

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Golongan Darah

Golongan darah merupakan sistem klasifikasi darah manusia yang ditentukan berdasarkan jenis antigen yang terdapat pada permukaan sel darah merah, baik yang berupa karbohidrat maupun protein (Nadia et al., 2010). Sistem penggolongan darah ABO pertama kali diperkenalkan oleh Karl Landsteiner pada tahun 1900 melalui percobaan dengan mencampurkan eritrosit dan serum dari para asistennya. Dari penelitian tersebut, Landsteiner berhasil mengidentifikasi tiga golongan darah, yaitu A, B, dan O, sedangkan golongan darah keempat, yaitu AB, baru ditemukan pada tahun berikutnya, tepatnya pada 1901 (Farhud & Yeganeh, 2013). Selain sistem ABO, terdapat pula sistem golongan darah Rhesus (yang berkaitan dengan antibodi terhadap antigen D). Sistem Rhesus pertama kali diidentifikasi oleh Levin dan Stetson pada tahun 1939, Ketika mereka menemukan adanya reaksi transfuse pada seorang pasien pasca melahirkan (Collins et al., 2021).

Selain sistem ABO dan Rhesus (Rh), masih terdapat sejumlah antigen darah lain yang juga berperan dalam menimbulkan respons imun apabila terjadi transfusi atau kontak dengan sel darah dari individu lain. Sampai saat ini telah ditemukan setidaknya 48 jenis antigen yang digunakan

sebagai dasar klasifikasi golongan darah, namun sistem yang paling umum dipakai adalah sistem ABO dan Rhesus (Jeklin, 2016).

1. Sistem Golongan Darah ABO

Sistem golongan darah ABO ditetapkan berdasarkan keberadaan atau ketiadaan antigen A dan B pada permukaan sel darah merah, serta keberadaan antibodi A dan B di dalam serum atau plasma. Dalam sistem ini, darah manusia diklasifikasikan ke dalam empat kelompok utama, yaitu golongan darah A, B, AB, dan O.

Tabel 2.1 Antigen dan Antibodi Golongan Darah ABO

Golongan Darah	Antigen	Antibodi
A	A	B
B	B	A
AB	A & B	Tidak Ada
O	Tidak Ada	A & B

Sumber. (Pahlawan, 2014)

Pada sistem golongan darah ABO, terdapat prinsip bahwa serum seseorang tidak akan menyebabkan pengendapan sel darah merah miliknya sendiri maupun sel darah merah dari orang lain yang memiliki golongan darah sama. Contohnya, serum individu dengan golongan darah A tidak akan mengaglutinasikan sel darah merah bergolongan A, begitu pula serum bergolongan darah B terhadap sel darah merah B. Serum pada individu bergolongan AB tidak mampu mengaglutinasikan sel darah merah A, B, maupun AB. Sedangkan sel darah merah golongan O tidak dapat mengalami aglutinasi oleh serum dari golongan darah A, B, maupun AB.

2. Sistem Golongan Darah Rhesus

Sistem golongan darah Rhesus (Rh) merupakan sistem golongan darah utama selain ABO dan menjadi komponen yang wajib diperiksa pada uji pra-transfusi. Golongan darah Rh pertama kali diidentifikasi melalui kasus reaksi transfusi pada seorang ibu pasca melahirkan. Bayi yang dilahirkan mengalami *eritroblastosis fetalis*, yaitu kelainan sel darah akibat terjadinya lisis eritrosit secara berlebihan. Pada kasus tersebut, serum sang ibu mengaglutinasi sel darah yang ditransfusikan dari suaminya, meskipun keduanya memiliki golongan darah ABO yang sama. Peristiwa kematian bayi serta reaksi transfusi pada ibu tersebut ternyata saling berkaitan. Selama masa kehamilan, ibu terekspos oleh sel darah merah janin, sehingga sistem imunnya membentuk antibodi terhadap antigen dari sel darah bayi yang mewarisi antigen serupa dengan ayahnya (Maharani & Noviar, 2018).

B. Pemeriksaan Golongan Darah ABO Dan Rhesus

1. Prinsip Pemeriksaan

Antigen + antibodi = aglutinasi / homogen

Gambar 2.1 Prinsip Pemeriksaan Golongan Darah



Aglutinas

Homogen

Sumber. (Aryani, 2023)

2. Teknik Pemeriksaan

- a. Sel grouping => bertujuan untuk mengidentifikasi antigen pada sel darah merah dengan menambahkan reagen anti-A, anti-B, dan anti-D.
- b. Serum grouping => bertujuan untuk mendeteksi antibodi yang terdapat dalam serum atau plasma dengan mereaksikannya terhadap sel golongan A, B dan O.
- c. Autokontrol => bertujuan untuk memeriksa keberadaan antibodi dalam serum atau plasma dengan mereaksikannya terhadap sel darah merah individu itu sendiri.

3. Metode Pemeriksaan

Dalam pemeriksaan golongan darah, tersedia beberapa metode yang dapat digunakan untuk menentukan jenis golongan darah. Beberapa di antaranya meliputi metode *slide test*, *bioplate*, tabung, dan *gel card*.

a. Metode *Slide Test*

Penetapan golongan darah ABO dengan metode *slide* umumnya dilakukan menggunakan reagen antisera anti-A dan anti-B. Metode ini termasuk sederhana, cepat, serta praktis untuk pemeriksaan golongan darah (Oktari & Silvia, 2016). Prinsip pemeriksaannya adalah mendeteksi antigen pada permukaan

membran sel darah merah dengan mereaksikan sampel darah dengan antisera A dan antisera B (Yuniar et al., 2016).

1.) Prosedur Pemeriksaan

- a) Siapkan *slide test* yang bersih serta kering, kemudian beri identitas pada bagian atas masing-masing kotak secara berurutan: Anti-A, Anti-B, dan Anti-D.
- b) Isi masing-masing Kotak dengan:
 - kotak pertama: 2 tetes anti-A dan 1 tetes suspensi sel 10 %.
 - kotak kedua: 2 tetes anti-B dan 1 tetes suspensi sel 10%.
 - Kotak ketiga: 2 tetes anti-D dan 1 tetes suspensi sel 40 %.
 - Kotak keempat: 2 tetes Bovine albumin 6% dan 1 tetes suspensi sel 40 %.
- c) Campurkan hingga homogen dengan batang pengaduk
- d) Goyangkan dengan gerakan membentuk angka 8, kemudian amati reaksinya (Aryani, 2023).

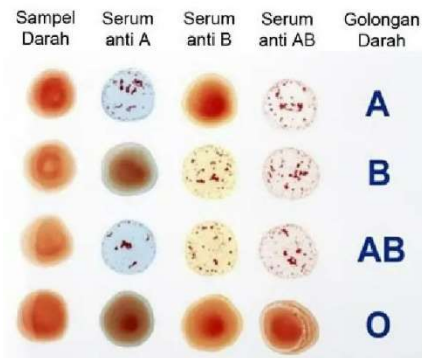
2.) Pembacaan Hasil

Bila pada pemeriksaan sel darah merah sampel terjadi:

- Aglutinasi => menunjukkan adanya antigen pada permukaan sel darah merah
- Homogen => menunjukkan tidak adanya antigen

Interpretasi hasil:

Gambar 2.2 Interpretasi Hasil Pemeriksaan Golongan Darah Metode Slide Test



Sumber. (Maharani & Noviar, 2018)

b. Metode *Bioplate*

Tujuan dari pemeriksaan golongan darah dengan metode *bioplate* adalah untuk mengetahui keberadaan antigen pada sel darah merah (sel grouping) serta mendeteksi ada atau tidaknya antibodi di dalam serum atau plasma (serum grouping) (Aryani, 2023)

1.) Prosedur Pemeriksaan

a) Siapkan *bioplate* yang bersih dan kering, kemudian beri label pada bagian atas setiap well secara berurutan: Anti-A, Anti-B, Sel A, Sel B, Sel O, Autokontrol (AK), Anti-D, serta BA 6%.

b) Isi masing-masing well dengan:

- Well 1: 2 tetes anti-A dan 1 tetes suspensi sel 10%
- Well 2: 1 tetes anti-B dan 1 tetes suspensi sel 10%

- Well 3: 1 tetes sel A 10% dan 2 tetes serum/plasma
- Well 4: 1 tetes sel B 10% dan 2 tetes serum/plasma
- Well 5: 1 tetes sel O 10% dan 2 tetes serum/plasma
- Well 6: 1 tetes sel 10% dan 2 tetes serum/plasma
- Well 7: 1 tetes suspensi sel 40% dan 2 tetes anti-D
- Well 8: 1 tetes suspensi sel 40% dan 2 tetes BA 6

c) Setiap well dicampur dengan menggoyangkan bioplate kea rah depan dan belakang sambil mengamati reaksi yang terjadi.

d) Baca hasil reaksi.

2.) Pembacaan Hasil

Bila pada pemeriksaan Sel grouping terjadi:

- Aglutinasi => menunjukkan adanya antigen pada permukaan sel darah merah
- Homogen => menunjukkan tidak adanya antigen pada permukaan sel darah merah

Bila pada pemeriksaan Serum grouping terjadi:

- Aglutinasi => menunjukkan adanya antibodi di dalam plasma atau serum

- Homogen => menunjukkan tidak adanya antibodi di dalam plasma atau serum

Gambar 2.3 Interpretasi Hasil Pemeriksaan Golongan Darah Metode Bioplate

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

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

(Neg) =Negatif/tidak terjadi penggumpalan/homogen

Sumber. (Aryani, 2023)

Tentukan derajat aglutinasi sesuai reaksi yang terlihat:

- 4+: Semua sedimen bergabung menjadi satu, cairan tampak jernih.
- 3+: Sedimen terpecah menjadi 3-4 bagian, cairan tetap jernih.
- 2+: Gumpalan mulai banyak dan kasar, cairan agak keruh.
- 1+: Gumpalan sangat banyak dan halus, cairan tampak keruh dengan warna kemerahan
- Neg: tidak ada aglutinasi, hasil homogen (Aryani, 2023).

c. Metode Tabung

Tujuan dari pemeriksaan golongan darah dengan metode tabung adalah untuk mengetahui keberadaan antigen pada sel darah

merah (sel grouping) serta mendeteksi ada atau tidaknya antibodi di dalam serum atau plasma (serum grouping) (Aryani, 2023).

1.) Prosedur Pemeriksaan

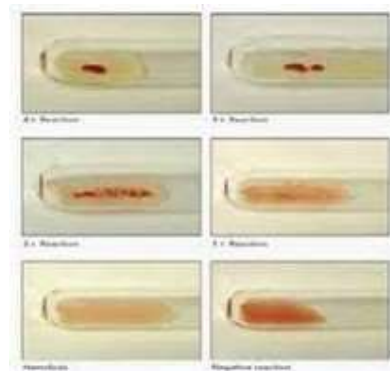
- a)** Siapkan delapan tabung, kemudian beri label pada bagian atas masing-masing tabung secara berurutan: anti-A, anti-B, sel A, sel B, sel O, autokontrol (AK), anti-D, dan BA 6%.
- b)** Isi masing-masing tabung dengan:
 - Tabung 1: 2 tetes anti-A dan 1 tetes suspensi sel 5%
 - Tabung 2: 2 tetes anti-B dan 1 tetes suspensi sel 5%
 - Tabung 3: 1 tetes sel A 5% dan 2 tetes serum atau plasma
 - Tabung 4: 1 tetes sel B 5% dan 2 tetes serum atau plasma
 - Tabung 5: 1 tetes sel O 5% dan 2 tetes serum atau plasma
 - Tabung 6: 1 tetes suspensi sel 5% dan 2 tetes serum atau plasma
 - Tabung 7: 1 tetes suspensi sel 5% dan 2 tetes anti-D
 - Tabung 8: 1 tetes suspensi sel 5% dan 2 tetes BA 6%
- c)** Homogenkan secara perlahan
- d)** Lakukan sentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 15 detik.

- e) Perlahan-lahan goyangkan tabung dan amati apakah terjadi aglutinasi.

2.) Pembacaan Hasil

Amati hasil reaksi setiap tabung satu per satu dengan menggoyangkan dan memutar tabung secara perlahan dan tentukan derajat aglutinasi sesuai reaksi yang terlihat:

Gambar 2.4 Interpretasi Hasil Pemeriksaan Golongan Darah Metode Tabung



Sumber. (Maharani & Noviar, 2018)

- 4+: Semua sedimen menyatu menjadi satu, cairan tampak jernih.
- 3+: Sedimen terpecah menjadi 3-4 bagian, cairan tetap jernih.
- 2+: Gumpalan mulai banyak dan kasar, cairan sedikit keruh.
- 1+: Gumpalan sangat banyak dan halus, cairan tampak keruh dengan warna kemerahan.

- Neg: tidak ada aglutinasi, hasil homogen Metode Gel Card (Aryani, 2023) .

d. Metode *Gel Card*

Metode *gel card* adalah salah satu teknik yang dapat digunakan untuk menentukan golongan darah ABO. Gel pada metode ini berperan sebagai penyaring yang menangkap sel-sel yang mengalami aglutinasi karena ukurannya yang lebih besar (Purwanti, 2017).

1.) Posedur Pemeriksaan

a) Siapkan suspensi sel darah 5% menggunakan larutan

LISS, yaitu:

- Campurkan 500 μL diluent 2 dengan 50 μL darah lengkap
- Campurkan 500 μL diluent 2 dengan 25 μL sel darah merah pekat

b) Siapkan suspensi sel darah 1% menggunakan larutan

LISS, yaitu:

- Campurkan 500 μL diluent 2 dengan 10 μL darah lengkap
- Campurkan 500 μL diluent 2 dengan 5 μL sel darah merah pekat

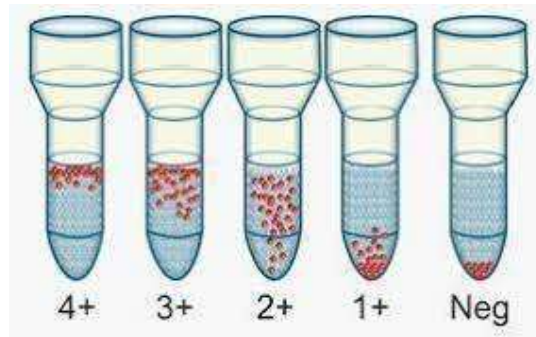
c) Siapkan *gel card* dan beri identittas pada *gel card*

- d) Lepas penutup *gel card* (*aluminium foil*)
- e) Teteskan 50 μL sel-A 1% ke dalam microtube nomor 5
(A1)
- f) Teteskan 50 μL sel-B 1% ke dalam microtube nomor 6
(B)
- g) Teteskan 10 μL suspensi sel pasien 5% ke dalam microtube nomor 4
- h) Teteskan 25 μL serum atau plasma ke dalam microtube nomor 4, 5, dan 6
- i) Teteskan 10 μL suspensi sel pasien 5% ke dalam microtube nomor 1, 2, dan 3 (A, B, D)
- j) Ketuk microtube perlahan-lahan jika campuran belum tercampur rata.
- k) Sentrifugasi *ID- card* selama 10 menit menggunakan *ID- centrifuge*
- l) Amati hasil dan catat pengamatannya.

2.) Pembacaan Hasil

- Microtube 1 dan 2 digunakan untuk sel Grouping.
- Microtube 3 digunakan untuk pemeriksaan Rhesus.
- Microtube 4 sebagai kontrol negative
- Microtube 5 dan 6 digunakan untuk serum Grouping.

Gambar 2.5 Interpretasi Hasil Pemeriksaan Golongan Darah Metode Gel Card



Sumber. (Saluju & Singal, 2014)

Tentukan derajat aglutinasi sesuai reaksi yang terlihat:

- 4+: seluruh sel darah merah terkonsentrasi di permukaan microtube.
- 3+: sebagian besar sel darah merah terkumpul di permukaan microtube, sedangkan sebagian kecil tersebar di sepanjang microtube.
- 2+: sel darah merah terangkat dari dasar microtube dan hamper memenuhi seluruh panjang microtube.
- 1+: sebagian besar sel darah merah mengendap di dasar microtube, tetapi sebagian kecil terlihat naik dari dasar tabung.
- Neg: seluruh sel darah merah mengendap di dasar tabung.

C. Faktor Faktor Ketidaksesuaian Penetapan Golongan Darah

1. Faktor Internal

a. Kesalahan Input Data di SIMDONDAR

Kesalahan input pada sistem informasi manajemen unit donor darah dapat terjadi ketika petugas salah memasukkan data donor, seperti nomor identitas, hasil golongan darah, atau status pemeriksaan reagen. Kesalahan ini bukan disebabkan oleh hasil pemeriksaan yang salah, tetapi oleh kesalahan dalam pencatatan data ke dalam sistem. Faktor penyebab utama kesalahan input adalah kelalaian manusia (*human error*), kurangnya pelatihan petugas, dan kelelahan akibat beban kerja yang tinggi. Dampak dari kesalahan input dapat cukup serius, seperti data golongan darah donor yang benar justru tercatat salah, atau darah yang seharusnya sesuai tidak digunakan karena kesalahan sistem. Oleh karena itu, penerapan verifikasi ganda (*double check*) serta pelatihan teknis yang memadai sangat penting untuk mengurangi risiko kesalahan manusia (Gunawan & Puspita, 2019).

b. Kesalahan Pembacaan Reaksi Aglutinasi

Kesalahan pembacaan reaksi aglutinasi adalah salah satu jenis kesalahan analitik yang sering terjadi di laboratorium. Kesalahan ini muncul ketika petugas salah dalam menilai hasil penggumpalan sel darah merah setelah diberi reagen anti-A atau

anti-B. Seperti, reaksi aglutinasi yang sebenarnya lemah (1+) bisa dianggap negatif, atau petugas tidak bisa membedakan antara gumpalan halus dengan latar belakang cairan. Faktor yang menyebabkan hal ini antara lain pencahayaan ruangan yang kurang baik, kelelahan mata, serta perbedaan persepsi dan pengalaman antar petugas. faktor manusia seperti tingkat ketelitian, pengalaman kerja, dan kondisi lingkungan laboratorium sangat berpengaruh terhadap keakuratan pembacaan hasil. Untuk mencegah terjadinya kesalahan ini, laboratorium perlu melakukan pelatihan rutin bagi petugas agar mampu mengenali berbagai tingkat reaksi aglutinasi dengan benar (Nabila, 2022).

c. Kesalahan Penulisan Hasil Aglutinasi

Kesalahan penulisan hasil aglutinasi merupakan salah satu bentuk kesalahan pasca-analitik (post-analytical error) yang sering terjadi di laboratorium. Kesalahan ini terjadi ketika hasil pemeriksaan yang sebenarnya sudah benar justru salah saat dicatat ke dalam laporan atau sistem komputer. Faktor penyebabnya bisa berasal dari kelelahan petugas, kurangnya verifikasi sebelum pelaporan, atau masih bergantung pada pencatatan manual. Untuk menghindari hal tersebut, laboratorium sebaiknya menerapkan prosedur verifikasi ganda (*double check*), yaitu hasil pemeriksaan diverifikasi kembali oleh petugas kedua sebelum laporan dikirimkan. Prosedur ini bertujuan memastikan bahwa setiap hasil

yang dilaporkan sudah benar dan sesuai dengan data, sehingga keakuratan laporan laboratorium dapat lebih terjamin dan keselamatan pasien tetap terjaga (Nabila, 2022).

2. Faktor Eksternal

a. Sistem Pembacaan Hasil Dengan Alat Otomatis

Alat otomatis telah banyak digunakan di bank darah untuk mempercepat pemeriksaan golongan darah dan mengurangi pekerjaan manual. Namun, alat-alat ini tidak selalu sempurna. Ada kasus di mana sistem otomatis menolak sampel karena muncul *flag error*, atau menunjukkan hasil yang berbeda dari metode manual ketika reaksi serum lemah atau ada subgrup golongan darah (Gurika Chopra et al., 2022). Jika reaksi serum lemah kurang dari grade 2+, alat otomatis mungkin sulit mendeteksi dengan jelas level penggumpalan, terutama jika sensor optik atau algoritma pemrosesan gambar tidak sensitif terhadap gumpalan halus. Selain itu, adanya kualitas reagen yang kurang baik, atau perubahan kondisi fisik sampel (seperti hemolisis, lipemia). Terdapat beberapa tindakan pencegahan. Pertama, selalu lakukan pemeriksaan Quality Control (QC) secara rutin untuk memastikan bahwa alat otomatis tetap berada dalam kondisi optimal. Kedua, jika alat otomatis memberikan hasil yang diragukan atau ditolak, maka pemeriksaan manual harus dijadikan pembanding.

b. Kualitas dan Penyimpanan Reagen

Reagen adalah bahan yang sangat penting dalam pemeriksaan golongan darah karena berfungsi untuk mendeteksi adanya antigen dan antibodi pada darah. Jika reagen tidak sesuai, hasil pemeriksaan bisa salah. Ketidaksesuaian reagen biasanya terjadi karena beberapa hal, seperti reagen yang sudah kedaluwarsa, cara penyimpanan yang tidak benar, atau reagen dari batch baru yang belum diuji kualitasnya. Hal ini bisa membuat reaksi aglutinasi menjadi lemah atau bahkan tidak muncul sama sekali.

Kualitas dan cara penyimpanan reagen sangat berpengaruh terhadap hasil pemeriksaan golongan darah. Reagen yang tidak disimpan sesuai ketentuan suhu dan kelembapan dapat menurunkan sensitivitas reaksi antara antigen dan antibodi, sehingga hasilnya bisa tidak sesuai (Reahun et al., 2019). Oleh karena itu, perhatian terhadap kondisi penyimpanan reagen menjadi hal yang wajib dilakukan di laboratorium. Untuk mencegah kesalahan akibat reagen, laboratorium harus menyimpan reagen sesuai dengan petunjuk produsen dan menjaga suhu penyimpanan tetap stabil. Selain itu, setiap kali menerima reagen baru, petugas wajib melakukan uji coba terhadap sampel kontrol positif dan negatif sebelum digunakan.

c. Antigen sel darah merah lemah

Beberapa orang memiliki antigen pada permukaan sel darah merah yang lemah karena faktor genetik atau kondisi medis tertentu, seperti anemia atau leukemia. Kondisi ini menyebabkan reaksi aglutinasi saat pemeriksaan golongan darah menjadi sangat lemah atau samar, sehingga hasilnya bisa salah terbaca. Antigen yang lemah membuat antibodi sulit membentuk gumpalan yang jelas.

Antigen sel darah merah yang lemah, seperti pada subgrup A (A_3 , A_{end} , A_x , A_m , A_y , dan A_{el}), juga dapat menyebabkan hasil pemeriksaan *forward typing* menjadi tidak jelas atau bahkan menghasilkan hasil negatif palsu (Gurika Chopra et al., 2022). Akibatnya, hasil pemeriksaan awal bisa berbeda dengan hasil konfirmasi, terutama jika petugas tidak melakukan pemeriksaan tambahan. Faktor genetik dan variasi ekspresi antigen pada permukaan eritrosit merupakan penyebab utama lemahnya reaksi antara antigen dan antibodi. Darah dengan kadar hemoglobin rendah juga menunjukkan reaksi aglutinasi yang lemah, tetapi reaksi tersebut bisa diperkuat setelah dilakukan proses sentrifugasi. Untuk mengatasi hal ini, petugas laboratorium dapat memperpanjang waktu inkubasi agar antibodi memiliki waktu lebih lama untuk bereaksi, meningkatkan konsentrasi sel darah merah, atau menggunakan metode yang lebih sensitif.