

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Landasan Teori

1. Anemia

a. Pengertian Anemia

Anemia merupakan kondisi jumlah sel darah merah atau hemoglobin lebih rendah dari normal. Kadar hemoglobin normal pada pria dan wanita berbeda. Kadar hemoglobin (Hb) normal pria adalah 13 g/dl, sedangkan kadar hemoglobin normal wanita adalah 12 g/dl (Rahayu *et al.*, 2019).

b. Klasifikasi Anemia

Berdasarkan kadar hemoglobin, anemia bisa dikatagorikan menjadi 3, yaitu anemia ringan dengan kadar hemoglobin 9-11 g/dl, anemia sedang dengan kadar hemoglobin 7-8 g/dl dan anemia berat dengan kadar hemoglobin < 7 g/dl (Aini, 2020).

Berdasarkan morfologi, anemia dikatagorikan menjadi 3, yaitu:

- 1) Anemia *normositik*, merupakan anemia dengan ciri-ciri eritrosit normal dengan nilai MCV normal antara 80-100 fL.
- 2) Anemia *mikrositik*, merupakan anemia dengan ciri-ciri eritrosit yang kecil dengan nilai MCV kurang dari 80 fL.
- 3) Anemia *makrositik*, merupakan anemia dengan ciri utama bentuk eritrosit terlihat lebih besar daripada ukuran eritrosit normal pada apusan darah tepi dengan nilai MCV di atas 100 fL (Setiawan *et al.*, 2014).

c. Penyebab Anemia

Penyebab anemia dapat diklasifikasikan menjadi tiga kategori berdasarkan buku pedoman pencegahan anemia dan penanggulangan anemia pada rematri dan wanita usia subur (WUS) (Kemenkes RI, 2018), yaitu:

- 1) Defisiensi zat gizi
 - a) Menurunnya asupan makanan nabati dan hewani yang berperan penting dalam produksi hemoglobin untuk komponen eritrosit.
 - b) Pasien dengan infeksi kronis seperti HIV/AIDS, TBC dan keganasan sering mengalami anemia.
- 2) Pendarahan (*Loss of Blood Volume*)
 - a) Pendarahan akibat trauma, luka dan kecacingan.
 - b) Pendarahan akibat menstruasi yang lama dan berlebihan.
- 3) Hemolisis
 - a) Pendarahan pada pasien malaria yang kronis harus dihindari karena bersifat hemolisis.
 - b) Pasien thalasemia yang menyebabkan anemia.

d. Patofisiologi Anemia

Aliviameita & Puspasari (2019) mengemukkan bahwa dalam keadaan normal, ginjal mengeluarkan 90% *hormone eritropoietin* yang merangsang pembentukan sel darah merah di sumsum tulang belakang dan 10% *hormone eritropoietin* yang akan dikeluarkan oleh hati. Pada pasien anemia, tekanan oksigen rendah sehingga ginjal merespon dengan

produksi *eritropoietin* dan mengakibatkan meningkatnya produksi eritrosit di sumsum tulang. Proses tersebut disebut *eritropoiesis*.

Akibat dari *eritropoiesis* adalah terjadi peningkatan dan pelepasan retikulosit ke darah tepi. Retikulosit bertahan di dalam darah selama 24 jam sebelum mengeluarkan sisa RNA dan menjadi eritrosit. Pada anemia berat, retikulosit dilepaskan lebih awal dari sumsum tulang, retikulosit imatur dapat berada di sirkulasi selama 2-3 hari menyebabkan peningkatan eritropoiesis (Deby, 2015).

e. Gejala Klinik Anemia

Gejala yang biasa terlihat pada pasien anemia antara lain lelah, letih, lesu, lemah, lalai sekaligus pusing dan sakit kepala, mudah mengantuk, mata berkunang-kunang, mudah lelah dan susah konsentrasi. Secara klinis, pasien anemia diidentifikasi dengan pucat pada wajah, bibir, kelopak mata, kuku, kulit dan telapak tangan (Kemenkes RI, 2018).

f. Pemeriksaan Laboratorium Penderita Anemia

Pemeriksaan laboratorium untuk diagnosis anemia dibagi menjadi beberapa tahap, meliputi:

- 1) Tes penyaring, tes ini meliputi pemeriksaan indeks eritrosit, kadar hemoglobin dan apusan darah tepi. Hasil pemeriksaan tersebut dapat ditentukan adanya anemia dan jenis anemia berdasarkan morfologi serta sangat bermanfaat untuk menentukan diagnosa lanjutan.
- 2) Pemeriksaan darah seri anemia yang terdiri dari hitung jumlah trombosit, leukosit, laju endap darah dan hitung jumlah retikulosit.

- 3) Pemeriksaan sumsum tulang, pemeriksaan ini dibutuhkan untuk mendiagnosa anemia *megaloblastic*, anemia *aplastic* dan kelainan hematologik.
- 4) Pemeriksaan khusus berdasarkan jenis anemia, Pemeriksaan ini dilakukan hanya pada kasus dengan indikasi yang khusus, misalnya:
 - a) Anemia defisiensi besi: serum, TIBC, reseptor transferrin, saturasi transferrin, protoporfirin eritrosit dan pengecatan besi pada sumsum tulang.
 - b) Anemia megalobastik: *supresi deoksiuridin test*, folat serum, *test schilling* dan vitamin B12 serum.
 - c) Anemia hemolitik: hemoglobin elektroforesis, *test comb* dan bilirubin serum.
 - d) Anemia Aplastik: biopsi sumsum tulang.

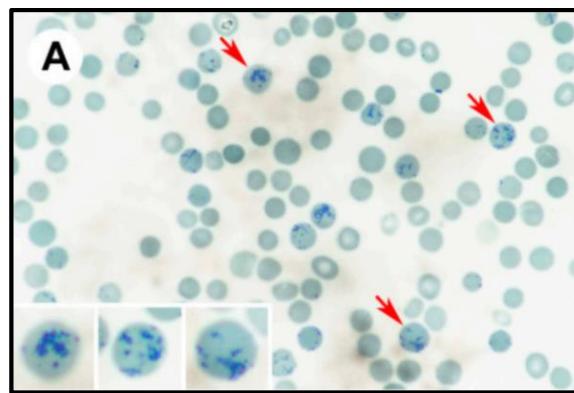
Jika dibutuhkan pemeriksaan non-hematologik tertentu seperti pemeriksaan faal ginjal, faal hati atau faal tiroid (Bakta, 2017).

2. Retikulosit

a. Pengertian Retikulosit

Retikulosit adalah sel darah merah muda yang tidak memiliki inti. Sel darah merah muda ini berasal dari proses pematangan *normoblast* di sumsum tulang (Emu, 2019). Retikulosit tetap berada di dalam darah selama 24 jam sebelum melepaskan *Ribunukleat Acid* (RNA) yang tersisa dan mengubahnya menjadi eritrosit. Persentasi retikulosit pada pasien

tanpa anemia biasanya 1-2%. Angka ini penting karena dapat diperlukan untuk indikator produktivitas dan aktivitas produksi dan pematangan sel darah merah (*eritropoiesis*) di sumsum tulang dan gunakan untuk mengklasifikasikan anemia sebagai *normoproliferatif*, *hiperproliferatif* atau *hipoproliferatif* (Idris, 2018).



Gambar 1. Retikulosit (Pan et al., 2022)

b. Pembentukan Retikulosit dalam Proses *Eritropoiesis*

Retikulosit terbentuk pada tahap kelima dalam *eritropoiesis*. Berdasarkan urutan maturasinya, terdapat 6 tahapan dalam proses *eritropoiesis* menurut Pertiwi (2020), yaitu:

- 1) Tahap maturasi sel darah merah yang paling muda disebut sebagai pronormoblas.
- 2) Pronormoblas yang mengalami maturasi akan menjadi normoblas basofilik.
- 3) Normoblas basofilik akan mengalami maturasi menjadi normoblas polikromatofilik.
- 4) Normoblas polikromatofilik yang mengalami maturasi akan menjadi normoblas ortokromik.

- 5) Normoblas ortokromik semakin matur dan disebut sebagai retikulosit.
- 6) Tahap terakhir dari *eritropoiesis* adalah eritrosit yang berasal dari retikulosit yang telah matur.

c. Kelainan Retikulosit

Kelainan retikulosit menurut Syahendra, (2020) terbagi menjadi 2, yaitu:

1) Retikulositosis

Retikulositosis adalah peningkatan jumlah retikulosit pada peredaran darah. Hal ini biasanya terjadi pada pasien anemia (sel sabit, hemolitik), pengobatan anemia (defisiensi Fe, vitamin B12, asam folat), perdarahan kronis, pasca perdarahan (3 sampai 4 hari), thalassemia mayor, leukemia dan kehamilan.

2) Retikulositopenia

Retikulositopenia adalah penurunan jumlah retikulosit pada peredaran darah yang mana hal tersebut disebabkan pasien mempunyai kelainan anemia (aplastik, pernisiosa, defisiensi asam folat), efek iradiasi sinar X, terapi radiasi, *hipofungsi adrenokortikal*, sirosis hati (alcohol menyupresi retikulosit).

d. Pemeriksaan Retikulosit

1) Metode Konvensional Sediaan Kering

Menurut Liswanti & Qurotul (2013), pemeriksaan retikulosit metode konvensional dengan sediaan kering dilakukan dengan melibatkan pencampuran darah dan pewarna dengan perbandingan 1:1 di dalam

tabung reaksi kecil. Setelah itu, diinkubasi 30 menit agar retikulosit dapat menyerap warna dan hasil pewarnaan menjadi maksimal. Setelah itu, ambil setetes campuran tersebut untuk membuat sediaan apus. Lalu diamati di bawah mikroskop menggunakan minyak imersi dengan perbesaran 100 kali.

Kelebihan dari metode kering adalah preparat sediaan dapat disimpan untuk jangka waktu yang lama sehingga pemeriksaan dapat dilakukan penundaan. Kelemahan dari metode kering adalah prosedur pembuatan preparat sediaan memakan waktu yang cukup lama (Liliyani, 2016).

2) Metode *Automatic Flowcytometry*

Analisis retikulosit dengan metode *flowcytometry* dilakukan dengan mencampur darah EDTA (*Ethylene Diamine Tetraacetic Acid*) dengan pewarna *fluoresens* yang diinkubasi beberapa detik dalam ruang gelap pada suhu ruang. Pewarna fluoresens masuk melewati membran sel, mewarnai DNA/RNA sel berinti dan RNA retikulosit sehingga memunculkan fluoresensi setelah penyinaran oleh sinar laser. Reagen yang digunakan untuk mewarnai retikulosit adalah *Fluorocell Ret* yang mengandung *polymethine dye* 0,03%, *methanol* 7,9% dan etilen glikol 92% (Siladjaja, 2014).

Kelebihan metode *automatic* adalah waktu pemeriksaan relatif singkat, sampel yang digunakan sedikit, didapatkan hasil lebih akurat karena sudah dilakukan *quality control*. Kelemahan dari metode

automatic adalah tidak dapat menghitung sel abnormal karena terkadang beberapa sel yang tidak terhitung tersebut memiliki bentuk sel yang tidak normal (Liliyani, 2016).

e. *Sysmex XN-1000*

Sysmex XN-1000 adalah alat *hematology analyzer* dengan prinsip *flowcytometry*. *Flowcytometry* merupakan metode untuk mengukur karakteristik sel (*cyto*) dan jumlah (*metry*) yang ditutupi oleh aliran (*flow*) melalui celah sempit yang dilalui sinar laser. Sumber sinar laser dengan panjang gelombang tunggal yang memancarkan ke arah fokus hidrodinamik aliran fluida (Rahma, 2018).

Pada titik arus melewati balok digunakan beberapa detektor. Salah satu detektor sejajar dengan pancaran sinar (*forward scatter* atau FSC) dan beberapa bersebrangan dengan aliran fluida (*side scatter* atau SSC) serta satu atau lebih yaitu detektor fluoresensi. Partikel yang tersuspensi berinteraksi dengan partikel memungkinkan tereksiasi untuk memancarkan cahaya dengan panjang gelombang lebih besar daripada sumber cahaya. Detektor menangkap kombinasi cahaya yang tersebar dan berfluoresensi, dan menganalisis perubahan intensitas cahaya dari masing-masing detektor. Prinsip *light scattering* yaitu sel arus melalui celah berkas cahaya yang difokuskan pada *sensing area*. Jika cahaya mengenai sel, maka sel akan diletakkan pada sudut tertentu. Setelah itu, sel-sel tersebut akan ditangkap dengan sinar (Azmi, 2016).



Gambar 2. Sysmex XN-1000 (Sysmex, 2021)

Parameter yang dapat diukur pada alat *Sysmex XN-1000* dalam parameter pemeriksaan hematologi klinik yaitu retikulosit, *fluorescent platelet* (PLTF), *body fluid* (BF), *hematocrit* (Hct), hemoglobin (Hb), *white blood cell* (WBC), *red blood cell* (RBC), 6 *diff count*, nilai absolut *white blood cell* (WBC), *mean corpuscular hemoglobin concentration* (MCHC), *mean corpuscular hemoglobin* (MCH), *mean corpuscular volume* (MCV), *red blood cell distribution width* (RDW), *platelet* (PLT), *platelet distribution width* (PDW), *mean platelet volume* (MPV), *procalcitonin* (PCT), *immature granulosit* (IG), *nucleated red blood cell* (NRBC). Alat ini menggunakan sampel *whole blood* dengan antikoagulan yang telah ditentukan (SOP RSUD Dr. Moewardi, 2021).

1) *Quality Control*

Untuk menjamin presisi dan akurasi hasil uji laboratorium, maka diperlukan *quality control*. *Quality control* (QC) adalah proses atau

langkah dalam suatu prosedur evaluasi proses pengujian untuk memastikan bahwa sistem mutu bekerja dengan baik. *Quality control* dilakukan untuk menjamin hasil uji laboratorium, mengidentifikasi dan meminimalisir kesalahan serta mengetahui penyebab kesalahan (Nirwani, 2018).

Terdapat dua jenis metode *quality control* yaitu metode QC dengan reagen kontrol dan metode QC dengan sampel normal. QC dengan reagen kontrol yang terdiri dari kontrol X-bar (menggunakan rata-rata dari dua kali berturut-turut hasil darah kontrol sebagai data kontrol) dan bagan L-J/Levy-Jenning (menggunakan hasil kontrol darah satu kali sebagai data kontrol). Sedangkan QC dengan sampel normal menggunakan kumpulan sampel pasien normal (biasanya 20 sampel) yang kemudian dirata-ratakan dan digunakan nilai hasilnya sebagai data kontrol. Reagen QC untuk pengujian retikulosit pada alat Sysmex XN-1000 QC adalah XN-check. Selain untuk pemeriksaan retikulosit, reagen XN-check juga digunakan untuk QC parameter CBC, NRBC, Diff dan PLT (Rahma, 2018).

2) Kalibrasi

Ada faktor yang dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan pada alat *hematology analyzer* yaitu kalibrasi alat. Kalibrasi alat dilakukan untuk mengetahui kontrol dalam batas range atau tidak, apabila kontrol diluar range maka perlu dilakukan kalibrasi ulang agar hasilnya akurat, dilakukan homogenisasi sampel agar sampel tercampur dengan baik

karena jika tidak dicampur dengan benar akan mempengaruhi sampel dan prosedur yang dilakukan kurang tepat (Hermawati, 2021).

f. Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Hitung Retikulosit

Ada beberapa faktor yang dapat mempengaruhi hitung jumlah retikulosit metode konvensional sediaan kering yaitu:

- 1) Tidak menyaring reagen pewarna sebelum digunakan, sehingga mengakibatkan pengendapan cat pada sel eritrosit dan membuat sel tersebut terlihat seperti retikulosit.
- 2) Sampel tidak dihomogenkan sebelum digunakan.
- 3) Menghitung di area yang padat atau eritrosit masih terlihat bergerombol.
- 4) Kenaikan kadar gula darah dapat mengurangi kualitas dari pewarnaan.
- 5) Terdapat inklusi sel darah merah seperti *basophilic stippling, howell jolly body*, benda *Heinz*, cincin cabot dan plasmodium yang dapat mempengaruhi pembacaan retikulosit (Riswanto, 2013).

Ada beberapa faktor yang dapat mempengaruhi hitung jumlah retikulosit metode *automatic flowcytometry* yaitu:

- 1) Volume sampel yang kurang sehingga sehingga tidak memenuhi kriteria jumlah volume darah yang dibutuhkan alat.
- 2) Sampel kurang homogen yang dapat mengakibatkan jumlah sel yang dihitung oleh alat tidak mencerminkan kondisi pasien yang sebenarnya.
- 3) Waktu pemeriksaan yang ditunda lama. Jika melakukan pemeriksaan melebihi batas yang ditetapkan, maka akan terjadi perubahan secara

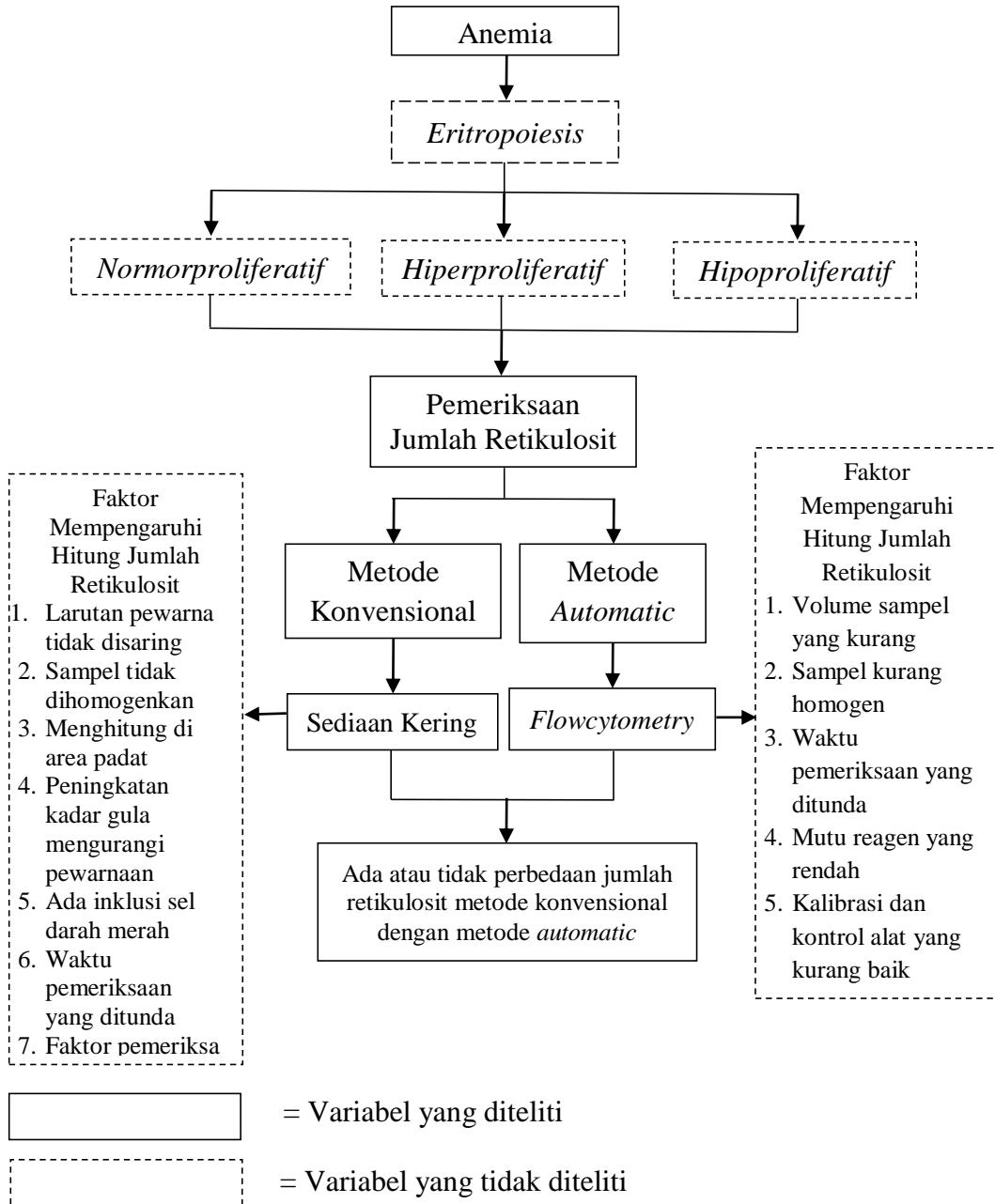
kualitas dan kuantitas pada beberapa sel-sel darah.

- 4) Mutu reagen yang rendah.
- 5) Kalibrasi dan kontrol alat kurang baik (Kesuma, 2020).

3. Hubungan Anemia dengan Retikulosit

Salah satu parameter yang digunakan untuk menilai anemia adalah hitung jumlah retikulosit. Terdapat beberapa jenis anemia yang mengakibatkan peningkatan jumlah retikulosit bahkan penurunan jumlah retikulosit. Anemia karena kehilangan darah akut atau anemia hemolitik termasuk ke jenis anemia *normositik hiperproliferatif* karena terjadi peningkatan jumlah retikulosit (>2%). Sedangkan anemia pada penyakit kronis dan anemia karena aplasia atau hipoplasia sumsum tulang termasuk ke jenis anemia *normositik hipoproliferatif* karena terjadi penurunan jumlah retikulosit (>2%) (Mutiawati, 2018).

B. Kerangka Pikir



C. Hipotesis

Tidak ada perbedaan jumlah retikulosit metode konvensional (kering) dengan metode *automatic* (*flowcytometry*) pada pasien anemia.