itu penulis menerima segala kritik dan saran yang membangun dari para pembaca.

Akhir kata semoga buku ini dapat menambah ilmu pengetahuan dan memberikan manfaat khususnya bagi prodi D-IV Teknologi Laboratorium Medis Universitas Binawan Tahun 2023.

**Jakarta, 13 Januari 2023**



**Desi Aryani, AMAK., SE., MA**

## **TATA TERTIB PRAKTIKUM**

1. Mahasiswa hadir tepat waktu, masuk di dalam zoom meeting 10 menit sebelum perkuliahan dimulai.
2. Selama pembelajaran melalui daring, persentase kehadiran mahasiswa 100% baik teori maupun praktikum. Jika mahasiswa tidak hadir dalam tatap muka, maka harus ada pemberitahuan sebelumnya. Mahasiswa yang tidak hadir dalam perkuliahan, maka wajib menggantinya di hari lain yang sudah disepakati dosen dan mahasiswa.
3. Saat pembelajaran daring berlangsung, baik teori maupun praktikum mahasiswa mengenakan pakaian sopan, di ruang perkuliahan yang nyaman dengan serius mengikuti pembelajaran, tidak sambil tiduran, dengan sikap sopan dan menonaktifkan voice jika sedang berlangsung paparan. Pengaktifan videoberlangsung saat absensi awal, tengah dan akhir.
4. Pembelajaran luring dilaksanakan di kampus terutama ruang laboratorium dengan mengikuti jadwal yang tersedia dan peraturan protokol kesehatan yang sedang berlangsung.
5. Tidak mengotori ruang kuliah dan laboratorium.
6. Tidak melakukan aktifitas selain pembelajaran yang sedang berjalan.
7. Tidak terlambat melebihi 15 menit setelah pembelajaran dimulai kecuali dengan alasan yang dapat diterima oleh dosen yang bersangkutan.
8. Pada saat praktikum, mahasiswa wajib untuk :
  - a. Menggunakan Alat Pelindung Diri (Jas lab, sarung tangan, sepatu tertutup dll).
  - b. Membawa dan menyiapkan peralatan praktikum sesuai dengan materi yang telah ditentukan.
  - c. Menjaga kebersihan pribadi, meja kerja dan peralatan praktikum yang digunakan.
  - d. Membuat laporan praktikum.
  - e. Wajib mengikuti/menyelesaikan seluruh materi praktikum untuk dapat mengikuti evaluasi.

Bagi mahasiswa yang **melanggar tata tertib di atas tidak diperkenankan mengikuti pembelajaran.**

## DAFTAR ISI

<b>LEMBAR PENGESAHAN</b> .....	i
<b>TIM PENYUSUN MODUL</b> .....	ii
<b>PRA KATA</b> .....	iii
<b>TATA TERTIB PRAKTIKUM</b> .....	iv
<b>DAFTAR ISI</b> .....	v
<b>BAB I PENGANTAR IMUNOLOGI</b> .....	1
1.1. Definisi Imunohematologi .....	1
1.2. Sistem Imunitas Tubuh .....	1
1.3. Antigen (Imunogen) .....	4
1.4. Antibodi (Imunoglobulin) .....	4
1.5. Mekanisme Respon Imun .....	5
<b>BAB II SISTEM GOLONGAN DARAH</b> .....	8
2.1. Pendahuluan .....	8
2.2. Golongan Darah ABO .....	8
2.3. Golongan Darah Rhesus .....	20
<b>BAB III PEMERIKSAAN IMUNOHEMATOLOGI (PEMERIKSAAN PRE – TRANSFUSI)</b> .....	23
3.1. Persiapan Alat dan Bahan .....	23
3.2. Pemeriksaan Golongan Darah ABO dan Rhesus .....	28
3.3. Pemeriksaan Golongan Darah ABO dan Rhesus Metode Bioplate .....	32
3.4. Pemeriksaan golongan darah abo dan rhesus metode tabung ( <i>tube test</i> ) .....	35
3.5. Pemeriksaan golongan darah rhesus WEAK D (DU) .....	39
3.6. Pemeriksaan Uji Silang Serasi (Crossmatch) .....	40
3.7. Pemeriksaan Crossmatch Metode Gel Test .....	44
3.8. Pemeriksaan <i>Coomb's test</i> .....	46
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	vi

# **BAB I**

## **PENGANTAR IMUNOLOGI**

### **1.1. Definisi Imunohematologi**

Imunohematologi terdiri dari dua kata, yaitu “immune” yang berhubungan dengan respon imun, dan “hematologi” yaitu ilmu yang mempelajari tentang darah. Pada buku ini akan membahas tentang imunologi dasar, penerapan konsep imunologi pada pemeriksaan laboratorium dan transfusi darah, serta komponen darah. Topik yang akan dibahas antara lain: sistem antigen golongan darah dan antibodi yang terkait, pemeriksaan pra-transfusi, donor komponen darah, prinsip pengumpulan sampel darah, resipien (penerima komponen darah), kondisi klinis yang membutuhkan transfusi darah, serta efek samping pasca transfusi darah.

Sistem imun merupakan sistem yang paling beragam pada tubuh manusia dan berfungsi untuk perlindungan organisme host. Mekanisme pertahanan spesifik dimulai dari permukaan tubuh eksternal, kemudian meluas hingga mencakup jaringan, organ, dan pertahanan seluler. Sistem imun berperan membedakan *self* dari *non-self* dan menghancurkan organisme berbahaya.

Organisme *non-self* dapat berupa uniseluler sampai multiseluler, termasuk bakteri, virus, jamur, dan parasit. Sistem imun tubuh tidak bersifat otonom, melainkan bekerjasama dengan sistem lain di dalam tubuh. Sistem yang berinteraksi dengan sistem imun yaitu sistem hematopoietik, pencernaan, pernafasan, dan saraf. Tanpa adanya sistem imun maka sistem tubuh lain beresiko diserang oleh organisme patogen. Oleh karena itu, sistem imun mempunyai peran vital pada tubuh manusia.

### **1.2. Sistem Imunitas Tubuh**

Imunologi merupakan ilmu yang mempelajari tentang imunitas atau kekebalan akibat adanya rangsangan molekul atau substansi asing dari luar

maupun dari dalam tubuh, baik yang bersifat infeksius maupun non infeksius. Substansi yang dapat menimbulkan respon imun disebut antigen. Tubuh memiliki sistem pelacakan dan penjagaan terhadap substansi atau molekul asing yang disebut sistem imun. Sistem imun akan memberikan respon dan melindungi tubuh terhadap zat asing, seperti mikroorganisme penyebab penyakit patogen (virus, bakteri, parasit, jamur), sel tumor, sel/jaringan alogen, bahan atau zat yang bersifat antigen (alergen). Terdapat dua macam sistem imun, yaitu sistem imun non spesifik (*innate immunity*) dan sistem imun spesifik (*adaptive immunity*). Kedua sistem ini berperan dalam melindungi tubuh dan mengeliminasi agen penyakit.

#### **A. Sistem Imun Non Spesifik**

Sistem imun non spesifik adalah pertahanan tubuh yang bersifat tidak spesifik dan berfungsi sebagai barier terdepan pada saat terjadinya infeksi penyakit, sehingga sering disebut natural atau *native immunity*. Komponen utama sistem imun non spesifik (bawaan) yaitu pertahanan fisik dan kimiawi seperti epitel dan substansi antimikroba yang diproduksi oleh epitel, berbagai protein dalam darah seperti komponen sistem komplemen, mediator inflamasi, sitokin, sel fagosit (sel-sel polimorfonuklear, makrofag, *Natural Killer*). Usaha tubuh dalam mempertahankan diri terhadap masuknya antigen bakteri adalah dengan cara menghancurkan bakteri yang masuk secara non spesifik dengan proses fagositosis, tanpa memperhatikan perbedaan kecil pada antigen tersebut. Proses fagositosis melibatkan sel makrofag, neutrofil, dan monosit.

#### **B. Sistem Imun Spesifik**

Sistem imun spesifik ialah sistem pertahanan tubuh kedua ketika sistem imun non spesifik tidak dapat mengeliminasi agen penyakit. Hal ini terjadi apabila fagosit tidak mengenali agen infeksius karena hanya sedikit reseptor yang cocok untuk agen infeksius atau agen tidak bertindak sebagai faktor antigen terlarut (soluble antigen) yang aktif. Sehingga diperlukan molekul spesifik yang akan berikatan langsung dengan agen infeksius yang dikenali oleh



antibodi untuk selanjutnya terjadi fagositosis. Sistem imun spesifik mempunyai ciri utama, antara lain:

➤ **Spesifisitas**

Respon yang timbul terhadap antigen pada komponen struktural kompleks protein atau polisakarida yang berbeda, tidaklah sama. Bagian dari antigen yang dikenali oleh limfosit disebut determinan antigen (epitop)

➤ **Diversitas**

Limfosit memiliki reseptor terhadap antigen dengan bentuk struktur yang berbeda.

➤ **Memori**

Limfosit mempunyai kemampuan dalam mengingat antigen yang pernah masuk ke dalam tubuh dan memberikan respon yang lebih efektif pada paparan berikutnya.

➤ **Spesialisasi**

Sistem imun memberikan respon dengan cara yang berbeda terhadap berbagai jenis mikroba.

➤ **Membatasi diri (*self limitation*)**

Setelah rangsangan antigen, respon imun normal akan mereda dalam waktu tertentu. Ini dikarenakan antigen yang masuk telah disingkirkan dan adanya regulasi umpan balik yang menyebabkan terhentinya respon imun tersebut.

➤ **Membedakan *self* dan *non-self***

Pada sistem imun normal akan menunjukkan toleransi terhadap antigen tubuh sendiri.

### **C. Respon Imun Tubuh**

Respon imun tubuh dipengaruhi oleh kemampuan sistem imun untuk mengenali molekul asing (antigen) yang terdapat pada patogen potensial dan menstimulasi reaksi yang tepat untuk menyingkirkan sumber antigen bersangkutan. Proses pengenalan antigen dilakukan oleh limfosit yang merupakan unsur utama sistem imun, kemudian diikuti oleh fase efektor

yang melibatkan berbagai jenis sel. Limfosit memiliki kemampuan diversifikasi karena harus mengenal semua antigen pada patogen potensial dan diwaktu bersamaan, harus mengabaikan molekul-molekul jaringan tubuh sendiri (toleransi).

Kemampuan diversifikasi dimiliki oleh komponen-komponen sistem imun yang terdapat dalam jaringan limforetikuler yang terletak diseluruh tubuh, yaitu: sumsum tulang, kelenjar limfe, limpa, kelenjar getah bening, jantung, timus, sistem saluran nafas, usus halus, usus besar, dan sebagainya. Sel-sel yang terdapat pada jaringan ini berasal dari sel induk (*stem cell*) dalam sumsum tulang yang berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel, kemudian beredar dalam tubuh melalui darah, getah bening, dan jaringan limfoid serta dapat menunjukkan respon terhadap suatu stimulasi sesuai dengan sifat dan fungsinya masing-masing.

### **1.3. Antigen (Imunogen)**

Antigen merupakan substansi atau molekul yang dapat merangsang pembentukan antibodi. Namun, kini antigen didefinisikan sebagai substansi yang mampu bereaksi dengan antibodi yang diproduksi oleh sel B atas rangsangan imunogen, tanpa mempertimbangkan apakah antigen bersifat imunogenik. Ini artinya semua imunogen adalah antigen, namun tidak semua antigen adalah imunogen. Imunogen memiliki kemampuan dalam menginduksi respon imun dengan bantuan sel T. Tidak semua bagian dari antigen dapat berinteraksi dengan molekul sistem imun. Bagian dari antigen yang dapat berikatan dengan antibodi atau dengan reseptor spesifik pada limfosit T disebut epitop. Ini menandakan bahwa antigen mempunyai beberapa epitop.

### **1.4. Antibodi (Imunoglobulin)**

Antibodi atau imunoglobulin dihasilkan oleh sistem imun dan penting untuk pencegahan dan perlawanan infeksi oleh substansi asing seperti bakteri, virus, parasit, dan zat patogen lainnya. Antibodi merupakan glikoprotein yang berikatan khusus dengan substansi atau molekul asing yang disebut antigen. Struktur dasar antibodi terdiri dari dua rantai berat (*heavy chain*) dan 2 rantai ringan (*light chain*) yang identik serta

dihubungkan bersama oleh ikatan disulfide (S-S). Molekul ini dapat dipecah menjadi tiga fragmen oleh enzim proteolitik, yaitu 2 fragmen yang mempunyai susunan sama terdiri atas rantai berat dan rantai ringan, dinamakan fragmen Fab yang dibentuk oleh domain terminal-N. Dan 1 fragmen yang terdiri dari rantai berat saja, dinamakan fragmen Fc yang dibentuk oleh domain terminal-C. Fragmen Fab dengan antigen binding site berfungsi untuk mengikat antigen. Sedangkan fragmen Fc tidak memiliki kemampuan dalam mengikat antigen tetapi dapat bersifat sebagai determinan antigen, serta berfungsi sebagai efektor sekunder yang menentukan sifat biologis dari imunoglobulin tersebut.

### **1.5. Mekanisme Respon Imun**

Transfusi darah terutama berkaitan dengan produk dari antibodi sel B yang dibuat sebagai respon terhadap bahan antigenik seperti alogenis (“asing”: dari donor selain resipien transfusi) eritrosit dan terkadang leukosit, trombosit, dan obat-obatan. Imunisasi, atau sensitisasi (paparan antigen asing yang menghasilkan respon imun) pada substansi ini, terjadi melalui transfusi darah atau kehamilan. Elemen seluler dari donor atau janin mengandung antigen yang dikenali oleh sistem imun resipien sebagai non-self. Ketika dipresentasikan kepada resipien, maka antigen ini diproses oleh sistem imun resipien serta dapat mengakibatkan pembentukan antibodi yang terdeteksi. Keadaan ini dapat terjadi pada 30% sampai dengan 70% dari semua orang yang ditransfusikan dengan komponen darah yang mengandung leukosit.

Antibodi yang dibuat sebagai respon terhadap produk darah “asing” kemungkinan dari subkelas IgG atau IgM. Antibodi IgM umumnya merupakan hasil dari respon imun primer, memiliki konsentrasi yang relatif rendah serta dapat dideteksi dalam waktu 3-4 minggu. Pada paparan ulang antigen non-*self*, dapat terjadi respon sekunder dengan tipikal antibodi IgG yang diproduksi dalam 1 hingga 2 hari dalam jumlah yang jauh lebih besar daripada respon IgM. Respon sekunder dikenal sebagai respon anamnestic. Banyak faktor yang dapat mempengaruhi respon imun primer dan sekunder, misalnya imunogenisitas antigen, kelangsungan hidupnya dalam sirkulasi,

dan kekuatan sistem imun resipien. Respon imun resipien ini tergantung pada faktor-faktor, seperti usia, status gizi, dan paparan sebelumnya.

#### **A. Mekanisme Aglutinasi**

Reaksi antigen-antibodi mengikuti hukum aksi massa dalam reaksi kombinasi sederhana ( $Ab + Ag \leftrightarrow \text{kompleks } AbAg$ ) yang kemudian diikuti oleh reaksi sekunder dan tersier. Reaksi bersifat reversibel dan tergantung pada beberapa faktor. Namun yang paling penting adalah kecocokan dari tempat pengikatan antibodi (*binding site*) dan antigen, saling melengkapi muatan, konsentrasi antigen dan antibodi, medium suspensi pH, suhu, serta kekuatan ionik.

#### **B. Antibodi Mengikat Eritrosit**

Pengikatan eritrosit-antibodi untuk membentuk reaksi aglutinasi yang visible (terlihat), maka jumlah minimum molekul antibodi harus terikat dengan antigen. Sehingga semakin besar jumlah antibodi yang terikat pada setiap eritrosit maka semakin kuat reaksi yang dapat diamati. Selain itu, meningkatkan rasio serum terhadap sel memiliki efek adanya aglutinasi yang dapat diamati serta peningkatan uji sensitivitas. Sebaliknya, meningkatnya konsentrasi antigen oleh peningkatan kekuatan suspensi eritrosit pada sistem pengujian menghasilkan sensitivitas yang lebih rendah, dan lebih sedikit molekul antibodi yang terikat pada tiap eritrosit.

#### **C. Hemaglutinasi**

Tahap kedua dari reaksi antigen eritrosit-antibodi menyebabkan aglutinasi atau lebih tepatnya hemaglutinasi. Hemaglutinasi sebagai reaksi yang dapat diamati dapat terjadi atau tidak terjadi sebagai konsekuensi dari pasien yang diimunisasi dengan antigen sel darah merah alogenik, dan tergantung dari beberapa variabel, antara lain: jumlah dan tipe antibodi yang ada; ukuran, jumlah, dan lokasi antigen site yang tersedia; pH, temperatur, dan kekuatan ion sistem pengujian. Antibodi golongan darah tergantung pada kelasnya. Dapat bereaksi dalam kisaran  $4^{\circ}\text{C}$  sampai dengan  $37^{\circ}\text{C}$ , dan tingkat disosiasi meningkat ketika suhu meningkat lebih dari  $37^{\circ}\text{C}$ .

Prinsip ini digunakan dalam semua tes antigen-antibodi, mulai dari tes kompatibilitas hingga prosedur elusi antibodi yang menggunakan pemanasan untuk menghilangkan antibodi dari permukaan eritrosit. Suhu sangat berpengaruh pada reaksi antigen-antibodi, sebagai contoh ikatan anti-D lebih banyak dan efisien pada suhu 37°C daripada suhu 4°C. Tidak ada metode serologis tunggal yang dapat digunakan untuk mendeteksi semua jenis antibodi golongan darah. Hal ini disebabkan karena metode tunggal tidak dapat menunjukkan reaktivitas. Ini tidak berarti bahwa serum tidak mengandung antibodi spesifik, namun ini tidak dapat ditunjukkan oleh suatu teknik tertentu, pada suhu dan pH tertentu. Aglutinasi atau reaksi penggumpalan yang diamati secara in vitro karena adanya ikatan antigen dan antibodi serta semua variabel yang mempengaruhi karakter dan jumlah reaktivitas yang dapat diamati.

#### **D. Reaksi Tersier**

Step terakhir dalam pengikatan eritrosit-antibodi mengarah pada destruksi target eritrosit termasuk aktivasi komplemen, fagositosis, opsonisasi, kemotaksis, adherens imun, dan degranulasi seluler.

## **BAB II**

### **SISTEM GOLONGAN DARAH**

#### **2.1 Pendahuluan**

Sebelum tahun 1901, diperkirakan semua golongan darah adalah sama. Kondisi tersebut mendorong terjadinya reaksi transfusi yang fatal sampai menyebabkan kematian. Sampai pada tahun 1901, ditemukannya sistem golongan darah ABO oleh Karl Landstainer, seorang ilmuwan berkebangsaan Austria yang menyatakan bahwa setiap individu mempunyai karakteristik golongan darah yang dibedakan menjadi golongan darah grup A, B, dan O. Selanjutnya, pada tahun 1902, Alfred Decastello dan Adriana Sturli menemukan golongan darah AB, yang melengkapi sistem golongan darah ABO. Penemuan tersebut menunjukkan bahwa transfusi darah tidak boleh dilakukan pada dua orang dengan golongan darah berbeda. Istilah sistem golongan darah mengacu pada jenis antigen (Ag) yang terdapat pada sel darah merah yang spesifisitasnya ditentukan dari gen yang berada pada kromosom. Sedangkan Istilah jenis golongan darah mengacu pada spesifisitas hasil reaksi sel darah merah terhadap jenis antisera tertentu.

#### **2.2 Golongan Darah ABO**

Sistem golongan darah ABO penting dalam bidang ilmu kedokteran terutama transfusi dan transplantasi. Sistem ABO paling penting dalam bidang transfusi, karena transfusi sistem ABO yang inkompatibel akan mengakibatkan gejala reaksi transfusi hemolitik (HTR) dan mengakibatkan koagulasi intravaskular diseminata (DIC), gagal ginjal, dan kematian. Terdapat 2 jenis inkompatibilitas ABO, yaitu:

1. Inkompatibilitas Mayor, di mana antibodi resipien akan menghancurkan eritrosit yang ditransfusikan (misalnya: A ke O, B ke O, A ke B, B ke A).
2. Inkompatibilitas Minor, di mana antibodi darah donor akan menghancurkan eritrosit resipien. (misalnya: O ke A, O ke B).

Inkompatibilitas mayor dalam transfusi darah harus dihindari. Walaupun inkompatibilitas minor biasanya dapat diabaikan ketika donor tidak memiliki antibodi ABO yang levelnya sangat tinggi, bila

memungkinkan untuk transfusi harus menggunakan darah donor dari golongan darah ABO yang sama dengan pasien. Tanda terjadinya destruksi eritrosit kemungkinan tampak setelah transfusi whole blood golongan darah O atau, dalam keadaan luar biasa, Packed Red Cell (PRC), kepada resipien golongan darah ABO lainnya. Ini menyebabkan destruksi eritrosit pasien karena ditransfusikannya antibodi ABO. Anti-A1 jarang bermakna klinis secara signifikan dan sebagian besar sampel tidak aktif pada suhu lebih dari 25°C, meskipun ada beberapa laporan HTR yang disebabkan oleh anti-A1.

Diantara 33 sistem golongan darah, sistem ABO merupakan yang paling penting dalam transplantasi dan transfusi darah. Hal ini disebabkan individu berusia lebih dari 6 bulan memiliki antibodi anti- A dan atau anti- B yang bermakna signifikan secara klinis dalam serumnya. Golongan Darah A mengandung antibodi terhadap golongan golongan darah B dalam serum dan sebaliknya. Sedangkan golongan darah O tidak mengandung antigen A atau B tapi keduanya merupakan antibodi dalam serum.

#### **A. Sejarah Golongan Darah ABO**

Pada tahun 1900 Karl Landsteiner menemukan sistem golongan darah ABO. Ini menjadi awal mula adanya bank darah dan kedokteran transfusi darah. Dengan serangkaian percobaan, Karl Landsteiner berhasil menemukan 3 dari 4 golongan darah dalam sistem golongan darah ABO, yaitu A, B, dan O. Kemudian tidak lama setelah itu, rekannya, yaitu Alfred von Decastello dan Adriano Sturli menemukan golongan darah AB. Pada penelitian selanjutnya, Karl Landsteiner menghubungkan adanya antigen ABO pada eritrosit dan antibodi aglutinasi resiprokal dalam serum orang yang sama, misalnya antigen A pada eritrosit dengan dengan anti-B pada serum. Penemuan ini dikenal dengan Hukum Landsteiner, yang merupakan dasar untuk semua terapi transfusi serta sebagai pedoman untuk menentukan kompatibilitas atau kecocokan antara donor dan resipien. Golongan darah ABO merupakan pemeriksaan utama yang dilakukan di bank darah.

## **B. Persebaran Golongan Darah ABO di Dunia**

### **a. Golongan Darah O**

Individu dengan golongan darah O disebut "donor universal" karena darah mereka kompatibel dengan semua golongan darah ABO. Golongan darah ini yang paling banyak jumlahnya di seluruh dunia, termasuk Amerika Serikat dan Eropa Barat. Penduduk asli Amerika Tengah dan Selatan, memiliki frekuensi golongan darah O sangat tinggi, hampir 100%. Golongan darah O juga banyak jumlahnya di antara penduduk asli Australia.

### **b. Golongan Darah A**

Golongan darah A banyak terdapat di Eropa Tengah dan Timur. Sekitar 45-50% penduduk di negara Austria, Denmark, Norwegia, dan Swiss memiliki golongan darah A. Pada penduduk Polandia dan Ukraina populasi golongan darah O mencapai 40%. Sekitar 80% orang Indian Blackfoot di Montana memiliki golongan darah A.

### **c. Golongan Darah B**

Golongan darah B banyak terdapat di Cina dan India, mencapai 25% dari populasinya. Golongan darah B jarang ditemukan di negara-negara Eropa dan penduduk Amerika yang berasal dari Eropa, hanya ditemukan sekitar 10% dari populasi ini.

### **d. Golongan Darah AB**

Golongan darah AB merupakan golongan darah yang paling langka. Individu golongan darah AB dikenal sebagai "resipien universal" karena dapat menerima transfusi darah dari semua golongan darah ABO. Golongan darah O paling banyak terdapat di Jepang, wilayah Cina, dan di Korea, jumlahnya mencapai 10% dari populasi penduduknya.

## **C. Antigen Sistem ABO dan H**

Antigen yang terdeteksi pada pemeriksaan laboratorium, termasuk antigen ABO terletak di permukaan eritrosit. Antigen ABO juga ditemukan pada limfosit, trombosit, organ, sel endotel, dan sel epitel. Antigen ABO berkembang dengan baik pada orang dewasa. Antigen ABO terdeteksi pada usia kehamilan 5 – 6 minggu. Pada bayi baru lahir menunjukkan antigen



yang lebih lemah namun antigen ABO berkembang seutuhnya pada usia 2 – 4 tahun. Hal ini disebabkan oleh percabangan oligosakarida. Pada orang dewasa jumlah percabangan rantai lebih banyak, bila dibandingkan dengan bayi baru lahir yang lebih banyak memiliki rantai linier. Percabangan rantai memungkinkan perlekatan molekul yang lebih banyak untuk menentukan spesifitas antigen H, termasuk molekul spesifik A dan atau B.

Pewarisan antigen ABO diperoleh dari kedua orangtua individu. Setiap individu mempunyai sepasang gen. Setiap gen menempati lokus identik pada kromosom 9. Terdapat kemungkinan 3 gen yang dapat diwariskan, yaitu A, B, dan O. Gen A dan B menghasilkan produk yang dapat terdeteksi. Sedangkan gen O merupakan produk yang tidak terdeteksi. Ekspresi gen A dan B adalah kodominan. Kombinasi gen (genotip) dan ekspresi sebagai golongan darah (fenotip). Pewarisan golongan darah ABO dari kedua orangtua. Antigen H merupakan prekursor dari antigen golongan darah ABO. Antigen H ada pada semua eritrosit, terlepas dari sistem ABO. Antigen H diperlukan untuk menghasilkan antigen A dan atau B. Gen H juga diwariskan dengan gaya mendelian dan menempati lokus pada kromosom 19. Setiap orangtua berkontribusi satu gen, baik H atau h. Kemungkinan kombinasi yang dapat terjadi adalah HH, Hh, dan hh. Individu yang secara genetik HH atau Hh akan menghasilkan antigen H, dan dapat terdeteksi pada eritrositnya.

Frekuensi munculnya antigen H pada populasi Kaukasia lebih dari 99,99%. Sedangkan individu yang menghasilkan genotip hh tidak menghasilkan antigen H dan memiliki fenotip Bombay Oh. Plasma individu dengan fenotip Bombay sering menunjukkan anti-H. Individu dengan fenotip Bombay homozigot untuk gen H (hh) langka ditemukan. Fenotip Bombay tidak mengekspresikan antigen H pada eritrositnya. Antigen H berfungsi sebagai prekursor, sehingga ketidakhadirannya menandakan tidak adanya antigen A dan B. Namun, individu tersebut menghasilkan isoantibodi terhadap antigen H, serta antigen A dan B.

Antigen H terdistribusi secara luas pada jaringan yang sama dengan antigen A dan B. Demikian juga pada individu "sekretor", dimana antigen

H dalam bentuk terlarut ditemukan dalam saliva dan semua cairan tubuh, kecuali cairan serebrospinal.

#### **D. Fenotip Defisiensi-H (Bombay Oh)**

Meskipun sistem golongan darah ABO dan H berbeda secara genetik, namun keduanya berhubungan erat secara biokimia dan level fenotip. Fenotipe defisiensi-H sangat jarang dan meliputi: defisiensi total antigen H (Fenotip Bombay atau Oh) atau defisiensi parsial (Parabombay).

Individu Oh Bombay sangat langka. Individu pertama yang terbukti pembawa sifat tersebut adalah orang India yang leluhurnya berasal dari Bombay, sehingga dinamakan Oh Bombay. Sel-selnya tidak diaglutinasi oleh anti-A, anti-B, anti-A,B atau anti-H. Individu Oh Bombay mempunyai antibodi anti-H, anti-A dan anti-B yang kuat di dalam serumnya. Sehingga mereka hanya bisa menerima transfusi hanya dengan golongan darah Oh. Tabel 2.3 menunjukkan perbedaan antara golongan darah O dan golongan darah Oh.

#### **E. Perkembangan Biokimia dan Struktural Antigen A, B, Dan H**

Ekspresi gen A, B, dan H tidak menghasilkan produksi antigen secara langsung. Namun, masing-masing gen mengkode produksi enzim yang dikenal sebagai transferase. Setiap transferase mengkatalisis transfer molekul karbohidrat ke rantai oligosakarida. Karbohidrat yang terikat menyajikan spesifitas antigenik. Kode gen O untuk protein tidak aktif secara enzimatis, sehingga tidak ada antigen yang diproduksi. Ringkasan dari molekul transferase.

#### **F. Struktur Umum Golongan Darah**

Antigen A, B, dan H memiliki struktur umum berupa rantai oligosakarida yang terikat pada protein atau molekul lipid. Struktur umum ini yang digunakan sebagai komponen struktural dasar untuk beberapa antigen. Berbagai sistem antigen dibangun dari struktur yang sama, menandakan saling mempengaruhinya sistem terkait. Antigen dengan

struktur dasar umum, antara lain: ABH, Lewis, P, dan I/i. Struktur oligosakarida yang umum adalah molekul karbohidrat yang terhubung dalam bentuk linier sederhana maupun struktur kompleks dengan tingkat percabangan yang tinggi. Terdapat dua variasi pada rantai oligosakarida, yaitu tipe 1 dan tipe 2. Perbedaan berdasarkan struktural perlekatan molekul gula terminal. Hal ini ditunjukkan pada Gambar 2.1. Rantai tipe 1 terdapat pada cairan dan sekresi tubuh sedangkan rantai tipe 2 ditemukan pada membran eritrosit. Rantai tipe 1 dibentuk oleh  $\beta$  1  $\rightarrow$  3 ikatan karbon nomor 1 D-galaktosa dengan karbon nomor 3 N-asetilglukosamin. Sedangkan rantai tipe 2 dibentuk oleh hubungan  $\beta$  1  $\rightarrow$  4 dari karbon nomor 1 D-galaktosa dengan karbon nomor 4 dari N-asetilglukosamin.

### **G. Status Sekretor**

Bentuk antigen A, B, dan H yang larut (soluble) dapat ditemukan dalam cairan sekresi tubuh. Kemampuan seseorang untuk mensekresikan substansi larut dalam cairan tubuh (water soluble) dikendalikan oleh gen yang diwariskan secara bebas. Gen sekretor adalah gen atau FUT2 ( $\alpha$  1,2 fucosyltransferase) pada kromosom 19. Alelnya adalah se bersifat amorf. Membutuhkan minimal satu gen Se untuk memunculkan sifat sekretori. Individu yang memiliki antigen ABH terlarut (SeSe atau Sese) dalam cairan sekresi tubuhnya disebut sekretor. Sedangkan individu yang tidak memiliki antigen A atau B di cairan sekresi tubuhnya (sese) disebut non sekretor.

Terdapat sekitar 78% populasi yang memiliki minimal satu gen Se. individu yang memiliki gen Se akan mengeluarkan antigen A, B, dan atau H. Enzim yang diproduksi oleh Se bekerja terutama pada rantai tipe 1 dan secara khusus di kelenjar sekretori. Berbeda dengan gen H yang bekerja hampir seluruhnya pada rantai tipe 2. Dan sebagian besar pada membran eritrosit. Kode gen Se untuk produksi transferase, L-fucosyltransferase. Enzim ini mendorong transfer L- fucose ke terminal galaktosa rantai tipe 1 dan membentuk zat H dalam cairan sekresi tubuhnya. Enzim transferase A dan B ditemukan dalam sekresi individu A dan B terlepas dari status sekretornya. Oleh karena itu ketika substansi H ditemukan pada cairan sekresi tubuh maka antigen A dan atau B akan terbentuk jika terdapat enzim

transferase yang sesuai. Contoh cairan tubuh yang terdapat substansi A, B dan H antara lain: saliva, keringat, air mata, semen, serum, dan cairan amniotik (air ketuban).

## **H. Subgrup A dan B**

### **1. Subgrup A1 dan A2**

Antigen grup A dibedakan menjadi beberapa subgrup. Terdapat 2 grup utama yaitu A1 (80% individu grup A) dan A2 (20% individu grup A). Individu dengan tipe AB dapat dibagi ke dalam persentase yang sama dari presentasi antigen. A1B membentuk sekitar 80% dan A2B sebanyak 20% dari semua individu AB. Grup A individu yang tersisa berada dalam salah satu dari banyak subgrup minor.

Antigen A1 dan A2 memiliki beberapa perbedaan secara kualitatif dan kuantitatif. Antigen eritrosit memiliki jumlah antigen yang berbeda pada permukaan selnya. Gen A1 menghasilkan transferase yang mempunyai kemampuan mengubah antigen H menjadi antigen A lebih besar daripada gen A2. Hal ini dikarenakan jumlah transferase yang diproduksi A1 dan A2 juga berbeda. A1 memproduksi 5 hingga 10 kali lebih banyak daripada jumlah transferase yang dihasilkan oleh A2. Adanya fenotip A2 ini disebabkan oleh 2 mutasi, yaitu substitusi Pro-156Leu dan delesi single nukleotida. Inilah yang menyebabkan aktivitas enzim transferase pada A2 lebih sedikit daripada A1.

Antigen A2 sebagian besar terdiri dari rantai oligosakarida linier sedangkan A1 memiliki jumlah rantai yang bercabang lebih banyak. Pada pemeriksaan rutin, perbedaan secara kualitatif tidak dapat terdeteksi namun dapat ditentukan secara biokimia. A1 dan A2 tidak dapat dibedakan menggunakan antisera umum, karena sama-sama bereaksi dengan anti A, dan anti A,B. Lectin, dan Dolichos biflorus dapat digunakan untuk mendapatkan ekstrak dengan spesifitas anti A1. Dolichos biflorus dapat bereaksi secara khusus dengan sel A1 dan hasilnya negatif dengan A2.

Individu A2 dapat mengembangkan antibodi terhadap antigen A1. Pola reaksi reverse yang khas dari individu golongan darah A yaitu tidak terjadi aglutinasi dengan sel A (tidak ada anti- A) dan terjadi aglutinasi

dengan sel B (ada anti-B). Pada orang A2 dengan anti A1, sel-sel A juga akan diaglutinasi oleh golongan darah A. Sehingga perbedaan ini harus dikonfirmasi melalui pengujian eritrosit dengan *Dolichos biflorus* lectin. Terdapat subgrup A lain yang jarang muncul, serta dipengaruhi secara genetik. Subgrup ini antara lain: A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, A<sub>3</sub>, A<sub>x</sub>, A<sub>m</sub>, A<sub>end</sub>, A<sub>el</sub>, dan A<sub>bantu</sub>.

## **2.Subgrup B**

Subgrup B sangat jarang, dan jarang ditemukan dibandingkan dengan subgrup A. Metode untuk mendeteksi dan mengklasifikasikan subgrup B mirip dengan yang digunakan pada subgrup A. Subgrup B antara lain: B<sub>3</sub>, B<sub>x</sub>, B<sub>m</sub>, dan B<sub>el</sub>.

### **I. Antibodi ABO**

Sistem imun membentuk antibodi terhadap antigen golongan darah ABO mana pun yang tidak ditemukan pada eritrosit individu. Dengan demikian, individu golongan darah A akan memiliki antibodi anti-B dan individu golongan darah B akan memiliki antibodi anti-A. Golongan darah O akan memiliki baik anti-A dan anti-B dalam serumnya. Golongan darah AB yang paling jarang, dan mereka tidak memiliki anti-A atau anti-B dalam serumnya.

Antibodi ABO dalam serum diperoleh secara alami, produksinya di stimulasi ketika sistem imun bertemu dengan antigen golongan darah ABO yang “hilang” dalam makanan atau dalam mikroorganisme. Ini terjadi pada usia dini karena gula yang identik dengan, atau sangat mirip dengan antigen golongan darah ABO yang ditemukan diseluruh alam. Lokus ABO mempunyai 3 bentuk alel utama, yaitu: A, B, dan O. Alel A mengkodekan glikosiltransferase yang menghasilkan antigen A (N-asetilgalaktosamin merupakan gula immunodominannya), dan alel B mengkodekan glikosiltransferase yang menghasilkan antigen B (D-galaktosa merupakan gula immunodominannya). Antibodi ABO memiliki signifikansi klinis utama disebabkan 2 hal, yaitu: (1) karena terjadi secara alami dan ditemukan secara universal, serta (2) bersifat sangat reaktif.

Antibodi sistem ABO hadir segera setelah kelahiran pada paparan agen lingkungan yang susunan antigennya mirip dengan antigen A dan B

yang ditemukan pada eritrosit. Konsentrasi atau titer antibodi ini sangat bervariasi. Antibodi NRCS (non-red cell stimulated) sistem ABO pada dasarnya merupakan IgM, walaupun juga ditemukan adanya IgG dan IgA. Antibodi ini mengikuti sifat umum dari antibodi IgM (bereaksi paling baik pada suhu kamar atau dibawahnya, dapat mengaktifkan komplemen, dan merupakan aglutinin saline). Versi IgM dan IgA dari antibodi ABO tidak menembus barrier plasenta. Namun, versi IgG mampu menembus plasenta serta dapat menyebabkan penyakit hemolitik pada bayi baru lahir.

Bentuk imunitas antibodi ABO merupakan hasil dari paparan terhadap eritrositin kompatibel atau sumber antigen BO lainnya. Bentuk imunitas ini umumnya menjadi IgG, menyebabkan meningkatnya resiko transfer transplasental dari antibodi ABO pada masa kehamilan. Kemudian, bentuk imunitas dari antibodi ABO tidak mudah dihambat oleh antigen A dan B yang bersifat soluble. Hal ini menunjukkan bahwa antibodi yang timbul akibat sensitisasi eritrosit mampu mendeteksi perbedaan halus antara rantai prekursor tipe I dan tipe II yang menghasilkan antigen A dan B.

➤ **Anti-A**

Anti-A terdapat dalam serum individu golongan darah B yang terpapar agen lingkungan yang mirip dengan antigen A dan akan menyebabkan aglutinasi eritrosit dari individu golongan darah A dan AB. Sebagian besar anti-A ini adalah IgM, meskipun kemungkinan ada IgG dan IgA dalam jumlah kecil. Karena itu, anti-A dapat menyebabkan aglutinasi eritrosit yang tersuspensi dalam saline dan mengaktifkan komplemen dengan mudah. Hal ini dapat menyebabkan destruksi intravaskular yang cepat dari eritrosit yang membawa antigen A. Secara fungsional anti-A dapat dibagi menjadi dua komponen, yaitu anti-A1, yang bereaksi dengan sel A1 namun tidak bereaksi dengan sel A2, dan anti-A umum, yang bereaksi dengan sel A1 dan A2. A1 dan A2 adalah dua subkelompok A yang paling umum, masing-masing mewakili sekitar 80% dan 20% dari total jumlah golongan darah A. Sedangkan subgrup lain sangat jarang ditemukan.

Meskipun secara fungsional dapat dibedakan, anti-A1 ini juga dapat ditunjukkan dengan menghilangkan sel A2 pada adsorpsi lengkap. Ini dapat

dijelaskan oleh sedikit perbedaan dalam antigen umum pada permukaan eritrosit pada individu A2. Seperti yang telah dijelaskan sebelumnya bahwa terdapat perbedaan pada antigen antara eritrosit individu A1 dan A2 yang terletak pada jumlah relatif percabangan yang terjadi pada struktur prekursor untuk antigen ABH. Antigen A1 lebih bercabang sehingga bereaksi berbeda dengan anti-A daripada antigen A2 yang bercabang lebih sedikit. Ini juga menjelaskan mengapa pada bayi baru lahir, yang awalnya sebagai A2, pada akhirnya akan mengekspresikan fenotip A1. Dengan demikian, antibodi yang dikenal sebagai anti-A umum sebenarnya dapat menjadi bentuk anti-A yang bereaksi berbeda karena hambatan sterik yang disebabkan oleh antigen A1 yang bercabang-cabang.

➤ **Anti-A1**

Anti-A dari individu golongan darah B, ketika dicampur dengan sel A2, dapat menyebabkan adsorpsi dari komponen anti-A yang disebut anti-A umum, membiarkan komponen dengan aktivitas anti-A1 yang jelas. Pereaksi ini disebut anti-A1 (teradsorpsi) dan dapat digunakan untuk membedakan antara sel A1 dan A2. Pereaksi yang dibuat dari tanaman *Dolichos biflorus* (lektin), bila diencerkan dengan benar, reagen ini dapat digunakan untuk membedakan antara sel A1 dan A2.

➤ **Anti-B**

Serum dari individu golongan darah A mengandung antibodi yang pada dasarnya mengalami aglutinasi (penggumpalan) pada golongan darah B dan AB. Anti-B, seperti anti-A, muncul paling sering sebagai IgM tanpa stimulasi eritrosit, serta mungkin memiliki IgG dan IgA dalam jumlah kecil. Bentuk imunitas antibodi ini bereaksi serupa dengan bentuk imunitas anti-A. Antibodi ini dengan mudah menggumpalkan sel-sel yang tersuspensi dalam saline, mengaktifkan komplemen, dan dapat dengan cepat menghancurkan eritrosit yang inkompatibel melalui hemolisis intravaskular. Sedangkan subgrup B yang lemah dapat bereaksi berbeda dengan anti-B.

➤ **Anti-A, B**

Anti-A, B ditemukan dalam serum semua individu golongan darah

O bersama dengan beberapa komponen anti-A dan anti-B. Anti-A, B bukan hanya campuran anti-A dan anti-B, seperti yang dapat ditunjukkan oleh adsorpsi diferensial dengan sel A atau B. Salah satu dari sel-sel ini mampu menyerap sepenuhnya semua aktivitas anti-A atau anti-B. selanjutnya, ketika uji elusi dilakukan, aktivitas anti-B dapat ditunjukkan oleh antibodi yang bereaksi dengan sel A, dan aktivitas anti-A dapat ditunjukkan oleh antibodi yang dielusi dari sel B. Antibodi tidak hanya mampu bereaksi dengan sel-sel A atau B, namun umumnya memiliki titer dan aviditas yang lebih tinggi daripada NRCS anti-A atau anti-B.

Ini yang menyebabkan anti-A, B dapat digunakan untuk mengkonfirmasi donor golongan darah O, dalam pemeriksaan sampel darah bayi baru lahir, dan dapat membantu mengidentifikasi subgrup A dan B yang lemah. Bentuk IgG anti-A, B lebih mungkin terjadi pada serum individu golongan darah O yang telah peka oleh antigen A atau B. Oleh karena itu, ibu golongan darah O lebih cenderung memiliki IgG anti-A, B dalam serum mereka ketika membawa janin golongan darah A atau B. Janin tersebut kemungkinan besar akan menderita penyakit hemolitik pada bayi baru lahir dari bentuk IgG anti-A, B dalam hubungannya dengan IgG anti-A atau anti-B atau dari anti-A, B saja. Ini harus selalu dipertimbangkan ketika eluat dari sampel bayi baru lahir diuji inkompatibilitas ABO. Antibodi pada permukaan eritrosit bayi baru lahir kemungkinan besar adalah anti-A, B dan harus dilaporkan demikian.

➤ **Anti-H**

Anti-H dapat ditemukan sebagai antibodi yang lemah dan bereaksi dalam temperatur rendah dalam serum grup A1 dan menjadi individu A1B. Ini juga ditemukan sebagai antibodi NRCS yang kuat dalam serum orang yang mengekspresikan fenotip Bombay (Oh). Antigen H yang ada pada individu A1 dan A1B adalah yang konsentrasinya paling rendah dari semua golongan darah ABO. Ini dapat menyebabkan kegagalan dalam untuk mengenali antigen H sebagai "self" dan untuk membuat antibodi terhadap H. Hal Ini merupakan penjelasan untuk anti-H yang lemah dimana terkadang ada dalam serum individu A1 dan A1B. Reagen dengan aktivitas



anti-H dapat dibuat dari tanaman *U. europaeus*. Ketika diencerkan dengan benar, lektin ini dapat berdiferensiasi di antara sel dengan berbagai konsentrasi antigen H dan dapat digunakan untuk menguji status sekretor. Eritrosit fenotip Bombay ketika diuji dengan anti-H atau *U. europaeus* lectin, akan menunjukkan hasil negatif.

#### ***J. Acquired Changes***

Pada kasus yang jarang terjadi, individu golongan darah A dapat memperoleh antigen B dan menjadi golongan darah AB, walaupun antigen B pada umumnya lemah dan terdapat beberapa pelemahan antigen A. Pada banyak kasus, fenomena ini terjadi pada pasien dengan penyakit pada saluran pencernaan, seperti kanker usus besar. Menurut penjelasan secara umum, adanya antigen B diakibatkan karena enzim bakteri dalam darah menghilangkan gugus asetil dari GalNAc, gula imunodominan antigen A, untuk menghasilkan galaktosamin, yang cukup mirip dalam strukturnya dengan Gal, gula antinominan B antigen B, untuk bereaksi saling silang dengan beberapa anti-B.

Melemahnya antigen A umumnya terjadi pada pasien golongan darah A dengan leukemia myeloid akut (AML). Pada beberapa kasus, semua eritrosit menunjukkan kelemahan dari antigen A, sedangkan pada populasi lainnya eritrosit A dan O bersifat jelas (tidak lemah). Perubahan yang berhubungan dengan leukemia pada antigen B dan H jarang terjadi. Sekitar 17% hingga 37% pasien dengan leukemia memiliki ekspresi antigenik A, B, atau H yang secara signifikan lebih rendah bila dibandingkan dengan kontrol yang sehat. Terkadang, modifikasi antigen ABH muncul sebelum pasien di diagnosis malignansi/ keganasan dan ini mengindikasikan keadaan praleukaemia. Efek leukemia ini mungkin berasal dari epigenetik, yang merupakan hasil dari hipermetilasi daerah promotor ABO.

#### **K. Hubungan Dengan Penyakit dan Aspek Fungsional**

Beberapa hubungan lain antara golongan darah ABO dan penyakit telah dilaporkan, sebagian besar berdasarkan pada perbedaan frekuensi

fenotip ABO yang diamati antara pasien dengan penyakit kemudian dibandingkan dengan orang yang sehat. Misalnya, individu golongan darah A tampak lebih rentan terhadap karsinoma lambung dan usus besar daripada golongan darah ABO lain.

Individu golongan darah O memiliki risiko trombosis yang lebih rendah dibandingkan dengan fenotip A, B, dan AB. Ini dapat diakibatkan karena adanya gula imunodominan A dan B pada faktor glikoprotein von Willebrand (vWF), faktor koagulasi yang terkait dengan Faktor VIII, sebagian menghalangi akses ADAMTS13, enzim yang bertanggung jawab untuk pembersihan vWF dari plasma. Individu golongan darah O tampaknya relatif tahan terhadap malaria berat yang disebabkan oleh infeksi *Plasmodium falciparum*, dibandingkan dengan individu selain golongan darah O.

Hampir tidak ada yang diketahui tentang fungsi antigen ABO, baik pada eritrosit maupun di bagian tubuh lainnya. Antigen ABH jumlahnya sangat banyak pada eritrosit. Antigen ABH berkontribusi pada glikokaliks atau cell coat, yaitu sebuah matriks karbohidrat ekstraseluler yang melindungi sel dari kerusakan mekanis dan serangan oleh mikroorganisme patogen.

### **2.3 Golongan Darah Rhesus**

Golongan darah Rhesus merupakan salah satu golongan darah paling kompleks pada manusia. Penemuannya dinamakan dari salah satu jenis monyet, yaitu Rhesus. Sistem Rhesus telah menjadi golongan darah terpenting kedua setelah ABO di bidang transfusi darah. Sistem Rhesus sangat penting dalam bidang obstetri, karena menjadi penyebab utama penyakit hemolitik pada bayi baru lahir atau Hemolytic Disease of the Newborn (HDN).

Kompleksitas antigen golongan darah Rh dimulai dengan gen yang sangat polimorfik yang menyandikannya. Ada dua gen yang berhubungan erat, yaitu RHD dan RHCE. Berbagai pengaturan genetik di antara keduanya telah menghasilkan gen-gen Rh hibrida yang mengkodekan banyak sekali antigen Rh yang berbeda. Hingga saat ini diketahui terdapat

49 antigen Rh.

Golongan darah Rh penting karena bersifat sangat imunogenik. Pada kasus antigen D, individu yang tidak mempunyai antigen D akan menghasilkan anti-D jika mereka menemukan antigen D pada eritrosit yang ditransfusikan, sehingga mengakibatkan reaksi transfusi hemolitik (HTR) atau pada eritrosit janin akan menyebabkan HDN. Karena itu, status Rh secara rutin di uji dalam donor darah, resipien transfusi, dan calon ibu.

#### **A. Sejarah Golongan Darah Rhesus**

Sistem golongan darah Rhesus ditemukan di New York pada tahun 1939. Awalnya ditemukan dalam antibodi pada serum seorang wanita yang melahirkan bayi dalam keadaan meninggal serta mengalami reaksi hemolitik setelah memperoleh transfusi darah dari suaminya. Levine dan Stetson menemukan bahwa antibodi menggumpalkan eritrosit suami wanita tersebut dan 80% donor darah ABO yang kompatibel. Namun, Levine dan Stetson belum menyebutkan nama antibodi tersebut.

Pada tahun 1940, Landsteiner dan Wiener membuat antibodi dengan menyuntikkan eritrosit monyet rhesus ke tubuh kelinci. Antibodi ini tidak hanya menyebabkan aglutinasi pada eritrosit monyet rhesus, namun juga eritrosit dari 85% warga kulit putih New York dan tampaknya sama dengan antibodi Levine dan Stetson dan antibodi manusia lainnya yang telah diidentifikasi sebelumnya. Namun pada tahun 1962, diketahui bahwa anti-rhesus kelinci dan marmut bereaksi dengan antibodi lain yang secara genetik tidak berkaitan dengan antibodi manusia, meskipun secara serologis terkait. Karena itu, antibodi anti-rhesus diubah namanya menjadi anti-LW, setelah Landsteiner dan Wiener, dan antibodi manusia tetap sebagai anti-D dari sistem golongan darah Rh (bukan rhesus). LW diekspresikan lebih kuat pada eritrosit D<sup>+</sup> daripada D<sup>-</sup>, menjelaskan kesalahan awal karena antiserum yang lemah sering gagal mengaglutinasikan eritrosit D<sup>-</sup>.

#### **B. Antigen Rh**

Sama seperti sistem ABO, antigen Rh terletak di permukaan eritrosit. Berbeda dengan sistem ABO, antigen Rh utama ditemukan secara

eksklusif pada eritrosit dan bukan pada sel jaringan atau dalam bentuk larut pada cairan tubuh. Sifat biokimia antigen RhD dan RhCE berupa protein. Protein berikatan dengan lipid pada membran eritrosit sebagai penunjang morfologinya. Masing-masing antigen terdiri dari 416 asam amino. Rangkaian asam amino dililitkan melalui membran eritrosit dan memperlihatkan lilitan pendek pada bagian luar. Asam amino aktif bervariasi dengan pengkodean genetik individu. Antigen Rh merupakan bagian integral dari membran eritrosit. Teori ini didukung oleh fakta bahwa sel-sel tanpa antigen Rh (Rhnull), menunjukkan morfologi yang berubah dan penurunan masa hidup eritrosit.

Glikoprotein yang berhubungan dengan struktur biokimia sistem Rh telah diidentifikasi. Glikoprotein ini tidak berkaitan dengan sifat antigenik sistem golongan darah mana pun, namun lebih berhubungan dengan membran eritrosit. Glikoprotein ini berperan dalam hubungan RhD dan RhCE dengan membran eritrosit. Glikoprotein yang berhubungan dengan membran eritrosit ini adalah RhAG. Adanya mutasi atau tidak adanya glikoprotein ini dapat menyebabkan kurangnya ekspresi antigen Rh (Rhnull).

Adanya glikoprotein sebanding dengan yang diidentifikasi pada otak, hati, ginjal, dan kulit. Glikoprotein ini telah diberi label RhBG dan RhCG, dan tidak berhubungan dengan antigen golongan darah tertentu, namun penelitian menunjukkan keterlibatan dengan transportasi amoniak.

**BAB III**  
**PEMERIKSAAN IMUNOHEMATOLOGI**  
**(PEMERIKSAAN PRE – TRANSFUSI)**

**3.1 Persiapan Alat dan Bahan**

**A. Persiapan alat**

Peralatan yang diperlukan untuk pemeriksaan imunohematologi/pretransfusi, diantaranya :

1. Sentrifuse untuk pemisahan darah menggunakan tabung reaksi (*table top centrifuge*).
2. Sentrifuse untuk pemeriksaan golongan darah metode tabung (*serological centrifuge*).
3. Sentrifuse untuk pemeriksaan metode gel tes (*gel test centrifuge*).
4. Inkubator 37°C (*waterbath* atau *dry incubator*)
5. Inkubator 37°C untuk pemeriksaan gel tes
6. Lemari es (*refrigerator*)
7. Tabung reaksi ukuran 12 x 7,5 mm
8. Rak tabung reaksi
9. Pipet pasteur plastik
10. *Blood Grouping Plate* (BGP)
11. Coomb gel tes
12. Pipet *adjustable* ukuran 200 – 1000 µL
13. Pipet *adjustable* ukuran 5 – 50 µL
14. Tissue
15. Objek glass
16. Mikroskop
17. Tips kuning
18. Tip Biru
19. Label
20. Spidol permanen

21. Kontainer/wadah penampung
22. Sarung tangan
23. Masker
24. Jas laboratorium
25. Gunting
26. Kantung plastik limbah

## **B. Persiapan Bahan**

Bahan dan Reagen yang diperlukan untuk pemeriksaan imunohematologi / pretransfusi, diantaranya :

1. Sampel darah pasien
2. Sampel darah donor
3. Anti-A
4. Anti-B
5. Anti-D IgM
6. Anti-D IgG
7. Bovine albumin 22% dan 6%
8. Anti Human Globulin / Serum Coombs
9. Larutan saline (0,9%)
10. Aquadest
11. Larutan alseiver
12. *Low Ionic Strength Saline (LISS)* : Larutan garam faali 0,2% dan larutan sukrosa 7%
13. Desinfektan (hipochlorit 0,5%)
14. Detergen

## **C. Persiapan Sampel**

Preparasi contoh darah harus dilakukan sebelum melakukan pemeriksaan lebih lanjut untuk mendapatkan hasil pemeriksaan yang optimal. Ada beberapa hal yang harus diperhatikan dalam hal ini, diantaranya :

### **1. Pemisahan serum / plasma dari sel darah**

- ❖ Prinsip : Darah sitrat / darah EDTA dengan pemutaran akan terjadi pemisahan antara plasma dan sel-sel darah.
- ❖ Tujuan : Memisahkan plasma dari sel-sel darah

- ❖ Kegunaan :
  - Persiapan pembuatan suspensi darah
  - Persiapan penentuan antigen golongan darah
- ❖ Cara Kerja :
  - Siapkan contoh darah dengan antikoagulan EDTA dalam tabung.
  - Sentrifugasi darah dalam tabung dengan kecepatan 3000 rpm selama 2 menit.
  - Siapkan 1 tabung yang bersih untuk menampung plasma.
  - Pisahkan plasma sebanyak-banyaknya dari sel darah merah pekat dan masukan ke dalam tabung yang sudah disiapkan.
  - Beri identitas pada masing-masing tabung sel darah merah pekat dan plasma

## 2. Pencucian sel darah merah

- ❖ Prinsip : Dengan penambahan larutan saline (NaCl 0,9%) dan pemutaran maka antibodi di sekitar sel darah merah akan hilang..
  - ❖ Tujuan :
    - Menghilangkan sisa protein pada sel darah merah
    - Menghilangkan sel-sel darah yang rapuh
    - Menghilangkan *auto cold antibody*
    - Menghilangkan formasi *Rouleaux*
  - ❖ Kegunaan :
    - Persiapan pembuatan suspensi darah
    - Persiapan penentuan antigen golongan darah
1. Cara Kerja :
    - a. Lakukan pencucian sel darah merah pekat dengan mengambil  $\pm 8$  tetes dan masukan kedalam tabung reaksi 12 x 75 mm.
    - b. Tambahkan NaCl 0,9% (saline) sebanyak  $\pm 4,5$ ml atau sampai  $\frac{3}{4}$  tabung kedalam sel darah merah pekat tadi.
    - c. Tutup tabung dengan parafilm, kocok dengan perlahan agar larutan menjadi homogen.

- d. Sentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 2 menit.
- e. Buka penutup parafilm dan buang supernatan dengan menggunakan pipet(pencucian ke 1).
- f. Lakukan pencucian sebanyak 3 kali dengan mengulangi langkah ke **b** hingga ke **e** sesuai kebutuhan.
- g. Sel darah merah yang sudah dicuci merupakan suspensi 100 %.

### 3. Pembuatan suspensi sel darah merah

Sel darah merah yang sudah dicuci kemudian dibuat suspensi yang sesuai kebutuhan, yaitu :

<b>% Suspensi</b>	<b>Suspensi SEL DARAH MERAH 100%</b>	<b>Medium (Larutan Saline)</b>	<b>Penggunaan</b>
5% (1/20)	1 bagian	a)bagian	a) Pemeriksaan golongan darah ( <i>tube test</i> ) b) Pemeriksaan silang serasi ( <i>crossmatching</i> )
10% (1/10)	1 bagian	9 bagian	Pemeriksaan golongan darah ABO ( <i>slide test/bioplate</i> )
40% (2/5)	1 bagian	3 bagian	Pemeriksaan golongan darah rhesus ( <i>slide test/ bioplate</i> )

### 4. Untuk pembuatan Test Sel Golongan darah A,B,O

Untuk pemeriksaan antibodi pada serum, dilakukan pooling dari darah donor suspensi 100% yang telah diketahui golongan darahnya :

- a. Test Sel A => Dibuat dari 3 golongan darah A yang di pooling sama banyak (A1, A2, A3), kemudian dibuat suspensi 5% dan 10% .
- b. Test Sel B => Dibuat dari 3 golongan darah B yang di pooling sama banyak (B1, B2, B3), kemudian dibuat suspensi 5% dan 10%.
- c. Test Sel O => Dibuat dari 3 golongan darah O yang di pooling sama banyak (O1, O2, O3), kemudian dibuat suspensi 5% dan 10%.



## 5. Pembuatan COOMB'S CONTROL CELLS (CCC)

COOMB'S CONTROL CELLS (CCC) adalah suspensi sel darah merah golongan O Rhesus positif yang sudah disensitasi (dicoated) oleh anti – D IgG ( inkomplit).

### 1. Tujuan :

- Dapat menguji reagen Coomb's Serum, masih valid/ invalid
- Dapat menguji hasil negative dari pemeriksaan uji silang, *Direct* Coomb's Test dan *indirect* Comb's Test, hasil negative tersebut valid/invalid.

### 2. Prinsip : Antigen + antibodi D IgG (inkomplit)→ Antigen sensitasi ( coated ) antibodi D inkomplit

### 3. Metoda : Tube test

### 4. Pembuatan Coomb's Control Cells :

- Nyalakan dan atur suhu inkubator pada 37<sup>0</sup>C.
  - Siapkan reagensia pada suhu kamar sebelum digunakan dan disimpan kembali pada suhu 2<sup>0</sup>C - 8<sup>0</sup>C setelah digunakan.
  - Siapkan contoh darah yang memakai antikoagulan golongan O Rhesus positif.
  - Pembuatan suspensi sel 5%, 40% dari darah golongan O Rhesus positif
  - Pemeriksaan titer anti-D IgG ( inkomplit )
1. Siapkan 10 tabung reaksi masing-masing tabung beri indentitas : 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128, 1/256, 1/512, 1/1024
  2. Tabung 1 s/d 10 teteskan saline sebanyak 2 tetes.
  3. Isi tabung no.1 teteskan anti-D IgG sebanyak 2 tetes.
  4. Kocok perlahan dengan menggunakan pipet, ambil 2 tetes campuran masukan kedalam tabung no.2
  5. Lakukan pemindahan enceran berkala sampai tabung no.10, pada tabung no. 10 buang 2 tetes enceran anti-D tsb.
  6. Kocok semua tabung hingga cairan tercampur
  7. Inkubasi pada suhu 37<sup>0</sup>C selama 15 menit semua tabung

8. Angkat semua tabung, putar 3000rpm selama 15", baca hasil reaksi.
9. Tabung yang hasilnya negative dicuci sebanyak 3x dengan saline
10. Pada pencucian terakhir buang supernatant sebanyak banyaknya.
11. Tambahkan 2 tetes comb's serum (AHG).
12. Kocok perlahan hingga cairan tercampur
13. Putar 3000rpm Selama 15", baca hasil reaksi

### 3.2 Pemeriksaan Golongan Darah ABO dan Rhesus

#### 1. PRINSIP PEMERIKSAAN

Antigen + antibodi = aglutinasi / homogen

#### 2. TEKNIK REVERSE & FORWARD GROUPING

- *Cell grouping/typing* => memeriksa antigen sel darah merah dengan cara menambahkan anti-A, anti-B dan anti-D
- *Serum grouping/typing* => memeriksa antibodi dalam serum/plasma dengan cara mereaksikannya dengan sel golongan A, B, dan O.
- *Auto Kontrol* => memeriksa antibodi dalam serum dengan cara mereaksikannya dengan sel darah merahnya sendiri.

#### 3. METODE PEMERIKSAAN

Metode pemeriksaan golongan darah abo dan rhesus, antara lain :

- a. Metode slide card
- b. Metode bioplate
- c. Metode tabung
- d. Pemeriksaan WEAK D (jika hasil pemeriksaan rhesus tabung negatif)

#### 4. PROSEDUR

##### 1. Pemeriksaan golongan darah abo dan rhesus metode slide test

❖ Tujuan :  
Untuk menetapkan ada/tidaknya antigen pada sel darah merah (*cell grouping*).

❖ Alat dan Bahan :

- Sampel Darah
- Larutan NaCl 0,85 %
- Batang pengaduk /*toothpick*
- Antisera-A, Antisera-B, Antisera D, Bovine Albumin 6%

- Test Sel suspensi 10% untuk golongan darah ABO dan Test Sel suspensi 40% untuk golongan darah rhesus
- *Slide test*

❖ Cara kerja

1. Biarkan reagensia pada suhu kamar sebelum digunakan dan simpan kembali pada suhu 2°-8°C setelah digunakan.
2. Siapkan contoh darah dengan antikoagulan yang akan diperiksa.
3. Lakukan perawatan contoh darah yang akan diperiksa mulai dari pemisahan plasma dari sel darah merah (sel darah merah), pencucian hingga pembuatan suspensi sel 10% dan 40%
4. Siapkan lembar kerja pemeriksaan golongan darah ABO dan Rhesus.
5. Siapkan *slide test* yang bersih dan kering, beri indentitas pada bagian atas tiap- tiap kotak berturut-turut :  
Anti-A, anti-B, anti-D
6. Isi masing-masing Kotak dengan :
  - ❖ Kotak 1 : 2 tetes anti-A + 1 tetes sel 10%
  - ❖ Kotak 2 : 2 tetes anti-B + 1 tetes sel 10%
  - ❖ Kotak 3 : 2 tetes anti-D + 1 tetes sel 40%
  - ❖ Kotak 4 : 2 tetes Bovine albumin 6% + 1 tetes sel 40%
7. Aduk rata dan melebar dengan batang pengaduk
8. Digoyang membentuk angka 8, baca reaksi

❖ Pembacaan hasil

- Bila pada pemeriksaan sel darah merah sampel terjadi :
- Aglutinasi = ada antigen pada sel darah merah
- Negatif aglutinasi / Homogen tidak ada antigen pada sel darah merah



Aglutinasi

tidak terjadi aglutinasi

❖ Interpretasi hasil

<b>Anti-A</b>	<b>Anti-B</b>	<b>Golongan Darah</b>	<b>Anti-D</b>	<b>BA 6%</b>	<b>Golongan Darah</b>
Aglutinas Positif	Aglutinas Negatif	<b>A</b>	Aglutinas Positif	Aglutinas Negatif	<b>Rh Positif (D<sup>+</sup>)</b>
Aglutinas Negatif	Aglutinas Positif	<b>B</b>	Aglutinas Negatif	Aglutinas Negatif	<b>Rh Negatif (D<sup>-</sup>)</b>
Aglutinas Positif	Aglutinas Positif	<b>AB</b>			
Aglutinas Negatif	Aglutinas Negatif	<b>O</b>			

**Pemeriksaan golongan darah abo dan rhesus metode slide test**

Hari & Tanggal :

Bahan/ID Pasien :

Metode :

Hasil Pemeriksaan :

Kesimpulan:

Mengetahui

Pembimbing Praktek

Praktikan

.....

.....

### 3.3 Pemeriksaan Golongan Darah ABO dan Rhesus Metode Bioplate

#### 1. Tujuan :

Untuk menetapkan ada/tidaknya antigen pada sel darah merah (cell grouping) dan untuk menetapkan ada/tidaknya antibodi dalam serum/plasma (serum grouping).

#### 2. Alat dan Bahan :

- a. Sampel suspensi 10% dan 40%
- b. Larutan NaCl 0,85 %
- c. Tabung Reaksi
- d. Antisera-A, Antisera-B, Antisera D, Bovine Albumin 6%
- e. Test Sel 10% A,B dan O
- f. Bioplate
- g. Sentrifuge
- h. Pipet Tetes

#### 3. Cara kerja

1. Biarkan reagensia pada suhu kamar sebelum digunakan dan simpan kembali pada suhu 2°-8°C setelah digunakan.
2. Siapkan contoh darah dengan antikoagulan yang akan diperiksa.
3. Lakukan perawatan contoh darah yang akan diperiksa mulai dari pemisahan plasma dari sel darah merah (sel darah merah), pencucian hingga pembuatan suspensi sel 10% dan 40%.
4. Siapkan lembar kerja pemeriksaan golongan darah ABO dan Rhesus
5. Siapkan bioplate yang bersih dan kering, beri indentitas pada bagian atas tiap-tiap well berturut-turut :

Anti-A, anti-B, sel A, sel B, sel O, AK (auto kontrol), Anti-D dan BA 6%

#### 1. Isi masing-masing well dengan :

- Well 1: 2 tetes anti-A + 1 tetes sel 10%
- Well 2 : 1 tetes anti-B + 1 tetes sel 10%
- Well 3: 1 tetes sel A 10% + 2 tetes serum/plasma
- Well 4: 1 tetes sel B 10% + 2 tetes serum/plasma
- Well 5: 1 tetes sel O 10% + 2 tetes serum/plasma

- Well 6: 1 tetes sel 10% + 2 tetes serum/plasma
  - Well 7 : 1 tetes sel 40% + 2 tetes anti-D
  - viii. Well 8: 1 tetes sel 40% + 2 tetes BA 6%
2. Campurkan isi tiap Well dengan cara menggoyangkan bioplate ke arah depan dan belakang sambil memperhatikan reaksi yang terjadi
  3. Baca hasil reaksi.
4. Pembacaan hasil
- a. Bila pada pemeriksaan sel darah merah specimen terjadi :
    - Aglutinasi : ada antigen pada sel darah merah
    - Homogen : tidak ada antigen pada sel darah merah
  - b. Bila pada pemeriksaan plasma specimen terjadi :
    - Aglutinasi : ada antibodi didalam plasma/serum
    - Homogen : tidak ada antibodi didalam plasma/serum
  - c. Tentukan derajat aglutinasi sesuai dengan hasil reaksi yang terjadi.
    - 4+ : Semua sedimen bersatu, cairan jernih.
    - 3+ : Sedimen terpecah → 3-4 segmen, cairan jernih.
    - 2+ : Gumpalan lebih banyak dan kasar, cairan agak keruh.
    - 1+ : Gumpalan sangat banyak dan halus, cairan keruh tampak berwarna kemerah-merahan.
    - ± : Sepintas masih terlihat seperti gumpalan halus dengan cairan keruh. Aglutinasi jelas → mikroskopis
    - negatif : tidak ada aglutinasi / homogen

5. Interpretasi Hasil :

Anti – A Well 1	Anti –B Well 2	Test Sel A Well 3	Test Sel B Well 4	Test Sel O Well 5	AK Well 6	Golongan Darah	Anti- D	BA 6%	Golongan Darah
Neg	Neg	+	+	Neg	Neg	<b>O</b>	+	Neg	Rh Positif (D <sup>+</sup> )
+	Neg	Neg	+	Neg	Neg	<b>A</b>			
Neg	+	+	Neg	Neg	Neg	<b>B</b>	Neg	Neg	Rh Negatif (D <sup>-</sup> )
+	+	Neg	Neg	Neg	Neg	<b>AB</b>			

Keterangan : (+) = Positif/terjadi penggumpalan/aglutinasi

(Neg) =Negatif/tidak terjadi penggumpalan/homogen

**Pemeriksaan Golongan Darah ABO dan Rhesus Metode Bioplate**

Hari & Tanggal :

Bahan/ID Pasien :

Metode :

Hasil Pemeriksaan :

Kesimpulan:

Mengetahui

Pembimbing Praktek

Praktikan

.....

.....



### 3.4 Pemeriksaan golongan darah abo dan rhesus metode tabung (*tube test*)

1. Tujuan :

Untuk menetapkan ada/tidaknya antigen pada sel darah merah (cell grouping) dan untuk menetapkan ada/tidaknya antibodi dalam serum/plasma (serum grouping).

2. Alat dan Bahan :

- a. Sampel suspensi 5%
- b. Test sel 5% A,B,O
- c. Antisera A , Antisera B
- d. Larutan NaCl 0,85 %
- e. Tabung Serologi
- f. Mikroskop
- g. Tabung Sentrifuge
- h. Pipet Tetes
- i. Rak Tabung
- j. Sentrifuge

3. Cara Kerja :

1. Biarkan reagensia pada suhu kamar sebelum digunakan dan simpan kembali pada suhu 2°-8°C setelah digunakan.
2. Siapkan contoh darah dengan antikoagulan yang akan diperiksa.
3. Lakukan perawatan contoh darah yang akan diperiksa mulai dari pemisahan plasma dari sdm (sel darah merah), pencucian hingga pembuatan suspensi sel 5%.
4. Siapkan lembar kerja pemeriksaan golongan darah ABO.
5. Siapkan 6 (enam) buah tabung serologi untuk masing-masing mahasiswa/ kelompok yang sudah ditandai.
6. Isi masing-masing tabung dengan :
  - a. Tabung 1: 2 tetes anti-A + 1 tetes sel 5%
  - b. Tabung 2: 2 tetes anti-B + 1 tetes sel 5%
  - c. Tabung 3: 1 tetes sel A 5% + 2 tetes serum/plasma
  - d. Tabung 4: 1 tetes sel B 5% + 2 tetes serum/plasma
  - e. Tabung 5: 1 tetes sel O 5% + 2 tetes serum/plasma

f. Tabung 6: 1 tetes sel 5% + 2 tetes serum/plasma

g. Tabung 7: 1 tetes sel 5% + 2 tetes anti-D

h. Tabung 8: 1 tetes sel 5% + 2 tetes BA 6%

7. Kocok perlahan agar homogen.

8. Sentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 detik.

9. Goyangkan tabung dengan perlahan dan perhatikan adanya aglutinasi secara makroskopis bila diperlukan dengan menggunakan mikroskop (perbesaran objektif 10 x).

#### 4. Pembacaan hasil

- Perhatikan supernatan semua tabung, apakah ada hemolise atau tidak.
- Bacalah satu persatu hasil reaksinya dengan mengoyang perlahan tabung dan memutarnya kita perhatikan sedimennya :
  - Ciri-ciri positif : Sedimen bersatu dan tepinya tidak merata
  - Ciri-ciri negatif : Sedimen selnya padat dan tepinya bulat + rata
    - Dinyatakan negatif bila sedimen tersuspensi kembali dengan mudah (homogen).
    - Dinyatakan positif bila sedimen tidak mudah tersuspensi kembali (bergumpal-gumpal).

Tentukan derajat aglutinasi sesuai dengan hasil reaksi yang terjadi.

- 4+ : Semua sedimen bersatu, cairan jernih.
- 3+ : Sedimen terpecah → 3-4 segmen, cairan jernih.
- 2+ : Gumpalan lebih banyak dan kasar, cairan agak keruh.
- 1+ : Gumpalan sangat banyak dan halus, cairan keruh tampak berwarna kemerah-merahan.
- ± : Sepintas masih terlihat seperti gumpalan halus dengan cairan keruh. Aglutinasi jelas → mikroskopis
- neg : tidak ada aglutinasi / homogen

5. Interpretasi Hasil :

Anti – A Well 1	Anti –B Well 2	Test Sel A Well 3	Test Sel B Well 4	Test Sel O Well 5	AK Well 6	Golongan Darah	Anti-D	BA 6%	Golongan Darah
Neg	Neg	+	+	Neg	Neg	<b>O</b>	+	Neg	Rh Positif (D <sup>+</sup> )
+	Neg	Neg	+	Neg	Neg	<b>A</b>			
Neg	+	+	Neg	Neg	Neg	<b>B</b>	Neg	Neg	Rh Negatif (D <sup>-</sup> )
+	+	Neg	Neg	Neg	Neg	<b>AB</b>			

Keterangan : (+) = Positif/terjadi penggumpalan/aglutinasi

(Neg) = Negatif/tidak terjadi penggumpalan/homogen

*\*Catatan : Apabila pada metode tabung hasil pengamatan menunjukkan Rh negatif, maka harus dilanjutkan ke pemeriksaan Weak D (Du)*

**Keuntungan Metode Tabung (Tube)**= Rekomendasi pemeriksaan golongan darah di Laboratorium karena Aglutinasi lemah dapat dibaca (karena lebih sensitif).

**Pemeriksaan golongan darah abo dan rhesus metode tabung (tube test)**

Hari & Tanggal :  
Bahan/ID Pasien :  
Metode :  
Hasil Pemeriksaan :

Kesimpulan:

Mengetahui

Pembimbing Praktek

Praktikan

.....

.....

### 3.5 Pemeriksaan golongan darah rhesus WEAK D (DU)

#### A. Dasar Teori :

Rhesus adalah suatu faktor yang terdapat pada sel darah merah, ditemukan pertama kali oleh Landsteiner dan Wiener pada tahun 1940 melalui injeksi darah merah kera *Macaccus rhesus* ke tubuh kelinci.

Landsteiner dan Wiener menerangkan bahwa bila sel darah merah (eritrosit) seseorang mempunyai Rhesus antigen (antigen D atau Rh), maka orang tersebut dinyatakan sebagai Rhesus – positive. Bila ia tidak mempunyai Rhesus antigen (antigen D atau Rh<sub>0</sub>) dinyatakan Rhesus – negative.

#### B. Prinsip :

Antigen + Antibodi → Aglutinasi /sensitasi/hemolisis.

#### C. Tujuan :

Untuk menemukan adanya antigen (antigen D atau Rh) di dalam sel darah merah (eritrosit).

#### D. Alat dan Bahan :

- Sampel suspensi 5%
- Larutan NaCl 0,85 %
- Bovine Albumin 6 %
- Anti-Rh serum (Anti D Monoclonal/Duoclonal, IgM/IgG)
- Sentrifuge
- Pipet Tetes
- Tabung Reaksi
- Rak Tabung
- Mikroskop
- Sentrifuge
- Waterbath

#### E. Cara Kerja :

- Biarkan reagensia pada suhu kamar sebelum digunakan dan simpan kembali pada suhu 2°-8°C setelah digunakan.
- Siapkan contoh darah dengan antikoagulan yang akan diperiksa.
- Lakukan perawatan contoh darah yang akan diperiksa mulai dari

pemisahan plasma dari sdm (sel darah merah), pencucian hingga pembuatan suspensi sel 5%.

- Siapkan 2 tabung beri label : Tab I, Tab II
- Masing-masing tabung teteskan 1 tetes suspensi 5% ery X
- Tab I tambahkan 2 tetes anti D IgG.
- Tab II tambahkan 2 tetes Bovine Albumin 6%
- Kocok perlahan kedua tabung hingga tercampur rata
- Putar 3000 rpm selama 15 detik
- Baca reaksi → makroskopis, bila hasil negative
- Cuci kedua tabung 3 kali dengan saline
- Buang supernatant terakhir sampai bersih
- Tambahkan masing-masing 2 tetes coomb's serum
- Kocok perlahan kedua tabung hingga tercampur rata
- Putar 3000 rpm selama 15 detik.
- Baca reaksi makroskopis dan mikroskopis → catat hasil

#### F. Pembacaan hasil

1. tidak ada aglutinasi: tidak ada antigen D pada sel darah merah
2. Ada aglutinasi: ada antigen D pada sel darah merah
3. Kesimpulan apabila D<sup>u</sup> **negatif maka golongan darah Rhesus negatif, apabila Dupositif pada pasien disimpulkan golongan darah Rh negatif dan Dupositif pada darah donor disimpulkan golongan darah Rh positif.**
4. Hasil tes Dunegatif, harus di validasi dengan di teteskan 1 tetes sel uji coombs (Coombs Control Cells = CCC) ke tabung 1 dan tabung 2. Kemudian putar 3000 rpm 15 detik atau 1000 rpm 1 menit. Hasil pengamatan menunjukkan :
  - Hasil positif menunjukkan bahwa pemeriksaan benar dan berlaku.
  - Hasil negatif menunjukkan bahwa pemeriksaan tidak benar, tidak berlaku dan harus di ulang.

### 3.6 Pemeriksaan Uji Silang Serasi (Crossmatch)

#### A. PENDAHULUAN

Pemeriksaan reaksi silang (Cross Match) diperlukan sebelum

melakukan transfusi darah untuk melihat apakah darah pasien / resipien sesuai dengan darah donor. Pemeriksaan Cross Match ini sangat perlu untuk mencegah reaksi transfuse dengan memastikan penderita tidak mengandung antibody yang reaktif terhadap antigen pada sel darah merah donor dan bermanfaat bagi pasien.

Pada reaksi silang mayor (Major Cross Match) adalah memeriksa ketidakcocokan oleh karena adanya antibody dalam serum pasien terhadap antigen sel darah merah donor. Pada uji silang serasi minor (Minor Cross Match) adalah untuk memastikan ketidakcocokan oleh karena adanya antibody dalam serum donor terhadap antigen sel darah merah pasien. Pada pemeriksaan auto adalah mereaksikan antara sel darah merah pasien dengan serumnya untuk mengetahui apakah terdapat autoantibodi atau tidak untuk melihat reaksi autoimun.

Uji silang serasi dilakukan dalam fase dan medium yang berbeda karena jenis antibody

golongan darah mempunyai karakter yang berbeda.

a. Fase I : fase suhu kamar ( $20^{\circ}\text{C} - 25^{\circ}\text{C}$ ) dalam medium saline, mendeteksi antibody

komplet yang bersifat IgM (cold antibody)

b. Fase II : fase inkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  dalam medium bovine albumin, pada fase ini

antibody inkomplet dapat mengikat sel darah merah

c. Fase III : fase antiglobulin test, semua antibody inkomplet yang telah diikat pada sel

darah merah (pada fase II) akan beraglutinasi (positif) dengan baik setelah penambahan

Coombs serum. Untuk validasi hasil pemeriksaan maka sample tersebut setelah fase 3 direaksikan dengan Coombs Control Cell (CCC) bila hasilnya di fase III negatif maka ditambah dengan CCC hasilnya positif.

B. PRINSIP

Antigen + Antibodi → Aglutinasi / hemolisis/ sensitasi.

C. TUJUAN

Untuk mengetahui apakah sel darah merah donor bisa hidup didalam tubuh pasien dan untuk mengetahui ada tidaknya antibody komplet (tipe IgM) maupun antibody inkomplet (tipe IgG) dalam serum pasien (mayor) maupun dalam serum donor yang melawan sel pasien (minor).

D. ALAT DAN BAHAN

1. Tabung Serologi
2. Pipet Tetes
3. *Waterbath* (suhu 37°C)
4. Sentrifuge
5. Kaca Objek
6. Mikroskop
7. Salin (NaCl 0,9 %)
8. Bovine Albumin 22 %
9. Serum Coombs (Anti Human Globulin)
10. Sel Uji Coombs (Control Cell Coombs)
11. Contoh Darah Pasien dan Contoh Darah Donor

E. PERSIAPAN KERJA

1. Nyalakan dan atur suhu incubator/waterbath pada 37°C
2. Biarkan reagensia pada suhu kamar sebelum digunakan dan disimpan kembali pada suhu 2-8°C setelah digunakan.
3. Siapkan contoh darah dengan antikoagulan yang akan diperiksa.
4. Lakukan perawatan contoh darah yang akan diperiksa mulai dari pemisahan plasma dari sdm, pencucian hingga pembuatan suspensi sel.
5. Siapkan ceklist dan lembar kerja pemeriksaan uji silang serasi.
6. Catat tanggal penerimaan sampel, indentitas sampel, tanggal pemeriksaan.



## F. PROSEDUR KERJA

1. Ambil 3 buah tabung reaksi 12x75mm beri indentitas tabung tersebut : mayor, minor dan AK (auto control).
1. Masukkan kedalam masing-masing tabung 1. Mayor : 2 tetes plasma pasien + 1 tetes sdm donor susp 5% 2. Minor : 2 tetes plasma donor + 1 tetes sdm pasien susp 5% 3. Auto control : 2 tetes plasma pasien + 1 tetes sdm pasien susp 5%
2. Kocok perlahan semua tabung hingga homogen, sentrifugasi 3000rpm selama 15 detik.
3. Baca reaksinya terhadap hemolysis dan atau aglutinasi secara makroskopis.
4. Hasil fase I :
5. Hemolysis : Negatif → lanjutkan fase II
6. aglutinasi : Negatif → lanjutkan fase II
7. Hemolysis : positif → tidak cocok ( Inkompatibel )
8. aglutinasi : positif → tidak cocok ( Inkompatibel )
9. Tambahkan ke dalam masing-masing tabung 2 tetes bovine albumin 22%
10. Kocok perlahan hingga homogen
11. Inkubasi pada suhu 37°C selama 15 menit.
12. Sentrifugasi tabung dengan kecepatan 3000rpm selama 15 detik.
13. Baca reaksi terhadap hemolysis dan atau aglutinasi secara makroskopis.
14. Hasil fase II :
15. Hemolysis : Negatif → lanjutkan fase II
16. aglutinasi : Negatif → lanjutkan fase II
17. Hemolysis : positif → tidak cocok ( Inkompatibel )
18. aglutinasi : positif → tidak cocok ( Inkompatibel )
19. Masing – masing tabung Mayor, Minor dan Auto control dicuci dengan saline sebanyak 3x.
20. Pada pencucian terakhir, buang supernatant sebersih bersihnya.
21. Tambahkan masing-masing tabung dengan anti human globulin

- (Coombs serum) sebanyak 2 tetes.
22. Kocok perlahan isi tabung hingga homogen, sentrifugasi 3000rpm selama 15 detik.
  23. Baca reaksi terhadap hemolysis dan atau aglutinasi secara makroskopis dan mikroskopis.
  24. Hasil fase III :
  25. Hemolisis : Negatif → cocok ( kompatibel )
  26. Aglutinasi : Negatif → cocok ( kompatibel )
  27. Hemolisis : positif → tidak cocok ( Inkompatibel )
  28. Aglutinasi : positif → tidak cocok ( Inkompatibel )
  29. Hasil uji silang serasi yang negative harus divalidasi terlebih dahulu dengan CCC. Kepada masing-masing tabung tambahkan 2 tetes CCC, sentrifugasi 3000 rpm selama 15 detik. Catatan : hasil validasi dengan CCC harus memberikan reaksi 2+, jika hasil negatif maka pemeriksaan uji silang serasi harus diulang (tidak valid).
  30. Kesimpulan apabila hasil uji silang serasi kompatibel berarti darah donor bisa ditransfusikan ke pasien dan apabila hasil uji silang serasi inkompatibel darah donor tidak bisa di transfusikan ke pasien.

### **3.7 Pemeriksaan Crossmatch Metode Gel Test**

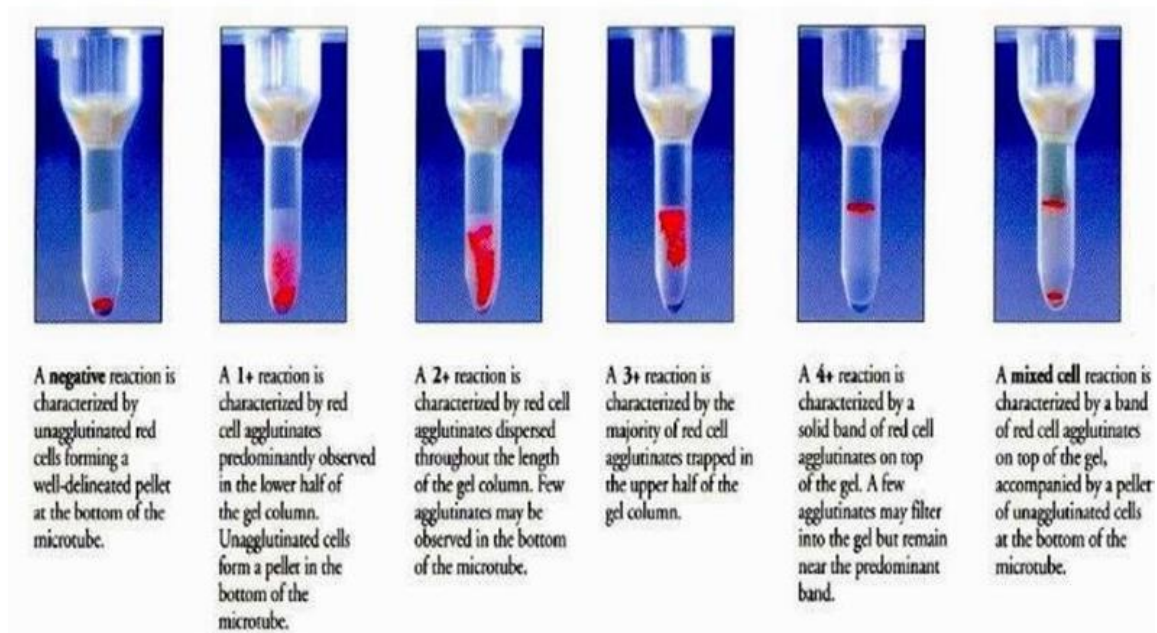
- a. Bahan :
  - a. Darah donor
  - b. Darah pasien
- b. Reagen :
  - a. LISS (*Low Ionic Strength Solution*)
  - b. Gel Tes untuk *crossmatch*
- c. Alat :
  - Mikropipet 5 $\mu$ L
  - Dispenser LISS 500 $\mu$ L
  - Gunting
  - Sarung tangan

- Tip kuning
- Tabung reaksi ukuran 12 x 75 mm
- Rak tabung reaksi
- Sentrifus Gel Tes
- Inkubator 37°C Gel Tes
- Tisu

d. Prosedur :

1. Siapkan 2 buah tabung reaksi ukuran 12 x 75 mm :
  - a) Tabung 1, diisi dengan 5 $\mu$ L sel darah merah donor ditambahkan 500 $\mu$ L larutan pengencer (LISS).
  - b) Tabung 2, diisi dengan 5 $\mu$ L sel darah merah pasien ditambahkan 500 $\mu$ L larutan pengencer (LISS)
2. Suspensi sel dari tabung 1 diambil 50  $\mu$ L, kemudian dimasukkan ke dalam kolom gel 1 (Mayor) yang ditambahkan 25  $\mu$ L plasma pasien.
3. Suspensi sel dari tabung 2 diambil 50  $\mu$ L, kemudian dimasukkan ke dalam kolom gel 2 (minor) yang ditambahkan 25  $\mu$ L plasma donor.
4. Suspensi sel dari tabung 2 diambil 50  $\mu$ L, kemudian dimasukkan ke dalam kolom gel 3 (Auto Kontrol) yang ditambahkan 25  $\mu$ L plasma pasien.
5. Ketuk-ketuk gel tes agar suspensi sel darah tercampur dengan plasma dan turun ke atas gel.
6. Inkubasi gel tes pada suhu 37°C selama 15 menit.
7. Putar gel tes menggunakan sentrifus gel tes dengan kecepatan 1000 rpm selama 10 menit dan baca hasil pengamatan.

### e. Interpretasi Hasil



### 3.8 Pemeriksaan *Coomb's test*

#### A. PENDAHULUAN

Percobaan Coombs mencari adanya antiglobulin. Jika semacam antibodi melekat pada eritrosit yang mengandung antigen, maka antibodi yang spesifik terhadap antigen itu mungkin menyebabkan eritrosit-eritrosit bergumpal (*aglutinasi*). Globulin merupakan antibodi penghalang (*blocking antibodies*) atau antibodi tak lengkap (*incomplete antibodies*). Pada konsentrasi tinggi antibodi ini melapisi eritrosit tetapi tidak dapat mengaglutinasikannya dalam larutan salin.

Anti human globulin akan bereaksi dengan setiap globulin manusia. Karena itu penting bahwa semua globulin bebas harus dibuang dari sel darah merah dengan pencucian yang bersih sebelum penambahan anti human globulin. Sisa globulin serum dalam larutan akan bergabung dengan anti human globulin mengakibatkan anti human globulin tidak mampu lagi mengaglutinasi sel yang telah disensitisasi, dan menyebabkan suatu tes Coombs negatif yang salah (*false negative*).

Tes Coombs langsung (*Direct Coombs Test / DCT*) digunakan untuk mendeteksi antibodi atau komplemen pada permukaan sel darah merah dimana sensitisasi telah terjadi secara *invivo*. Reagen anti human globulin ditambahkan pada sel darah merah yang telah dicuci dan aglutinasi menunjukkan tes positif.

Tes Coombs tidak langsung (*Indirect Coombs Test / ICT*) digunakan untuk mencari adanya antibodi irregular (inkomplit) dalam serum. Terlebih dahulu dilakukan pelapisan eritrosit-eritrosit normal bergolongan O (atau eritrosit-eritrosit yang golongannya sesuai dengan serum yang diperiksa) dengan serum yang diketahui atau tersangka mengandung antibodi penghalang. Langkah berikutnya ialah membuktikan adanya antibodi tersebut dengan menggunakan Serum Coombs.

## 1. TES COOMBS LANGSUNG (DIRECT COOMBS TEST)

- Prinsip :  
Antigen + Antibodi Inkomplit (pada eritrosit pasien) + Serum Coombs serum → Aglutinasi (+).
- Tujuan :  
Untuk mendeteksi antibodi yang coated (melekat / menyelimuti) pada eritrosit pasien dan terjadi secara *invivo* (di dalam tubuh).
- Alat dan Bahan :
  - Tabung Serologi
  - Pipet Tetes
  - Sentrifuge
  - Kaca Objek
  - Mikroskop
  - Medium Salin (NaCl 0,9 %)
  - Serum Coombs (Anti Human Globulin)
  - Contoh Darah Pasien
- Cara Kerja :
  - a. Siapkan suspensi eritrosit 5 % dalam salin dari contoh darah

- pasien.
- b. Sediakan 2 buah tabung, isi masing-masing tabung dengan 1 tetes suspensi eritrosit 5 % (pasien).
  - c. Lakukan pencucian dengan salin sebanyak 3 kali.
  - d. Pada tabung I (tes) tambahkan 2 tetes Serum Coombs, pada tabung II (kontrol) tambahkan 2 tetes salin. Kemudian sentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 detik.
  - e. Baca secara makroskopis dan mikroskopis.
- Interpretasi :
    - a. Direct Coombs Test (DCT) positif (+), artinya terdapat sel coated secara invivo pada eritrosit pasien. Biasanya terjadi pada penderita AIHA (Auto-Immune Haemolytic Anemia), HDN (Haemolytic Disease of Newborn), dan orang yang mendapat transfusi darah dengan Rhesus yang berbeda.
    - b. Direct Coombs Test (DCT) negatif (-), artinya tidak terdapat sel coated secara invivo.

**\*Catatan :**

**Bila Direct Coombs Test (DCT) pasien positif, maka darah boleh diberikan tetapi dalam bentuk Packed Red Cell (PRC) atau Washed Red Cell (WRC).**

**2. TES COOMBS TIDAK LANGSUNG (*INDIRECT COOMBS TEST*)**

**A. Prinsip :**

Antigen + Antibodi Inkomplit (pada serum donor / pasien) + Serum Coombs → Aglutinasi (+).

**B. Tujuan :**

Untuk mendeteksi antibodi yang coated (melekat / menyelimuti) pada eritrosit dan terjadi secara invitro (di luar tubuh).

**C. Alat dan Bahan :**

- Tabung Serologi
- Pipet Tetes
- Sentrifuge
- Kaca Objek
- Mikroskop

- Larutan Salin (NaCl 0,85 % - 0,9 %)
- Serum Coombs (Anti Human Globulin)
- Contoh Darah

D. Cara Kerja :

1. Siapkan serum dari contoh darah yang akan di periksa.
2. Siapkan pula suspensi eritrosit 5 % dalam salin dari contoh darah dan suspensi sel darah O.
3. Siapkan 2 tabung, isi masing masing tabung 2 tetes plasma/serum.
4. Tabung I teteskan 1 tetes susp sel O, tabung II suspensi sampel.
5. Putar 3000 rpm selama 15 detik baca reaksi.
6. Apabila negatif lanjutkan, tambahkan bovine albumin 22% sebanyak 2 tetes ke masing-masing tabung.
7. Inkubasi pada suhu 37°C selama 15 menit.
8. Putar 3000 rpm selama 15 detik baca reaksi.
9. Bila negative lakukan pencucian dengan saline 3x.
10. Tambahkan ke masing-masing tabung 2 tetes AHG.
11. Putar 3000 rpm selama 15 detik baca reaksi secara makroskopis dan mikroskopis.
12. Bila negatif, validasi dengan CCC.

E. Interpretasi hasil :

- Apabila hasil ICT positif : adanya antibody yang coated pada sel darah merah secara invitro.
- Apabila hasil ICT negatif : tidak adanya antibody yang coated pada sel darah merah secara invitro.

**TES COOMBS TIDAK LANGSUNG (INDIRECT COOMBS TEST)**

Hari & Tanggal :

Bahan/ID Pasien :

Metode :

Hasil Pemeriksaan :

Kesimpulan:

Mengetahui

Pembimbing Praktek

Praktikan

.....

.....



## DAFTAR PUSTAKA

AABB. 2008. Technical manual. In: Brecher ME, editor. 15th ed. United states: AABB. B Armstrong, J Hardwick, L Raman, E Smart et al. ISBT Science Series. Wiley-Blackwell.

BPPSDM-Kes. 2010. Modul Pelatihan Petugas Unit Transfusi Darah Di Rumah Sakit. Jakarta: PPSDM Kemenkes RI

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

Klein HG, Anstee DJ. 2005. Mollison's Blood transfusion in clinical medicine. 11th ed. United Kingdom: Blackwell Publishing

Nurhayati B, Noviar G, Kartabrata E dkk. 2017. Penuntun Praktikum Imunohematologi Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Bandung. Bandung : Analis Kesehatan.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Thakral B, Saluja K, Bajpai M, Sharma RR, Marwaha N. Importance of weak ABO sub groups.

Lab Medicine. 2005; 36(1): 32-34.