

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Anemia

Anemia adalah suatu kondisi dimana jumlah sel darah merah atau kapasitas pembawa oksigen mereka tidak cukup untuk memenuhi kebutuhan fisiologis yang bervariasi menurut umur, jenis kelamin, ketinggian suatu daerah, merokok dan status kehamilan (Hoffbrand, 2005).

Anemia didefinisikan sebagai berkurangnya kadar hemoglobin darah. Hemoglobin yang terkandung di dalam eritrosit berperan dalam mengangkut oksigen dari paru-paru dan mengantarkannya ke seluruh bagian tubuh. Kadar hemoglobin normal pada pria 13-16 g/dl, pada wanita 12 – 14 g/dl. Menurunnya kadar hemoglobin biasanya disertai dengan penurunan jumlah eritrosit dan hematokrit (Hoffbrand, 2005).

Kriteria anemia pada umumnya adalah kadar hemoglobin kurang dari 10 g/dl, hematokrit < 30%, dan eritrosit < 2,8 juta/mm³. Derajat anemia ditentukan oleh kadar hemoglobin. Klasifikasi derajat anemia yang umum dipakai adalah anemia ringan sekali dengan hemoglobin 10 g/dl, anemia ringan dengan hemoglobin 8 g/dl-9,9 g/dl, anemia sedang dengan hemoglobin 6 g/dl-7-9 g/dl, dan anemia berat dengan hemoglobin < 6 g/dl (Bakta, 2006).

Klasifikasi yang paling bermanfaat adalah klasifikasi berdasarkan indeks eritrosit yang membagi anemia menjadi mikrositik, normositik dan makrositik.

Selain mengarah pada sifat defek primernya, pendekatan ini dapat menunjukkan kelainan yang mendasari sebelum terjadi anemia yang jelas (Hoffbrand, 2005).

Gejala anemia sangat bervariasi, tetapi umumnya penderita tampak lemah, kulit wajah dan konjungtiva terlihat lebih pucat, bibir pucat, ujung jari pucat, dan sesak nafas pada anemia berat. Gejala khas merupakan gejala yang menjadi ciri dari masing-masing jenis anemia, seperti gejala anemia defisiensi besi, anemia defisiensi asam folat, anemia hemolitik dan anemia aplastik (Bakta, 2006)..

2.2 Pemeriksaan Laboratorium Penderita Anemia

Pemeriksaan laboratorium untuk diagnosis anemia dilakukan secara bertahap. Pemeriksaan berikutnya dilakukan dengan memperhatikan hasil pemeriksaan terdahulu sehingga lebih terarah dan efisien. Pemeriksaan yang dilakukan meliputi :

1. Tes penyaring, tes ini dikerjakan pada tahap awal pada setiap kasus anemia yang terdiri dari pengukuran kadar hemoglobin, indeks eritrosit, dan apusan darah tepi.
2. Pemeriksaan darah seri anemia, meliputi hitung lekosit, trombosit, retikulosit, dan laju endap darah.
3. Pemeriksaan sumsum tulang, pemeriksaan ini harus dikerjakan pada sebagian besar kasus anemia untuk mendapatkan diagnosis definitif meski ada beberapa kasus yang diagnosisanya tidak memerlukan pemeriksaan sum-sum tulang.
4. Pemeriksaan khusus sesuai jenis anemia, pemeriksaan ini harus dikerjakan jika telah mempunyai dugaan diagnosis awal sehingga fungsinya adalah untuk mengkonfirmasi dugaan diagnosis tersebut.

Selain itu, diperlukan pula pemeriksaan non-hematologik tertentu seperti pemeriksaan faal hati, faal ginjal, atau faal tiroid (Bakta, 2006).

2.2.1 Hemoglobin

Hemoglobin merupakan zat protein, terdapat dalam eritrosit yang memberi warna merah pada darah dan merupakan pengangkut oksigen utama dalam tubuh. Struktur hemoglobin terdiri dari satu golongan hem dan globin yang merupakan empat rantai polipeptida terdiri dari asam amino yang terdekati terangkai menjadi rantai dengan urutan tertentu. Molekul-molekul hemoglobin terdiri dari dua pasang rantai polipeptida (globin) dan empat gugus hem yang masing-masing mengandung sebuah atom besi (Riswanto, 2013).

Pengukuran kadar hemoglobin merupakan pemeriksaan hematologi rutin atau sebagai tes penyaring awal untuk kecurigaan terhadap anemia. Pengukuran kadar hemoglobin dapat dilakukan menggunakan metode otomatis dengan hematology analyzer (Sacher, 2012).

2.2.2 Indeks Eritrosit

Indeks Eritrosit atau *Mean Corpuscular Value* adalah suatu nilai rata-rata yang dapat memberi keterangan mengenai rata-rata eritrosit dan mengenai banyaknya hemoglobin per-eritrosit. Pemeriksaan indeks eritrosit digunakan sebagai pemeriksaan penyaring untuk mendiagnosis terjadinya anemia dan mengetahui anemia berdasarkan morfologinya. Angka indeks eritrosit dengan metode otomatis dapat dihitung secara simultan. Kadar hemoglobin atau hematokrit digunakan untuk menyatakan derajat anemia (Sacher, 2012).

1. MCV atau VER

MCV (*Mean Corpuscular Volume*) atau VER (*Volume Eritrosit Rata-rata*) adalah volume rata-rata eritrosit yang dinyatakan dengan satuan *femtoliter* (fl). Rumus perhitungannya :

$$\text{MCV} = \frac{\text{Nilai Hematokrit (Vol\%)}}{\text{Jumlah Eritrosit (juta/ul)}} \times 10$$

Nilai normal MCV = 82 – 92 fl. Penurunan MCV terjadi pada pasien anemia mikrositik, defisiensi besi, arthritis rheumatoid, thalasemia, anemia sel sabit, hemoglobin C, keracunan timah dan radiasi. Peningkatan MCV terjadi pada pasien anemia aplastik, anemia hemolitik, anemia penyakit hati kronik, hipotiridisme, efek obat vitamin B12, anti konvulsan dan anti metabolik (Gandasoebrata, 2013).

2. MCH atau HER

MCH (*Mean Corpuscular Hemoglobin*) atau HER (*Hemoglobin Eritrosit Rata-rata*) adalah jumlah *hemoglobin* per-eritrosit yang dinyatakan dengan satuan pikogram (pg). Rumus perhitungannya :

$$\text{MCH} = \frac{\text{Nilai Hemoglobin (gr\%)}}{\text{Jumlah Eritrosit (juta/ul)}} \times 10$$

Nilai Normal MCH = 27– 31 pg. Penurunan MCH terjadi pada pasien anemia mikrositik dan anemia hipokromik. Peningkatan MCH terjadi pada pasien anemia defisiensi besi (Sacher, 2012).

3. MCHC atau KHER

MCHC (*Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration*) atau KHER (Konsentrasi Hemoglobin Eritrosit Rata-rata) adalah konsentrasi hemoglobin yang didapat per-eritrosit yang dinyatakan dengan satuan gram per *desiliter* (gr/dl).

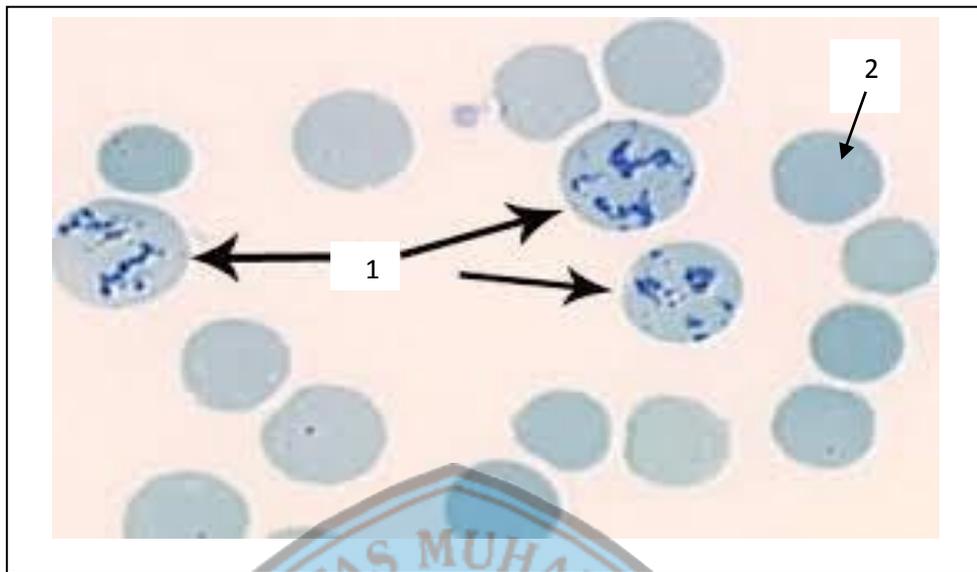
Rumus perhitungannya :

$$\text{MCHC} = \frac{\text{Nilai Hemoglobin (gr\%)} }{\text{Jumlah Hematokrit (vol\%)} } \times 100$$

Nilai normal MCHC = 30-35 gram perdesiliter (gr/dl). Penurunan MCHC terjadi pada pasien anemia mikrositik dan anemia hipokromik dan peningkatan MCHC terjadi pada pasien anemia defisiensi besi (Gandasoebrata, 2013).

2.2.3 Retikulosit

Retikulosit adalah sel eritrosit yang belum matang, dan kadarnya dalam eritrosit manusia sekitar 1%. Retikulosit berkembang dan matang di sumsum tulang merah dan disirkulasikan dalam pembuluh darah sebelum matang menjadi eritrosit. Seperti eritrosit, retikulosit tidak memiliki inti sel (nukelus). Sel ini disebut retikulost karena memiliki jaringan seperti retikuler pada ribosom *Ribonucleic acid* (RNA). Retikuler ini hanya dapat diamati di bawah mikroskop dengan pewarnaan tertentu seperti pewarnaan supravital dengan metilen biru baru. Retikulosit tampak lebih kebiruan daripada eritrosit ketika diamati dengan pewarnaan Romanowsky biasa. Ukurannya menyerupai eritrosit yakni sekitar 6 hingga 9 mikron (Wirawan, 2011).



Gambar 1. Retikulosit, 2 Eritrosit

Sumber : <https://onioktavia.wordpress.com/2015/03/04/retikulosit-dan-cara-pemeriksaannya>

Jumlah retikulosit dihitung pada mikroskop cahaya dengan perbesaran 100 X 10, dihitung minimal per 1000 eritrosit dalam lapang pandang lebih dari 10. Jumlah retikulosit yang ditemukan dalam lapang pandang tersebut dicatat, dan dapat dilaporkan dalam persen atau permil terhadap jumlah eritrosit total atau dilaporkan dalam jumlah mutlak. Nilai normal : 0,5 – 1,5 % (Wirawan, 2011).

2.2.4 Retikulosit Pada Anemia

Hitung retikulosit merupakan indikator aktivitas sumsum tulang dan digunakan untuk mendiagnosis anemia. Banyaknya retikulosit dalam darah tepi menggambarkan eritropoesis yang hampir akurat. Peningkatan jumlah retikulosit di darah tepi menggambarkan akselerasi produksi eritrosit dalam sumsum tulang. Sebaliknya, hitung retikulosit yang rendah terus-menerus dapat mengindikasikan keadaan hipofungsi sumsum tulang atau anemia aplastik (Wirawan, 2011).

Pemeriksaan retikulosit merupakan pemeriksaan darah seri anemia bersama dengan pemeriksaan lekosit, trombosit, dan laju endap darah. Hitung retikulosit sering digunakan sebagai ukuran produksi eritroid oleh sumsum tulang. Hitung retikulosit dilaporkan sebagai persentase dari eritrosit yang beredar. Peningkatan hitung retikulosit pada kadar hemoglobin yang normal menunjukkan eritrosit sedang mengalami kerusakan atau hilang, tetapi sumsum tulang telah meningkatkan produksi eritrositnya untuk menggantikan. Kadar hemoglobin yang rendah, hitung retikulosit 0,5-2,5% mengisyaratkan respon terhadap anemia tidak memadai. Hal ini terjadi pada gangguan atau penurunan produksi sumsum tulang atau penurunan kadar eritropoietin (Sacher,2012).

2.3 Pemeriksaan Jumlah Retikulosit

Pemeriksaan jumlah retikulosit sampai saat ini masih didasarkan pada penilaian visual terhadap sel yang diwarnai oleh pewarna supravital yang memperlihatkan serat-serat reticulum. Hitung ini adalah penilaian semi kuantitatif jumlah retikulosit (Sacher, 2012).

2.3.1 Cara Manual

Pemeriksaan retikulosit cara manual atau supravital dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu cara sediaan basah dan sediaan kering. Prinsipnya, retikulosit mengandung sebagian RNA yang masih tertinggal, adanya RNA ini hanya dapat dinyatakan dalam eritrosit yang masih hidup, eritrosit yang telah mengering pada kaca obyek atau yang telah mati tidak dapat dipulas. Proses pemulasan ini disebut pulasan vital (Gandasoebrata, 2013).

Pulasan vital dapat menggunakan *Brilliant cresyl blue*(BCB) atau *new methyleneblue* dengan susunan :

- a. Larutan BCB 1% dalam metil alkohol atau BCB 1 % dalam NaCl 0,85%, untuk membuat larutan dalam NaCl dibutuhkan sedikit pemanasan.
- b. New methylenblue 0,5 gram, Kalium oksalat 1,4 gram aquadest 100 ml.
Larutan ini digunakan seperti larutan BCB dalam air garam.

Kedua larutan tersebut harus disaring sebelum dipakai untuk pemeriksaan.

Pulasan vital ini dapat digunakan untuk membuat sediaan basah atau untuk sediaan kering (Gandasoebrata, 2013).

2.3.1.1 Sediaan Basah

Teknik ini dikerjakan dengan waktu yang lebih singkat sehingga membuat cara basah lebih efisien dibandingkan cara kering. Kelemahannya, sediaan harus segera diperiksa, sehingga tidak ada waktu untuk menunda, selain itu retikulosit akan tampak berjalan atau bergerak yang mengakibatkan sel yang telah terhitung kemungkinan akan terhitung kembali (Gandasoebrata, 2013).

2.3.1.2 Sediaan Kering

Penggunaan sediaan kering merupakan cara yang cukup baik dan dapat diperiksa kapan saja. Sediaan kering ini sangat baik digunakan karena mempersingkat waktu persiapan pasien bila kebutuhan pemeriksaan jumlah retikulosit rutin dan *checkup* dengan jumlah sampel yang cukup banyak (Gandasoebrata, 2013).

2.4 Pengaruh Suhu dan Penundaan Terhadap Jumlah Retikulosit

Spesimen yang tidak langsung diperiksa dapat disimpan dengan memperhatikan jenis pemeriksaan yang akan diperiksa. Penyimpanan spesimen sedapat mungkin dihindarkan, artinya darah segera diperiksa setelah berhasil ditampung atau diambil (Nurrachmat, 2005).

Persyaratan penyimpanan beberapa spesimen untuk beberapa pemeriksaan harus memperhatikan jenis spesimen, antikoagulan atau pengawet dan wadah serta stabilitasnya. Beberapa cara penyimpanan spesimen, yaitu disimpan pada suhu kamar, disimpan dalam lemari es dengan suhu 2-8°C, dapat diberikan bahan pengawet, penyimpanan spesimen darah sebaiknya dalam bentuk serum atau lisat (Witono, 2008).

Sampel darah yang digunakan untuk hitung jumlah retikulosit sebaiknya darah kapiler segar atau darah vena yang ditambahkan antikoagulan EDTA untuk menghindari terjadinya pembekuan (Gandasoebrata, 2013). Darah EDTA dibuat dengan cara mengalirkan 2 ml darah vena pada tabung atau botol yang telah berisi 2 mg EDTA kemudian botol / tabung ditutup dan segera darah dicampur dengan antikoagulan EDTA selama 60 detik atau lebih. Apabila pemeriksaan tidak dapat dilakukan segera, darah EDTA dapat disimpan dalam lemari es, dan dibiarkan mendapat suhu kamar lebih dahulu sebelum darah diperiksa. Batas waktu pemeriksaan retikulosit menggunakan antikoagulan EDTA adalah 6 jam (Nurrachmat, 2005).

2.5 Antikoagulan EDTA

Antikoagulan adalah zat yang mencegah pembekuan darah dengan cara mengikat (khelasi) atau mengendapkan (presipitasi) kalsium, atau dengan cara menghambat pembentukan thrombin yang diperlukan untuk mengkonversi fibrinogen menjadi fibrin dalam proses pembekuan (Riswanto, 2013).

Antikoagulan EDTA umumnya tersedia dalam bentuk garam natrium dan kalium, mencegah koagulasi dengan cara mengikat atau mengkhelasi kalsium (Ca) dalam darah. EDTA memiliki keunggulan dibanding antikoagulan yang lain, yaitu tidak mempengaruhi sel-sel darah, sehingga ideal untuk pengujian hematologi, termasuk hitung jumlah lekosit. EDTA yang biasa digunakan adalah dinatrium (Na_2EDTA), dan dipotasium (K_2EDTA). Na_2EDTA dan K_2EDTA biasanya digunakan dalam bentuk kering (Riswanto, 2013).

2.6 Kesalahan Pemeriksaan Jumlah Retikulosit Cara Manual

Kesalahan dalam pemeriksaan jumlah retikulosit cara manual (supravital) terbagi dalam tiga tahap, yaitu pra analitik, analitik dan paska analitik.

2.6.1 Tahap Pra Analitik

1. Pemberian identitas pada spesimen salah atau tertukar
2. Kesalahan persiapan sampel, antara lain :
 - a. Pengambilan sampel darah vena, ikatan pembendung terlalu kuat dan lama sehingga menyebabkan hemokonsentrasi.
 - b. Terjadinya bekuan dalam spuit karena lambat dalam bekerja.

- c. Terjadinya bekuan dalam botol karena darah tidak tercampur tepat dengan antikoagulan Volume sampel tidak cukup, sehingga perbandingan sampel darah dan EDTA tidak seimbang.
- d. Antikoagulan yang dipakai tidak sesuai.
- e. Sampel darah EDTA tidak disimpan di lemari es dengan suhu 4°C dan melebihi batas waktu pemeriksaan untuk retikulosit adalah 6 jam (Gandasoebrata, 2013).

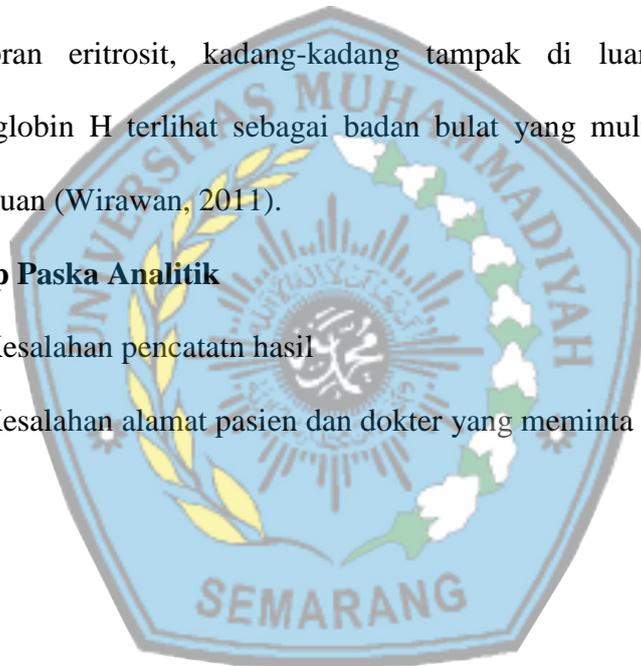
2.6.2 Tahap Analitik

1. Pembuatan darah hapus yang tidak baik, karena darah cepat menggumpal atau mengering saat diteteskan pada kaca obyek.
2. Darah hapus terlalu tebal sehingga mempengaruhi sel.
3. Waktu inkubasi campuran antara darah dan zat warna kurang lama.
4. Cat tidak disaring sehingga membentuk endapan pada eritrosit.
5. Pemanasan smear dapat merusak reticulum sehingga akan tampak seperti batang dan granula.
6. Perubahan pH cat ke arah asam akan menyebabkan reticulum berbentuk granula halus, sedangkan perubahan ke arah alkali akan menyebabkan reticulum berbentuk noktah.
7. Campuran darah dan zat warna tidak dicampur sampai homogen sebelum membuat sediaan. Retikulosit mempunyai berat jenis yang lebih rendah dari eritrosit sehingga cenderung berada di bagian atas dari campuran. Campuran antara darah dengan zat warna perlu dicampur dengan baik sebelum dibuat sediaan apus.

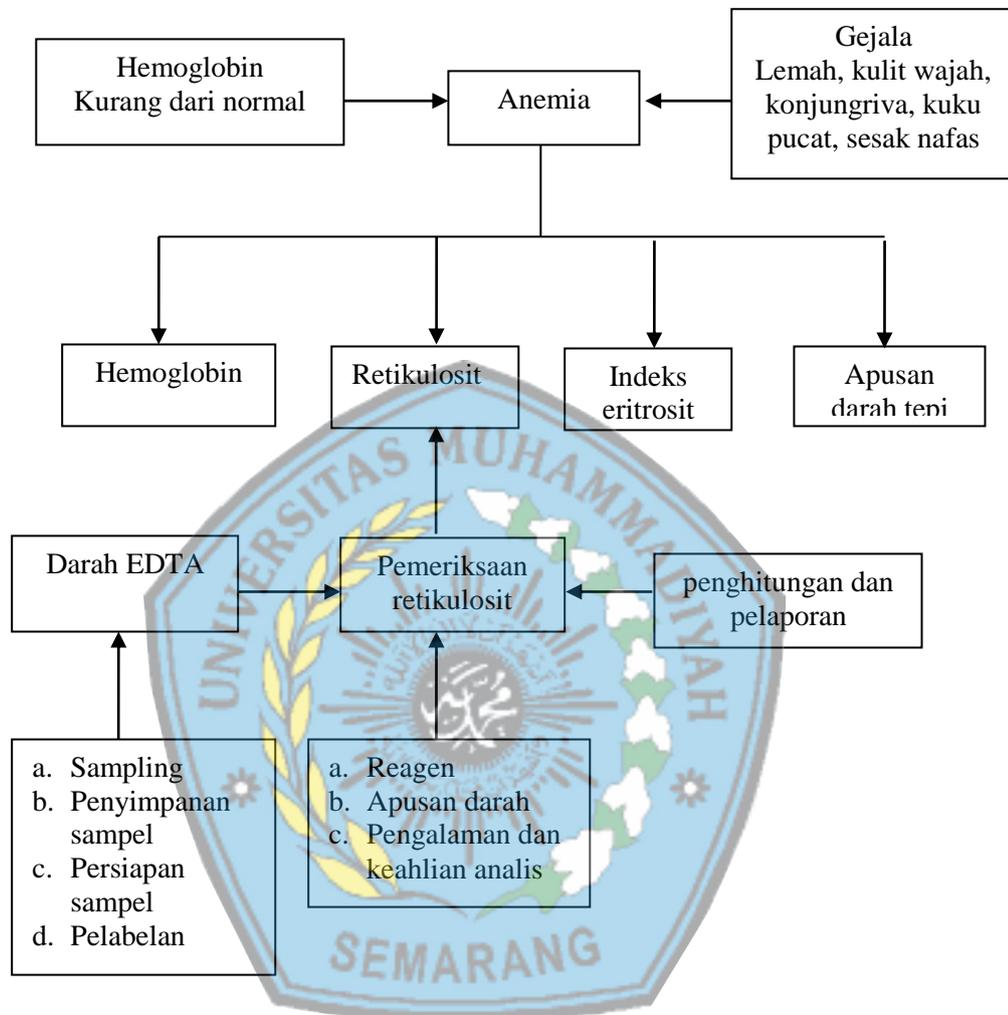
8. Menghitung di daerah yang jumlah eritrositnya terlalu padat.
9. Jumlah eritrosit yang dihitung tidak mencapai 1000 atau tidak mencapai 10 lapang pandang (Gandasoebrata, 2013).
10. Kesalahan dalam membedakan benda inklusi (benda Heinz dan hemoglobin H) dan retikulosit. Retikulosit berwarna biru dengan filamen dan granula berwarna biru tua. Badan Heinz tampak sebagai badan inklusi yang berukuran 1-3 mikrometer, berwarna biru tua dan biasanya berada dekat membran eritrosit, kadang-kadang tampak di luar eritrosit. Inklusi hemoglobin H terlihat sebagai badan bulat yang multipel berwarna biru kehijauan (Wirawan, 2011).

2.6.3 Tahap Paska Analitik

- a. Kesalahan pencatatan hasil
- b. Kesalahan alamat pasien dan dokter yang meminta pemeriksaan.

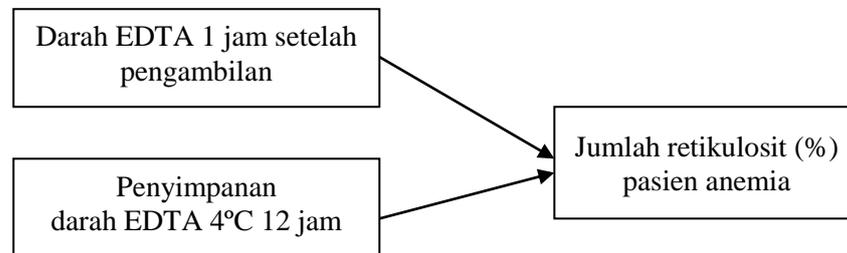


2.7 Kerangka Teori



Gambar 2. Kerangka Teori

2.8 Kerangka Konsep



Gambar 3. Kerangka Konsep

2.9 Hipotesis

Terdapat perbedaan jumlah retikulosit sampel darah EDTA yang diperiksa 1 jam setelah pengambilan dengan darah EDTA penyimpanan 12 jam.

