

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1. Leukimia**

Leukimia adalah suatu penyakit yang disebabkan perubahan satu atau lebih sel progenitor hematopoetik dari normal menjadi suatu keganasan (Turgoen, 2012). Diferensiasi dan proliferasi sel induk hematopoietik yang mengalami transformasi secara maligna dan menyebabkan penekanan serta penggantian unsur sumsum tulang yang normal merupakan pertanda terjadinya leukimia (Price & Wilson, 2005). Maturitas sel maupun turunan selnya, leukimia dapat diklasifikasi berdasarkan tipe sel akut dan kronik (Lauder *et al*, 2002).

#### **2.2. Besi (Fe)**

Besi merupakan satu dari unsur terbanyak pada kulit bumi, akan tetapi defisiensi besi merupakan sebab terbanyak anemia. Tubuh memiliki kemampuan terbatas untuk menyerap besi tetapi tubuh juga kehilangan besi akibat pendarahan. Besi dibutuhkan oleh organisme terutama manusia dalam jumlah tertentu, tetapi dalam jumlah yang berlebih besi dapat menimbulkan efek toksik, dari hal tersebut besi merupakan logam berat yang memiliki sifat esensial (Sutrisno & Totok, 2010)

##### **2.2.1. Siklus besi dalam tubuh**

Pertukaran besi di dalam tubuh diatur oleh besarnya besi yang dapat diserap usus, pertukaran besi tersebut bersifat tertutup, sedangkan besi fisiologik bersifat menetap, besi oleh usus berkisar 1-2 mg setiap harinya, dalam jumlah yang sama ekskresi besi terjadi melalui eksfoliasai epitel. Bentuk transferrin besi dari usus akan bergabung dengan besi yang dimobilisasi dari makrofag dalam sumsum tulang



### 2.3. Anemia Defisiensi Besi

Anemia defisiensi besi merupakan anemia yang bersifat sekunder terhadap kekurangan Fe yang tersedia dalam sintesa hemoglobin. Anemia defisiensi besi merupakan jenis anemia yang paling banyak dijumpai didunia. Depleksi yang terjadi pada cadangan besi, defisiensi besi dan akhirnya anemia defisiensi besi merupakan serangkaian proses dari keadaan tersebut. Kekurangan zat besi yang dibutuhkan dalam sintesis hemoglobin dalam tubuh merupakan akibat dari terjadinya anemia defisiensi besi (Raspati, *et al.*, 2005).

Anemia jenis ini merupakan jenis anemia yang paling sering dijumpai, terutama di negara-negara tropik atau negara dunia ketiga karena berkaitan erat dengan taraf sosial ekonomi. Penderita anemia defisiensi besi diseluruh dunia diperkirakan sebesar 500 juta orang, anemia ini mengenai semua usia walaupun terbanyak terdapat pada anak dalam masa pertumbuhan.

### 2.4. Sumsum tulang

Sumsum tulang merupakan jaringan ikat retikular yang sangat khusus dan mempunyai potensi hematogenik dan osteogenik. Fetus pada sumsum tulang merupakan jaringan hematopoetik yang aktif, secara bertahap sumsum tulang mengambil alih fungsi dalam pembentukan darah oleh hati dan merupakan organ pembentuk darah utama selama 3 bulan terakhir kehidupan fetus dan dalam kehidupan selanjutnya setelah lahir (Johnson, 1994).

Sumsum tulang memiliki warna kuning timbul dari banyaknya sel-sel lemak, predomnan sel besar adipose dengan campuran makrofag, stem sel, sel-sel retikuler, pada dasarnya tidak memiliki sel hemopoetik. Stimulasi sel-sel

berdiferensiasi menimbulkan sel myeloid dan mengubah sumsum tulang kuning ke sumsum merah. Sumsum tulang kuning memiliki 2 fungsi utama yaitu, sebagai organ penyimpanan yang kaya lemak, merupakan cadangan jaringan hematopoetik dan menjadi tempat produksi sel-sel dalam situasi patologis eritrosit (Mescher, 2012).

Sumsum tulang berisi sel-sel dan komponen-komponen ekstraseluler seperti jaringan penyambung lainnya. Kedua macam sel ini terfiksasi, dinamakan sel lemak dan sel pembentuk dinding pembuluh darah, tanda utama yang paling khas pada sumsum tulang yaitu pembagian histologinya menjadi bagian vascular yang terutama terdiri dari satu sistim sinusoid vascular dan bagian hemopoetik yang membentuk ruang-ruang tak teratur diantara pembuluh –pembuluh darah (Geneser,F., 1994).

## 2.5. Pewarnaan Fe

Pewarnaan Fe dapat dilakukan dengan metode H&E dan metode Perl's dengan memanfaatkan simpanan besi larutan (ferritin) dan besi tidak larut (hemosiderin). Fragmen sumsum tulang yang terdapat hemosiderin dibuat sediaan sumsum tulang yang diwarnai (Cheles *et al.* 2004). Metode pewarnaan H&E cadangan besi hemosiderin akan terlihat seperti butiran granula coklat dalam sitoplasma, sedangkan cadangan bentuk ferritin tidak terlihat (Krishna, 2013).

Tahun 1867 pewarnaan Fe metode Perl's dikenalkan oleh Max Perls dari penemuan rancangan reagen yang stabil antara asam dan ferosianida yang ternyata mampu mengendapkan  $fe^{3+}$  dalam sel (Kumar *et al.*, 2010). Pewarnaan Perl's tidak hanya untuk mewarnai cadangan besi hemosiderin Perl's tetapi juga digunakan

untuk cadangan besi ferritin (Hill, 1988). Hemosiderin hadir sebagai granula berwarna kuning keemasan (Bain, 2015). Prinsip dari pewarnaan Perl's yaitu pembentukan endapan ion feri ferosianida akibat reaksi asam klorida dan kalium ferosianida (Hill, 1988). Endapan feri ferosianida akan tampak biru-gelap.

### 2.5.1. Prosedur Pewarnaan Fe

Fiksasi sediaan sumsum tulang dilakukan pada tahap awal pewarnaan Perl's. Proses fiksasi menggunakan methanol sebagai zat fiksatif. Kemudian diberikan larutan HCL, pada proses tahap pewarnaan menggunakan larutan kalium ferosianida dan pada tahap akhir *counterstaining* atau pewarna tanding (Polyscience, 2006).

Dua tahap yang terdapat pada reaksi sitokimia untuk kompleks protein besi, yaitu pelepasan dan pengikatan. Larutan asam berfungsi untuk melepaskan ikatan kompleks besi dengan protein. Kombinasi larutan asam klorida (melepaskan) dan kalium ferosianida (mengikat) mampu melepaskan dan mengikat warna dalam satu waktu, dan tahap akhir warna merah sebagai *counterstaining* (pewarna tanding) menjadi warna khas untuk pewarnaan ini karena biru prusia yang dihasilkan tidak dapat larut dalam larutan asam (Kumar *et al.*, 2010).

Fragmen dalam aspirat sumsum tulang diperlukan dalam penilaian cadangan besi sumsum tulang. Pemeriksaan besi sumsum tulang dapat mendeteksi peningkatan atau penurunan cadangan besi di dalam tubuh. Nilai cadangan besi berkisar 20-50% pada kondisi normal. Pelaporan hasil penilaian cadangan besi dinilai normal, menurun atau meningkat, atau dinilai menggunakan tingkatan +1 hingga +6 seperti yang ditunjukkan Tabel 2.1 (Bain *et al.*, 2001).

Tabel 2.1 Gradasi histologi status besi sumsum tulang menurut Gale *et al* (1963)

Tingkat	Tampak	Keterangan
0	Tidak ada	Tidak nampak partikel besi (x1000)
1	Sangat sedikit	Tampak partikel besi yang kecil (x1000)
2	Sedikit	Tampak partikel yang kecil dan sedikit (x100)
3	Sedang	Tampak banyak partikel besi (x100)
4	Sangat sedang	Tampak partikel besi bergerombol diseluruh fragmen (x100)
5	Berat	Tampak partikel besi dan membentuk gerombol besar pada fragmen (x100)
6	Sangat berat	Tampak partikel besi bergerombol besar menutupi gambaran seluleritas (x100)

### 2.5.2. Faktor-faktor yang mempengaruhi pewarnaan sitokimia

Pewarnaan sitokimia secara umum terdapat beberapa faktor yang dapat mempengaruhi hasil pewarnaan yaitu konsentrasi larutan pewarna, jumlah fragmen, pH dan fiksasi. Faktor lain yang juga dapat mempengaruhi yaitu kandungan zat yang dianalisis. Pewarnaan Fe menurut Perl's (1867) ada beberapa hal yang harus diperhatikan yakni :

- Menggunakan control positif untuk memastikan diferensiasi yang benar telah tercapai
- Zat fiksasi yang netral digunakan agar memberikan hasil yang baik. Zat fiksatif asam, fiksatif dikromat, dan cairan dekalsifikasi asam harus dihindari karena akan menyebabkan hilangnya hidrolitik progresif ion besi dari jaringan.
- Hasil latar belakang pewarnaan berwarna merah

Inkubasi dalam pewarnaan Fe berfungsi sebagai proses penjagaan pada suhu tertentu agar zat warna yang dipakai dapat menyerap secara optimal. Inkubasi dalam pewarnaan Fe akan terjadi suatu reaksi ion ferrosianida menjadi ferro ferri, larutan dari kuning menjadi biru. Fe semakin banyak maka warna biru akan semakin kuat dan semakin sedikit Fe warna hijau kebiruan yang terlihat. Waktu

inkubasi sangat berpengaruh dalam proses tersebut , jika waktu inkubasi yang digunakan terlalu sebentar atau terlalu lama hasil dari pewarnaan Fe akan menjadi kurang baik , dapat menimbulkan positif dan negatif palsu.

### 2.5.2 Kriteria Pewarnaan Fe yang Baik Menurut Perl's (1867)

- Pada fragmen sumsum tulang partikel besi berwarna biru
- Sel-sel selain partikel besi berwarna merah
- Lemak berwarna bening
- Bentuk fragmen sumsum tulang yang utuh

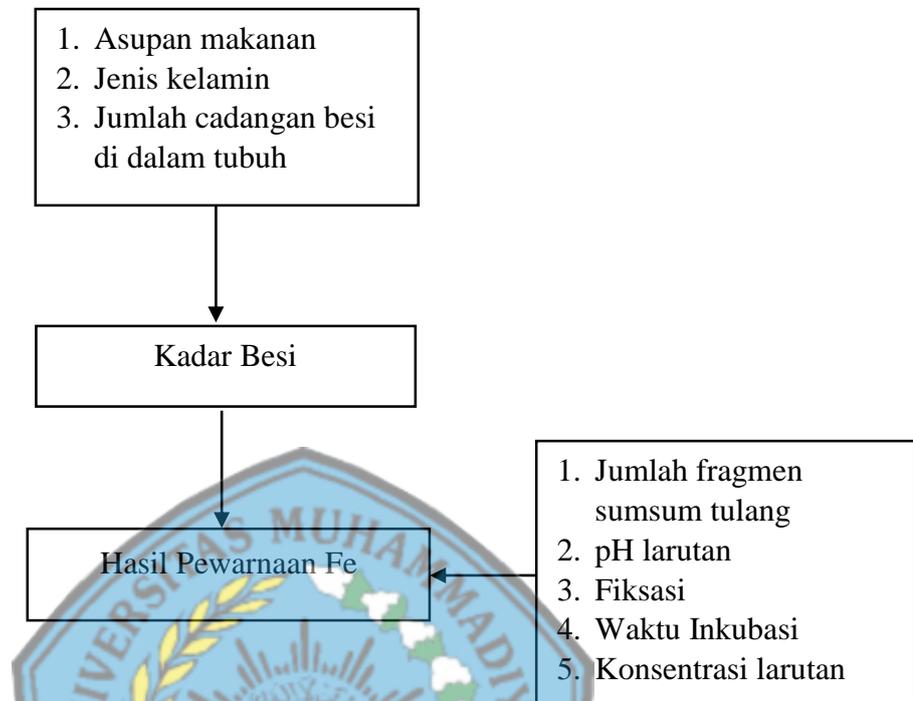
Tabel 2.2 Hasil pewarnaan (Cheles *et al.* 2004)

Ciri	Tampak
Cadangan besi Nuklei, sitoplasma	Biru Merah



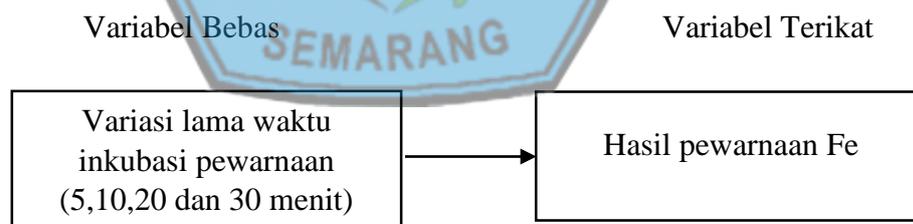
Gambar 2.2 fragmen sumsum tulang yang telah terwarnai pewarnaan Fe  
Sumber : Dokumuntasi pribadi, 2018

## 2.6. Kerangka teori



Gambar 2.3 Kerangka teori

## 2.7. Kerangka Konsep



Gambar 2.4 Kerangka konsep

## 2.8. Hipotesis

Ada perbedaan hasil pewarnaan Fe terhadap lama waktu inkubasi pewarnaan pada preparat sumsum tulang.