



# HEMATOLOGI 1

Atna Permana | Ariza Julia Paulina | Harliansyah | Muniroh | Yona Mimanda  
Fachriani Putri | Sabarina Elfrida Manik | Yulia Nadar Indrasari  
Esa Indah Ayudia | Zulfikar Husni Faruq | Pusparini | Budiono Raharjo | Ifora  
Ika Kurnia Febrianti | Yvonne Marthina | Ariguntar Wikanningtyas



EDITOR

Reni Yunus, S.Si., M.Sc., PhD  
dr. Zida Maulina Aini, M. Ked. Trop, Sp. Rad

# HEMATOLOGI 1

Buku Hematologi 1 yang berada di tangan pembaca ini terdiri dari 16 bab:

- Bab 1 Komponen Darah dan Signifikansi Fisiologisnya
- Bab 2 Morfologi dan Karakteristik Fisiologis Eritrosit
- Bab 3 Struktur Molekular dan Fungsi Hemoglobin
- Bab 4 Metabolisme Besi dan Regulasi Homeostasis Eritropoiesis
- Bab 5 Parameter Hematologi dan Indeks Eritrosit Berbasis Otomasi
- Bab 6 Retikulosit sebagai Indikator Aktivitas Eritropoiesis
- Bab 7 Morfologi dan Diferensiasi Leukosit
- Bab 8 Limfopoiesis dan Diferensiasi Subpopulasi Limfosit
- Bab 9 Morfologi Trombosit dan Mekanisme Trombopoiesis
- Bab 10 Teknik Pembuatan dan Pewarnaan Sediaan Apus Darah
- Bab 11 Evaluasi Morfologi Sel Darah pada Sediaan Apus Darah
- Bab 12 Anemia: Klasifikasi Morfologis dan Pendekatan Diagnostik Laboratorium
- Bab 13 Leukositosis dan Leukopenia: Pendekatan Interpretatif Awal
- Bab 14 Trombositopenia dan Trombositosis: Mekanisme dan Implikasi Klinis
- Bab 15 Gangguan Hemostasis Primer dan Evaluasi Laboratorium Awal
- Bab 16 Faktor Pre-Analitik dan Sumber Variabilitas Pemeriksaan Hematologi



**eureka**  
media aksara  
Anggota IKAPI  
No. 225/JTE/2021

0858 5343 1992  
eurekamediaaksara@gmail.com  
Jl. Banjaran RT.20 RW.10  
Bojongsari - Purbalingga 53362

ISBN 978-634-315-316-0



9

786343

153160

# HEMATOLOGI 1

## Penulis:

**Atna Permana, AMAK, SKM, M.Biomed, Ph.D**  
**dr. Ariza Julia Paulina, M.Biomed**  
**Assoc. Prof. Harliansyah, Ph.D. Med.Biochem**  
**dr. Muniroh, Sp.PK**  
**dr. Yona Mimanda, Sp.PK, MARS**  
**Dr. dr. Fachriani Putri., MKM**  
**Dr. Sabarina Elfrida Manik, A.MAK., SKM., M.Pd**  
**dr. Yulia Nadar Indrasari, SpPK, Subsp. H.K.(K)**  
**dr. Esa Indah Ayudia, M.Biomed**  
**Zulfikar Husni Faruq, M.Si**  
**Prof. Dr. dr. Pusparini, Sp.PK, Subsp. K.V.(K)**  
**dr. Budiono Raharjo, Sp.PK, Subsp H.K(K)**  
**Dr. apt. Ifora, M.Farm**  
**Dr. dr. Ika Kurnia Febrianti, SpPD**  
**Dr. Yvonne Marthina, SpA**  
**Dr. dr. Tri Ariguntar Wikanningtyas, Sp.PK**

## Editor:

**Reni Yunus, S.Si., M.Sc., PhD**  
**dr. Zida Maulina Aini, M. Ked. Trop, Sp. Rad**



**PENERBIT CV.EUREKA MEDIA AKSARA**

## HEMATOLOGI 1

- Penulis** : Atna Permana, AMAK, SKM, M.Biomed, Ph.D  
dr. Ariza Julia Paulina, M.Biomed  
Assoc. Prof. Harliansyah, Ph.D. Med.Biochem  
dr. Muniroh, Sp.PK  
dr. Yona Mimanda, Sp.PK, MARS  
Dr. dr. Fachriani Putri., MKM  
Dr. Sabarina Elfrida Manik, A.MAK., SKM., M.Pd  
dr. Yulia Nadar Indrasari, SpPK, Subsp. H.K.(K)  
dr. Esa Indah Ayudia, M.Biomed  
Zulfikar Husni Faruq, M.Si  
Prof. Dr. dr. Pusparini, Sp.PK, Subsp. K.V.(K)  
dr. Budiono Raharjo, Sp.PK, Subsp H.K(K)  
Dr. apt. Ifora, M.Farm  
Dr. dr. Ika Kurnia Febrianti, SpPD  
Dr. Yvonne Marthina, SpA  
Dr. dr. Tri Ariguntar Wikanningtyas, Sp.PK
- Editor** : Reni Yunus, S.Si., M.Sc., PhD  
dr. Zida Maulina Aini, M. Ked. Trop, Sp. Rad
- Desain Sampul** : Firman Isma'il
- Tata Letak** : Meuthia Rahmi Ramadani
- ISBN** : 978-634-315-316-0
- Diterbitkan oleh : **EUREKA MEDIA AKSARA, JULI 2026**  
**ANGGOTA IKAPI JAWA TENGAH**  
**NO. 225/JTE/2021**

### **Redaksi:**

Jalan Banjaran, Desa Banjaran RT 20 RW 10 Kecamatan Bojongsari  
Kabupaten Purbalingga Telp. 0858-5343-1992  
Surel : eurekamediaaksara@gmail.com  
Cetakan Pertama : 2026

### **All rights reserved**

Hak Cipta dilindungi undang-undang

Dilarang memperbanyak atau memindahkan sebagian atau seluruh isi buku ini dalam bentuk apapun dan dengan cara apapun, termasuk memfotokopi, merekam, atau dengan teknik perekaman lainnya tanpa seizin tertulis dari penerbit.

## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, karena atas berkat dan rahmat-Nya, penulis dapat menyelesaikan buku ini. Penulisan buku merupakan buah karya dari pemikiran penulis yang diberi judul "Hematologi 1". Penulis menyadari bahwa tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak sangatlah sulit bagi penulis untuk menyelesaikan buku ini. Oleh karena itu, penulis mengucapkan banyak terima kasih pada semua pihak yang telah membantu penyusunan buku ini. Sehingga buku ini bisa hadir di hadapan pembaca.

Buku Hematologi 1 yang berada di tangan pembaca ini terdiri dari 16 bab:

- Bab 1    Komponen Darah dan Signifikansi Fisiologisnya
- Bab 2    Morfologi dan Karakteristik Fisiologis Eritrosit
- Bab 3    Struktur Molekular dan Fungsi Hemoglobin
- Bab 4    Metabolisme Besi dan Regulasi Homeostasis Eritropoiesis
- Bab 5    Parameter Hematologi dan Indeks Eritrosit Berbasis Otomasi
- Bab 6    Retikulosit sebagai Indikator Aktivitas Eritropoiesis
- Bab 7    Morfologi dan Diferensiasi Leukosit
- Bab 8    Limfopoiesis dan Diferensiasi Subpopulasi Limfosit
- Bab 9    Morfologi Trombosit dan Mekanisme Trombopoiesis
- Bab 10   Teknik Pembuatan dan Pewarnaan Sediaan Apus Darah
- Bab 11   Evaluasi Morfologi Sel Darah pada Sediaan Apus Darah
- Bab 12   Anemia: Klasifikasi Morfologis dan Pendekatan Diagnostik Laboratorium
- Bab 13   Leukositosis dan Leukopenia: Pendekatan Interpretatif Awal
- Bab 14   Trombositopenia dan Trombositosis: Mekanisme dan Implikasi Klinis
- Bab 15   Gangguan Hemostasis Primer dan Evaluasi Laboratorium Awal
- Bab 16   Faktor Pre-Analitik dan Sumber Variabilitas Pemeriksaan Hematologi

Akhir kata penulis berharap Tuhan Yang Maha Esa berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga buku ini akan membawa manfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan.

## DAFTAR ISI

|                                                                  |            |
|------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>KATA PENGANTAR .....</b>                                      | <b>iii</b> |
| <b>DAFTAR ISI.....</b>                                           | <b>v</b>   |
| <b>BAB 1 KOMPONEN DARAH DAN SIGNIFIKANSI FISIOLGISNYA</b>        |            |
| <b>Oleh : Atna Permana, AMAK, SKM, M.Biomed, Ph.D .....</b>      | <b>1</b>   |
| A. Pendahuluan .....                                             | 1          |
| B. Plasma sebagai Matriks Cair Darah .....                       | 2          |
| C. Eritrosit dan Signifikansi Fisiologis Transport Oksigen ..... | 4          |
| D. Leukosit sebagai Komponen Pertahanan Tubuh .....              | 6          |
| E. Trombosit dan Hemostasis.....                                 | 8          |
| F. Hematopoiesis sebagai Sumber Pembaruan Komponen Darah .....   | 10         |
| G. Integrasi Fisiologis Komponen Darah .....                     | 11         |
| H. Penutup .....                                                 | 12         |
| DAFTAR PUSTAKA .....                                             | 14         |
| <b>BAB 2 MORFOLOGI DAN KARAKTERISTIK FISIOLGIS ERITROSIT</b>     |            |
| <b>Oleh : dr. Ariza Julia Paulina, M.Biomed .....</b>            | <b>15</b>  |
| A. Pendahuluan .....                                             | 15         |
| B. Morfologi Eritrosit .....                                     | 16         |
| C. Karakteristik Fisiologis Eritrosit .....                      | 23         |
| DAFTAR PUSTAKA .....                                             | 27         |
| <b>BAB 3 STRUKTUR MOLEKULAR DAN FUNGSI HEMOGLOBIN</b>            |            |
| <b>Oleh : Assoc. Prof. Harliansyah, Ph.D. Med.Biochem .....</b>  | <b>30</b>  |
| A. Struktur Hemoglobin .....                                     | 30         |
| B. Fungsi Hemoglobin.....                                        | 31         |
| C. Metabolisme Hemoglobin .....                                  | 35         |
| D. Parameter Oksigen Darah .....                                 | 37         |
| DAFTAR PUSTAKA .....                                             | 40         |

|              |                                                                        |            |
|--------------|------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>BAB 4</b> | <b>METABOLISME BESI DAN REGULASI HOMEOSTASIS ERITROPOIESIS</b>         |            |
|              | <b>Oleh : dr. Muniroh, Sp.PK.....</b>                                  | <b>41</b>  |
|              | A. Pendahuluan .....                                                   | 41         |
|              | B. Fisiologi Dasar Besi .....                                          | 42         |
|              | C. Metabolisme Besi.....                                               | 46         |
|              | D. Regulasi Besi dalam Sintesis Hemoglobin .....                       | 50         |
|              | E. Regulasi Besi dan Hepcidin .....                                    | 51         |
|              | F. Eritropoiesis .....                                                 | 54         |
|              | DAFTAR PUSTAKA.....                                                    | 56         |
| <b>BAB 5</b> | <b>PARAMETER HEMATOLOGI DAN INDEKS ERITROSIT BERBASIS OTOMASI</b>      |            |
|              | <b>Oleh : dr. Yona Mimanda, Sp.PK, MARS.....</b>                       | <b>57</b>  |
|              | A. Pendahuluan .....                                                   | 57         |
|              | B. Eritrosit .....                                                     | 59         |
|              | C. Metode Manual sebagai Pemeriksaan<br>Pembanding .....               | 61         |
|              | D. Prinsip Alat Hematologi Otomatis .....                              | 65         |
|              | E. Karakteristik Platform Alat Hematologi Utama .....                  | 68         |
|              | F. Parameter Eritrosit .....                                           | 71         |
|              | G. Pemantapan Mutu, Kalibrasi, dan Standardisasi .....                 | 80         |
|              | H. Keterbatasan dan Interferensi.....                                  | 83         |
|              | DAFTAR PUSTAKA.....                                                    | 86         |
| <b>BAB 6</b> | <b>RETIKULOSIT SEBAGAI INDIKATOR AKTIVITAS ERITROPOIESIS</b>           |            |
|              | <b>Oleh : Dr. dr. Fachriani Putri., MKM .....</b>                      | <b>91</b>  |
|              | A. Pendahuluan .....                                                   | 91         |
|              | B. Hematopoiesis dan Eritropoiesis .....                               | 93         |
|              | C. Biologi Retikulosit .....                                           | 98         |
|              | D. Pemeriksaan Retikulosit .....                                       | 101        |
|              | DAFTAR PUSTAKA.....                                                    | 108        |
| <b>BAB 7</b> | <b>MORFOLOGI DAN DIFERENSIASI LEUKOSIT</b>                             |            |
|              | <b>Oleh : Dr. Sabarina Elfrida Manik, A.MAK., SKM.,<br/>M.Pd .....</b> | <b>110</b> |
|              | A. Pengertian Hitung Jenis Sel .....                                   | 110        |
|              | B. Jenis-Jenis Sel Darah dan Morfologinya.....                         | 111        |

|                                                                                                                                                      |            |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| C. Pemeriksaan Hitung Jenis Leukosit<br>( <i>Differential Count</i> ).....                                                                           | 116        |
| D. Menghitung Jumlah Jenis Leukosit<br>( <i>Differential Count</i> ).....                                                                            | 117        |
| E. Nilai Normal Leukosit pada Pemeriksaan Hitung<br>Jenis Sel .....                                                                                  | 117        |
| F. Faktor yang Mempengaruhi Hasil Hitung Jenis<br>Leukosit.....                                                                                      | 118        |
| G. Kelainan Jumlah Leukosit dan Hubungannya<br>dengan Penyakit .....                                                                                 | 118        |
| H. Pentingnya Pemeriksaan Hitung Jenis Leukosit<br>dalam Diagnosis Penyakit .....                                                                    | 119        |
| I. Kelebihan dan Kekurangan Pemeriksaan<br><i>Differential Count</i> .....                                                                           | 120        |
| DAFTAR PUSTAKA .....                                                                                                                                 | 121        |
| <b>BAB 8 LIMFOPOIESIS DAN DIFERENSIASI<br/>SUBPOPULASI LIMFOSIT</b><br><b>Oleh : dr. Yulia Nadar Indrasari, SpPK,</b><br><b>Subsp. H.K.(K) .....</b> | <b>122</b> |
| A. Pendahuluan .....                                                                                                                                 | 122        |
| B. Ontogeni Hematopoietik: Limfoid .....                                                                                                             | 123        |
| C. Mekanisme Regulasi Awal Limfopoiesis .....                                                                                                        | 128        |
| D. Diferensiasi Limfosit T dan Limfosit B<br>dari Sel Punca Hematopoietik ( <i>Hematopoietic<br/>Stem Cell</i> ) .....                               | 130        |
| DAFTAR PUSTAKA .....                                                                                                                                 | 135        |
| <b>BAB 9 MORFOLOGI TROMBOSIT<br/>DAN MEKANISME TROMBOPOIESIS</b><br><b>Oleh : dr. Esa Indah Ayudia, M.Biomed .....</b>                               | <b>139</b> |
| A. Pendahuluan .....                                                                                                                                 | 139        |
| B. Morfologi dan Ultrastruktur Trombosit .....                                                                                                       | 140        |
| C. Megakaryopoiesis: Diferensiasi Sel Induk<br>Menjadi Megakariosit .....                                                                            | 143        |
| D. Mekanisme Trombopoiesis: Pelepasan<br>Trombosit dari Megakariosit.....                                                                            | 145        |
| E. Regulasi Trombopoiesis.....                                                                                                                       | 147        |
| F. Relevansi Klinis.....                                                                                                                             | 150        |

|               |                                                                                      |            |
|---------------|--------------------------------------------------------------------------------------|------------|
|               | G. Rangkuman .....                                                                   | 151        |
|               | DAFTAR PUSTAKA .....                                                                 | 153        |
| <b>BAB 10</b> | <b>TEKNIK PEMBUATAN DAN PEWARNAAN<br/>SEDIAAN APUS DARAH</b>                         |            |
|               | <b>Oleh : Zulfikar Husni Faruq, M.Si .....</b>                                       | <b>156</b> |
|               | A. Pendahuluan .....                                                                 | 156        |
|               | B. Sumber Spesimen .....                                                             | 157        |
|               | C. Pembuatan Sediaan Apusan Darah .....                                              | 158        |
|               | D. Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Teknik<br>Pembuatan Slide .....                   | 161        |
|               | E. Pewarnaan Sediaan Apusan Darah .....                                              | 162        |
|               | F. Pengujian Apusan Darah .....                                                      | 166        |
|               | DAFTAR PUSTAKA .....                                                                 | 176        |
| <b>BAB 11</b> | <b>EVALUASI MORFOLOGI SEL DARAH<br/>PADA SEDIAAN APUS DARAH</b>                      |            |
|               | <b>Oleh : Prof. Dr. dr. Pusparini, Sp.PK,<br/>Subsp. K.V.(K) .....</b>               | <b>178</b> |
|               | A. Pendahuluan .....                                                                 | 178        |
|               | B. Indikasi Pemeriksaan Sediaan Apus Darah .....                                     | 179        |
|               | C. Tahapan Pemeriksaan Sediaan Apus Darah .....                                      | 181        |
|               | D. Pelaporan Evaluasi Sediaan Apus Darah .....                                       | 191        |
|               | DAFTAR PUSTAKA .....                                                                 | 193        |
| <b>BAB 12</b> | <b>ANEMIA: KLASIFIKASI MORFOLOGIS<br/>DAN PENDEKATAN DIAGNOSTIK<br/>LABORATORIUM</b> |            |
|               | <b>Oleh : dr. Budiono Raharjo, Sp.PK, Subsp H.K(K) ....</b>                          | <b>194</b> |
|               | A. Pendahuluan .....                                                                 | 194        |
|               | B. Eritrosit, Indeks Eritrosit dan Retikulosit .....                                 | 199        |
|               | DAFTAR PUSTAKA .....                                                                 | 216        |
| <b>BAB 13</b> | <b>LEUKOSITOSIS DAN LEUKOPENIA:<br/>PENDEKATAN INTERPRETATIF AWAL</b>                |            |
|               | <b>Oleh : Dr. apt. Ifora, M.Farm .....</b>                                           | <b>217</b> |
|               | A. Pendahuluan .....                                                                 | 217        |
|               | B. Definisi dan Klasifikasi Leukositosis<br>dan Leukopenia .....                     | 218        |
|               | C. Fisiologi Leukosit dan Regulasi Hematopoiesis .....                               | 219        |
|               | D. Pendekatan Awal Interpretasi Hitung Leukosit .....                                | 223        |

|               |                                                                               |            |
|---------------|-------------------------------------------------------------------------------|------------|
|               | E. Leukositosis: Pendekatan Klinis Awal .....                                 | 224        |
|               | F. Leukopenia: Pendekatan Klinis Awal .....                                   | 228        |
|               | G. Faktor yang Mempengaruhi Hasil Hitung<br>Leukosit.....                     | 232        |
|               | H. Implikasi Klinis Awal dan Keterbatasan<br>Interpretasi .....               | 233        |
|               | DAFTAR PUSTAKA .....                                                          | 235        |
| <b>BAB 14</b> | <b>TROMBOSITOPENIA DAN TROMBOSITOSIS:<br/>MEKANISME DAN IMPLIKASI KLINIS</b>  |            |
|               | <b>Oleh : Dr. dr. Ika Kurnia Febrianti, SpPD .....</b>                        | <b>239</b> |
|               | A. Pendahuluan .....                                                          | 239        |
|               | B. Fisiologi Trombosit.....                                                   | 240        |
|               | C. Trombositosis .....                                                        | 242        |
|               | D. Trombositopenia.....                                                       | 250        |
|               | DAFTAR PUSTAKA .....                                                          | 256        |
| <b>BAB 15</b> | <b>GANGGUAN HEMOSTASIS PRIMER DAN<br/>EVALUASI LABORATORIUM AWAL</b>          |            |
|               | <b>Oleh : Dr. Yvonne Marthina, SpA.....</b>                                   | <b>258</b> |
|               | A. Pendahuluan .....                                                          | 258        |
|               | B. Patofisiologi Sistem Hemostasis .....                                      | 259        |
|               | C. Klasifikasi Gangguan Hemostasis Primer .....                               | 264        |
|               | D. Pendekatan Klinis .....                                                    | 269        |
|               | E. Evaluasi Laboratorium Awal ( <i>Screening</i> ) .....                      | 270        |
|               | F. Evaluasi Laboratorium Tahap Lanjut<br>( <i>Confirmatory</i> ) .....        | 272        |
|               | G. Algoritma Diagnosis .....                                                  | 276        |
|               | H. <i>Pitfalls</i> dan Keterbatasan Pemeriksaan .....                         | 278        |
|               | I. Kesimpulan.....                                                            | 280        |
|               | DAFTAR PUSTAKA .....                                                          | 281        |
| <b>BAB 16</b> | <b>FAKTOR PRE-ANALITIK DAN SUMBER<br/>VARIABILITAS PEMERIKSAAN HEMATOLOGI</b> |            |
|               | <b>Oleh : Dr. dr. Tri Ariguntar Wikanningtyas, Sp.PK ...</b>                  | <b>282</b> |
|               | A. Pendahuluan .....                                                          | 282        |
|               | B. Variabilitas Pemeriksaan Hematologi .....                                  | 283        |
|               | C. Faktor Pre-Analitik Pemeriksaan Hematologi .....                           | 283        |
|               | D. Variabilitas Biologi .....                                                 | 288        |
|               | E. Variabilitas Analitik .....                                                | 289        |

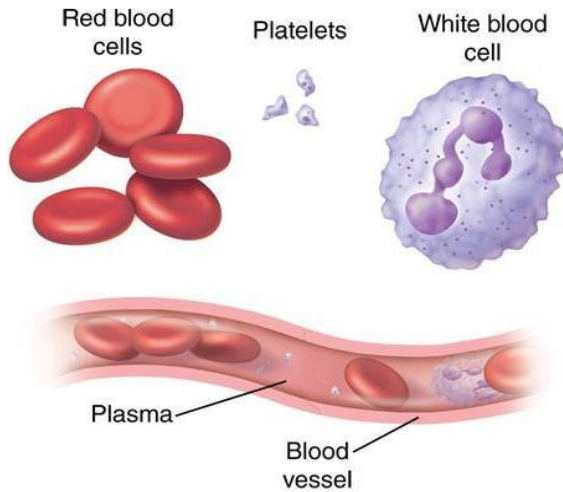
|                             |            |
|-----------------------------|------------|
| F. Kesimpulan .....         | 290        |
| DAFTAR PUSTAKA.....         | 291        |
| <b>TENTANG PENULIS.....</b> | <b>293</b> |

# BAB 1 | KOMPONEN DARAH DAN SIGNIFIKANSI FISIOLOGISNYA

Atna Permana, AMAK, SKM, M.Biomed, Ph.D

## A. Pendahuluan

Darah merupakan jaringan ikat cair yang memiliki peran sentral dalam mempertahankan kehidupan manusia karena menghubungkan hampir seluruh sistem organ melalui sirkulasi. Berbeda dari jaringan ikat padat, darah memiliki matriks ekstraseluler berbentuk cair yang disebut plasma, sedangkan unsur selulernya dikenal sebagai *formed elements*, yaitu eritrosit, leukosit, dan trombosit. Kombinasi antara plasma dan unsur seluler tersebut memungkinkan darah menjalankan fungsi transportasi gas respirasi, distribusi nutrien, pembuangan produk metabolik, regulasi suhu, keseimbangan asam-basa, pertahanan imun, serta hemostasis. Secara umum, darah terdiri atas plasma sekitar 55% dan unsur seluler sekitar 45%, dengan eritrosit sebagai komponen seluler terbanyak, sedangkan leukosit dan trombosit membentuk lapisan tipis yang dikenal sebagai *buffy coat* (A. Victor Hoffbrand, 2011).



**Gambar 1.1** Komposisi Darah dalam Pembuluh Darah.

Gambar ini dapat menampilkan plasma sebagai medium cair, eritrosit sebagai sel dominan pembawa hemoglobin, leukosit sebagai komponen pertahanan tubuh, dan trombosit sebagai fragmen sel yang berperan dalam hemostasis (J. Tortora, gerard., Derrickson, 2013).

Pemahaman tentang komponen darah tidak hanya penting untuk menjelaskan fisiologi normal, tetapi juga menjadi dasar interpretasi pemeriksaan laboratorium. Perubahan jumlah, morfologi, atau fungsi komponen darah dapat mencerminkan gangguan nutrisi, infeksi, inflamasi, perdarahan, penyakit autoimun, keganasan hematologi, gangguan koagulasi, maupun penyakit sistemik. Oleh karena itu, bab ini membahas darah sebagai sistem biologis terpadu, bukan sekadar kumpulan sel dan cairan, melainkan sebagai jaringan dinamis yang berperan dalam homeostasis tubuh (A. Victor Hoffbrand, 2011).

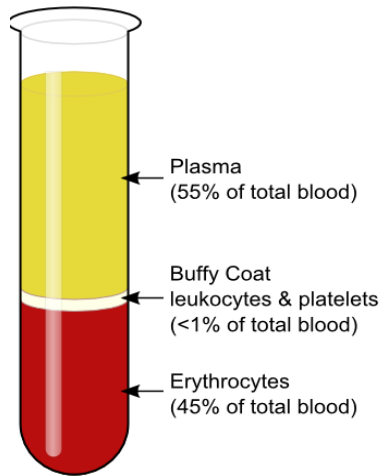
## **B. Plasma sebagai Matriks Cair Darah**

Plasma adalah komponen cair darah yang menjadi medium tempat eritrosit, leukosit, trombosit, protein, elektrolit, hormon, nutrien, produk metabolik, dan faktor pembekuan terlarut. Plasma tampak berwarna kuning pucat karena

mengandung protein, pigmen, dan molekul terlarut lain dalam konsentrasi fisiologis. Secara komposisional, plasma mengandung sekitar 91–92% air dan 8–9% zat padat, termasuk albumin, globulin, fibrinogen, elektrolit, glukosa, lipid, asam amino, hormon, enzim, vitamin, serta produk limbah metabolik. Serum berbeda dari plasma karena serum merupakan cairan darah setelah proses koagulasi, sehingga tidak mengandung fibrinogen dalam jumlah bermakna (FORD, 2013).

Signifikansi fisiologis plasma terletak pada kemampuannya mempertahankan volume intravaskular, tekanan osmotik koloid, distribusi zat terlarut, dan keseimbangan elektrolit. Albumin merupakan protein plasma paling banyak dan berperan besar dalam mempertahankan tekanan onkotik plasma, sehingga membantu menjaga cairan tetap berada di dalam ruang intravaskular. Selain itu, albumin mengikat dan mengangkut berbagai molekul, termasuk asam lemak, bilirubin, hormon, dan obat-obatan. Penurunan albumin dapat menyebabkan pergeseran cairan ke jaringan interstisial, yang secara klinis tampak sebagai edema, asites, atau efusi, terutama pada penyakit hati, penyakit ginjal, inflamasi kronik, dan malnutrisi (A. Victor Hoffbrand, 2011).

Globulin plasma mencakup berbagai protein dengan fungsi transportasi, imunologis, dan inflamatorik. Immunoglobulin, yang termasuk fraksi gamma globulin, berperan dalam pengenalan antigen, netralisasi patogen, aktivasi komplemen, dan pembentukan memori imunologis. Sementara itu, fibrinogen merupakan protein plasma penting dalam hemostasis karena diubah menjadi fibrin oleh trombin pada tahap akhir koagulasi. Fibrin membentuk jaringan stabil yang memperkuat sumbat trombosit pada lokasi cedera vaskular. Dengan demikian, plasma tidak hanya berfungsi sebagai pelarut biologis, tetapi juga sebagai medium imunologis dan hemostatik yang aktif (A. Victor Hoffbrand, 2011).



**Gambar 1.2** Pemisahan Darah Setelah Sentrifugasi.

Gambar menunjukkan lapisan plasma di bagian atas, *buffy coat* di tengah yang terdiri atas leukosit dan trombosit, serta eritrosit di bagian bawah. Ilustrasi seperti ini membantu pembaca memahami hubungan antara volume plasma, hematokrit, dan komponen seluler darah.

### C. Eritrosit dan Signifikansi Fisiologis Transport Oksigen

Eritrosit atau sel darah merah merupakan unsur seluler terbanyak dalam darah dan memiliki fungsi utama mengangkut oksigen dari paru-paru ke jaringan serta membantu pengangkutan karbon dioksida dari jaringan kembali ke paru-paru. Keunikan eritrosit manusia terletak pada bentuk bikonkaf, ketiadaan inti, elastisitas membran, serta kandungan hemoglobin yang tinggi. Bentuk bikonkaf meningkatkan rasio luas permukaan terhadap volume, memperpendek jarak difusi gas, dan memungkinkan eritrosit berubah bentuk saat melewati kapiler sempit. Bentuk bikonkaf eritrosit mengoptimalkan pertukaran gas dan memungkinkan sel melipat saat melalui pembuluh darah kecil (A. Victor Hoffbrand, 2011). Hemoglobin merupakan protein utama eritrosit yang mengandung gugus heme dengan atom besi ferrous, sehingga mampu mengikat oksigen secara reversibel. Di paru-paru, tekanan parsial oksigen

yang tinggi mendorong hemoglobin mengikat oksigen. Di jaringan, kondisi tekanan oksigen lebih rendah, peningkatan karbon dioksida, peningkatan ion hidrogen, dan perubahan suhu memfasilitasi pelepasan oksigen. Mekanisme ini dikenal sebagai regulasi alosterik hemoglobin dan menjadi dasar kurva disosiasi oksigen-hemoglobin

Dengan cara ini, eritrosit tidak hanya membawa oksigen secara pasif, tetapi menyesuaikan pelepasan oksigen sesuai kebutuhan metabolik jaringan (A. Victor Hoffbrand, 2011).

Selain mengangkut oksigen, eritrosit berperan dalam transportasi karbon dioksida dan keseimbangan asam-basa. Sebagian karbon dioksida diangkut dalam bentuk bikarbonat setelah dikatalisis oleh enzim karbonat anhidrase di dalam eritrosit. Sebagian lain berikatan dengan hemoglobin membentuk karbaminohemoglobin. Hemoglobin juga berperan sebagai buffer karena mampu mengikat ion hidrogen, sehingga membantu mempertahankan pH darah dalam rentang fisiologis. Fungsi ini menunjukkan bahwa eritrosit merupakan komponen penting dalam integrasi sistem respirasi, sirkulasi, dan metabolisme jaringan.

Eritropoiesis, yaitu pembentukan eritrosit, terutama berlangsung di sumsum tulang merah. Pada keadaan hipoksia, ginjal meningkatkan produksi eritropoietin yang merangsang proliferasi dan diferensiasi prekursor eritroid. Jalur *hypoxia-inducible factor* atau hif merupakan mekanisme molekuler utama yang menghubungkan penurunan oksigen jaringan dengan peningkatan sintesis eritropoietin. Gangguan pada mekanisme ini dapat menyebabkan anemia, polisitemia, atau respons eritropoietik yang tidak adekuat pada penyakit ginjal kronik (A. Victor Hoffbrand, 2011).



**Gambar 1.3** Morfologi Eritrosit Bikonkaf dan Hubungannya dengan Transport Oksigen

Gambar menampilkan eritrosit berbentuk cakram bikonkaf, hemoglobin di dalam sitoplasma, dan arah difusi oksigen serta karbon dioksida (Ackfeld et al., 2022).

#### **D. Leukosit sebagai Komponen Pertahanan Tubuh**

Leukosit atau sel darah putih merupakan komponen darah yang berperan dalam pertahanan tubuh terhadap mikroorganisme, benda asing, sel abnormal, dan jaringan rusak. Berbeda dari eritrosit, leukosit memiliki inti dan organel seluler, sehingga mampu melakukan sintesis protein, migrasi aktif, fagositosis, presentasi antigen, produksi sitokin, serta respons imun spesifik. Leukosit tidak hanya berada di dalam darah, tetapi juga berpindah ke jaringan melalui proses diapedesis ketika terjadi infeksi, cedera, atau inflamasi (Unnithan et al., 2023; WHO, 2011)

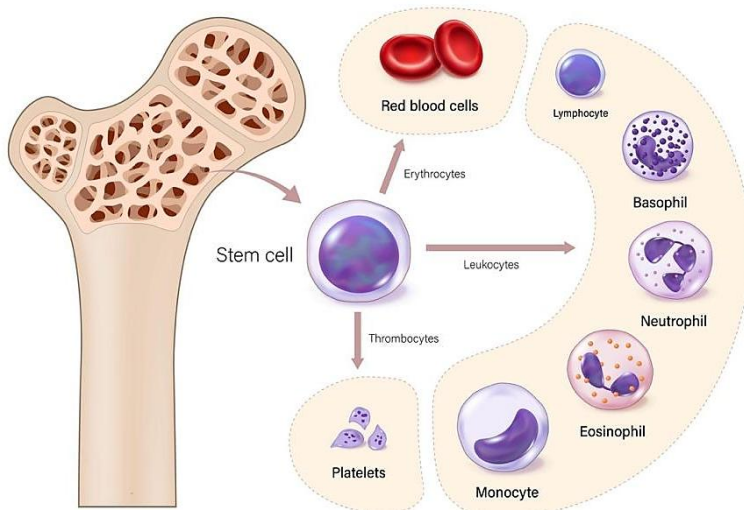
Secara fisiologis, leukosit dapat dipahami sebagai penghubung antara imunitas bawaan dan imunitas adaptif. Neutrofil merupakan leukosit paling dominan dalam darah perifer orang dewasa dan menjadi garis pertahanan awal terhadap infeksi bakteri. Neutrofil bermigrasi cepat ke lokasi inflamasi, mengenali patogen melalui reseptor imun bawaan, melakukan fagositosis, melepaskan enzim granula, menghasilkan spesies oksigen reaktif, serta dapat membentuk *neutrophil extracellular traps* untuk menjebak mikroorganisme. Perubahan jumlah neutrofil sering menjadi indikator penting

pada infeksi akut, inflamasi berat, stres fisiologis, dan gangguan sumsum tulang (A. Victor Hoffbrand, 2011).

Monosit beredar dalam darah sebelum bermigrasi ke jaringan dan berdiferensiasi menjadi makrofag atau sel dendritik. Makrofag berperan dalam fagositosis, pembersihan debris, perbaikan jaringan, produksi sitokin, serta koordinasi respons inflamasi. Sel dendritik memiliki fungsi penting sebagai sel penyaji antigen yang menghubungkan imunitas bawaan dengan aktivasi limfosit t. Dengan demikian, monosit dan turunannya berperan tidak hanya sebagai sel pembersih, tetapi juga sebagai pengatur komunikasi imunologis antara jaringan perifer dan sistem limfoid.

Limfosit mencakup sel b, sel t, dan sel natural killer. Sel b berperan dalam imunitas humoral melalui produksi antibodi setelah berdiferensiasi menjadi sel plasma. Sel t berperan dalam imunitas seluler, baik melalui bantuan terhadap sel imun lain, regulasi respons imun, maupun penghancuran sel yang terinfeksi virus atau sel abnormal. Sel natural killer merupakan bagian dari imunitas bawaan yang mampu membunuh sel terinfeksi virus dan sel tumor tanpa memerlukan pengenalan antigen spesifik seperti pada sel t. Keseimbangan antara fungsi limfosit b, t, dan nk menentukan efektivitas respons imun terhadap infeksi, vaksinasi, keganasan, dan penyakit autoimun.

Eosinofil, basofil, dan mast cell memiliki peran penting dalam respons alergi, pertahanan terhadap parasit, serta inflamasi tipe 2. Eosinofil mengandung granula sitotoksik yang efektif terhadap parasit multiseluler, tetapi aktivasi berlebihan dapat menyebabkan kerusakan jaringan pada asma, rinitis alergi, dermatitis atopik, dan gangguan eosinofilik gastrointestinal. Basofil dan mast cell menghasilkan mediator seperti histamin, leukotrien, dan sitokin yang memicu vasodilatasi, peningkatan permeabilitas vaskular, bronkokonstriksi, dan rekrutmen sel inflamasi lain (A. Victor Hoffbrand, 2011).



**Gambar 1.4** Jenis-Jenis Leukosit dalam Apusan Darah Perifer

Gambar menunjukkan neutrofil dengan inti bersegmen, eosinofil dengan granula merah-jingga, basofil dengan granula gelap, monosit dengan inti menyerupai ginjal, dan limfosit dengan inti bulat padat.

#### E. Trombosit dan Hemostasis

Trombosit merupakan fragmen sitoplasma kecil yang berasal dari megakariosit di sumsum tulang. Meskipun tidak memiliki inti, trombosit mengandung granula, reseptor membran, sistem sitoskeletal, dan mediator bioaktif yang memungkinkan respons cepat terhadap cedera vaskular. Fungsi paling dikenal dari trombosit adalah membentuk sumbat primer pada lokasi kerusakan endotel, tetapi penelitian modern menunjukkan bahwa trombosit juga berperan dalam inflamasi, imunitas, angiogenesis, dan interaksi dengan leukosit (A. Victor Hoffbrand, 2011).

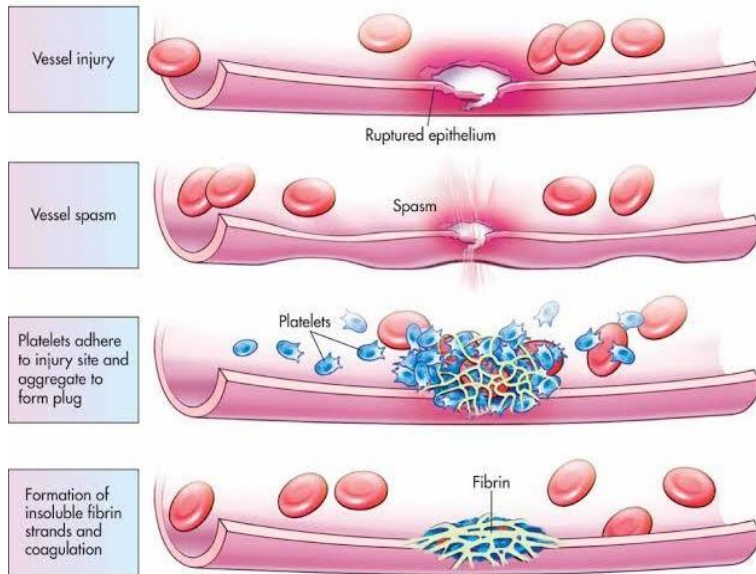
Hemostasis fisiologis dimulai ketika integritas pembuluh darah terganggu. Cedera vaskular menyebabkan vasokonstriksi lokal, paparan kolagen subendotel, dan pelepasan faktor von willebrand yang memfasilitasi adhesi trombosit. Setelah melekat, trombosit mengalami aktivasi, berubah bentuk,

melepaskan isi granula, dan mengekspresikan reseptor yang mendukung agregasi. Agregasi trombosit menghasilkan sumbat primer yang bersifat sementara. Proses ini kemudian diperkuat oleh koagulasi sekunder, yaitu pembentukan fibrin yang menstabilkan sumbat trombosit menjadi bekuan yang lebih kuat (A. Victor Hoffbrand, 2011).

Koagulasi melibatkan interaksi kompleks antara faktor pembekuan, permukaan sel, trombosit, dan endotel. Model klasik jalur intrinsik, ekstrinsik, dan bersama masih berguna untuk memahami pemeriksaan laboratorium seperti PT dan aPTT, tetapi model berbasis sel lebih mencerminkan proses koagulasi *in vivo*. Dalam model berbasis sel, koagulasi berlangsung melalui fase inisiasi, amplifikasi, dan propagasi pada permukaan sel pembawa *tissue factor* dan trombosit teraktivasi. Trombin menjadi enzim sentral karena mengubah fibrinogen menjadi fibrin, mengaktifkan faktor koagulasi lain, serta memperkuat aktivasi trombosit (Scridon, 2022).

Signifikansi fisiologis trombosit tampak jelas pada dua kondisi klinis yang berlawanan. Penurunan jumlah atau gangguan fungsi trombosit dapat menyebabkan perdarahan mukokutan, petekie, purpura, epistaksis, menoragi, atau perdarahan pascatindakan. Sebaliknya, aktivasi trombosit yang berlebihan dapat berkontribusi pada trombosis arteri, infark miokard, stroke iskemik, dan komplikasi inflamasi vaskular

Oleh karena itu, trombosit harus dipahami sebagai komponen hemostatik yang bekerja dalam keseimbangan halus antara mencegah perdarahan dan menghindari pembentukan trombus patologis.



**Gambar 1.5** Tahapan Hemostasis.

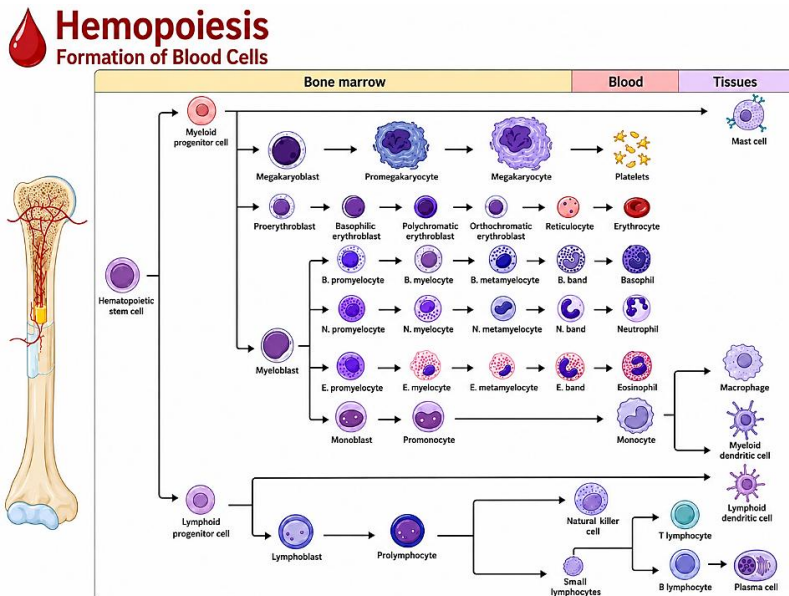
Gambar memperlihatkan cedera pembuluh darah, vasokonstriksi, adhesi trombosit, aktivasi trombosit, agregasi trombosit, pembentukan fibrin, dan stabilisasi bekuan.

#### **F. Hematopoiesis sebagai Sumber Pembaruan Komponen Darah**

Sel-sel darah memiliki usia hidup yang terbatas, sehingga tubuh harus memproduksi komponen darah secara terus-menerus melalui hematopoiesis. Pada orang dewasa, hematopoiesis terutama berlangsung di sumsum tulang merah. Proses ini dimulai dari hematopoietic stem cell yang memiliki kemampuan memperbarui diri dan berdiferensiasi menjadi progenitor mieloid dan limfoid. Progenitor mieloid menghasilkan eritrosit, megakariosit-trombosit, granulosit, monosit, dan sebagian sel dendritik, sedangkan progenitor limfoid menghasilkan limfosit b, limfosit t, dan sel natural killer (A. Victor Hoffbrand, 2011).

Regulasi hematopoiesis dipengaruhi oleh kebutuhan fisiologis tubuh. Ketika terjadi hipoksia atau anemia, produksi eritropoietin meningkat untuk merangsang eritropoiesis. Ketika

terjadi infeksi, sumsum tulang meningkatkan produksi leukosit, terutama neutrofil, melalui pengaruh sitokin dan faktor pertumbuhan hematopoietik. Ketika terjadi perdarahan atau konsumsi trombosit, trombopoietin dan faktor pertumbuhan lain membantu meningkatkan produksi megakariosit dan trombosit. Dengan demikian, sumsum tulang bukan organ pasif, melainkan jaringan responsif yang menyesuaikan produksi sel darah dengan kebutuhan tubuh (A. Victor Hoffbrand, 2011).



**Gambar 1.6** Skema Hematopoiesis

Gambar memperlihatkan *hematopoietic stem cell* yang bercabang menjadi progenitor mieloid dan limfoid, kemudian menghasilkan eritrosit, trombosit, granulosit, monosit, limfosit b, limfosit t, dan sel nk (A. Victor Hoffbrand, 2011).

## G. Integrasi Fisiologis Komponen Darah

Komponen darah bekerja secara terpadu dalam mempertahankan homeostasis. Eritrosit memastikan jaringan memperoleh oksigen yang cukup untuk metabolisme aerobik dan membantu mengangkut karbon dioksida. Plasma menjaga volume sirkulasi, tekanan osmotik, distribusi elektrolit,

transport molekul, dan menyediakan faktor pembekuan. Leukosit mendeteksi dan mengeliminasi ancaman biologis, sekaligus mengatur inflamasi dan penyembuhan jaringan. Trombosit menjaga integritas vaskular melalui hemostasis, sekaligus berkomunikasi dengan leukosit dan endotel dalam respons inflamasi. Interaksi ini menunjukkan bahwa darah merupakan sistem fisiologis yang menyatukan transportasi, pertahanan, regulasi, dan perbaikan jaringan (Ackfeld et al., 2022).

Dalam konteks klinis, pemeriksaan darah lengkap, apusan darah tepi, laju endap darah, kadar protein plasma, hitung retikulosit, profil koagulasi, dan biomarker inflamasi memberikan gambaran tentang status fisiologis tubuh. Anemia menggambarkan gangguan kapasitas transport oksigen. Leukositosis dapat mencerminkan infeksi, inflamasi, stres fisiologis, atau kelainan hematologi. Trombositopenia dan trombositosis menunjukkan gangguan keseimbangan hemostasis. Hipoalbuminemia mencerminkan gangguan sintesis, kehilangan protein, inflamasi, atau malnutrisi. Perubahan fibrinogen dan faktor koagulasi dapat mengarah pada perdarahan atau trombosis. Dengan demikian, komponen darah memiliki signifikansi diagnostik yang sangat luas.

## **H. Penutup**

Darah adalah jaringan ikat cair yang tersusun atas plasma, eritrosit, leukosit, dan trombosit. Plasma berfungsi sebagai medium transportasi, pengatur volume intravaskular, penjaga tekanan onkotik, pembawa protein imunologis, dan penyedia faktor koagulasi. Eritrosit menjalankan fungsi utama transport oksigen dan karbon dioksida, sekaligus membantu menjaga keseimbangan asam-basa. Leukosit membentuk sistem pertahanan tubuh melalui mekanisme imunitas bawaan dan adaptif. Trombosit mempertahankan integritas vaskular melalui hemostasis dan ikut berperan dalam inflamasi serta komunikasi imunovaskular. Seluruh komponen ini diproduksi secara

dinamis melalui hematopoiesis dan bekerja sebagai sistem terpadu untuk mempertahankan homeostasis tubuh.

## DAFTAR PUSTAKA

- A. Victor Hoffbrand, | David P. Steenma. (2011). *Hoffbrand's essential, Haematology, Eighth edition*.
- Ackfeld, T., Schmutz, T., Guechi, Y., & Le Terrier, C. (2022). Blood Transfusion Reactions—A Comprehensive Review of the Literature including a Swiss Perspective. *Journal of Clinical Medicine*, 11(10). <https://doi.org/10.3390/jcm11102859>
- Ford, J. (2013). Red blood cell morphology. *International Journal of Laboratory Hematology*, 35(3), 351–357. <https://doi.org/10.1111/ijlh.12082>
- J. Tortora, gerard., Derrickson, B. (2013). Principles of Anatomy dan Physiology. In *Journal of Chemical Information and Modeling* (Vol. 53, Issue 9).
- Scridon, A. (2022). Platelets and Their Role in Hemostasis and Thrombosis—From Physiology to Pathophysiology and Therapeutic Implications. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(21). <https://doi.org/10.3390/ijms232112772>
- Unnithan, A., Das, S., & Raju, K. (2023). Evaluation of Phlebotomy Quality Metrics: An Effective Tool for Quality Patient Care. *Advances in Human Biology*, 13(Suppl 1), S80–S84. [https://doi.org/10.4103/aihb.aihb\\_201\\_22](https://doi.org/10.4103/aihb.aihb_201_22)
- WHO, W. H. O. (2011). Quality Management System Handbook. *Handbook*.

# BAB

# 2

## MORFOLOGI DAN KARAKTERISTIK FISIOLOGIS ERITROSIT

dr. Ariza Julia Paulina, M.Biomed

### A. Pendahuluan

Darah adalah cairan internal yang berfungsi mengantarkan oksigen dan berbagai zat metabolik ke sel-sel, organ, dan sistem tubuh manusia. Darah juga berperan dalam memberikan perlindungan terhadap masuknya zat asing ke dalam tubuh manusia. Manusia memiliki sekitar 4,5–5 liter darah dalam sistem sirkulasi. Darah tersusun oleh plasma dan sel-sel seperti sel darah merah (eritrosit), sel darah putih (leukosit), dan platelet (trombosit) (Corrons, Casafont and Frasnado, 2021).

Eritrosit merupakan komponen seluler utama dalam sirkulasi darah. Konsentrasi eritrosit normal berkisar antara  $4,5-5,9 \times 10^{12}/L$ , dengan masa hidup rata-rata sekitar 120 hari. Produksi eritrosit dan penghancuran eritrosit yang menua dipertahankan dalam keseimbangan konstan. Faktor fisiologis dapat memengaruhi keseimbangan eritrosit, seperti jenis kelamin, usia, ketinggian, kehamilan, atau status merokok, yang dapat menyebabkan variasi antar dan intra individu (Adewoyin *et al.*, 2019).

Eritrosit merupakan sel berbentuk bikonkaf yang berfungsi utama dalam transport oksigen dan karbon dioksida melalui hemoglobin. Eritrosit merupakan indikator penting dalam diagnosis berbagai penyakit, seperti anemia, gangguan metabolik, hingga penyakit infeksi (Negoro and Septilia, 2024).

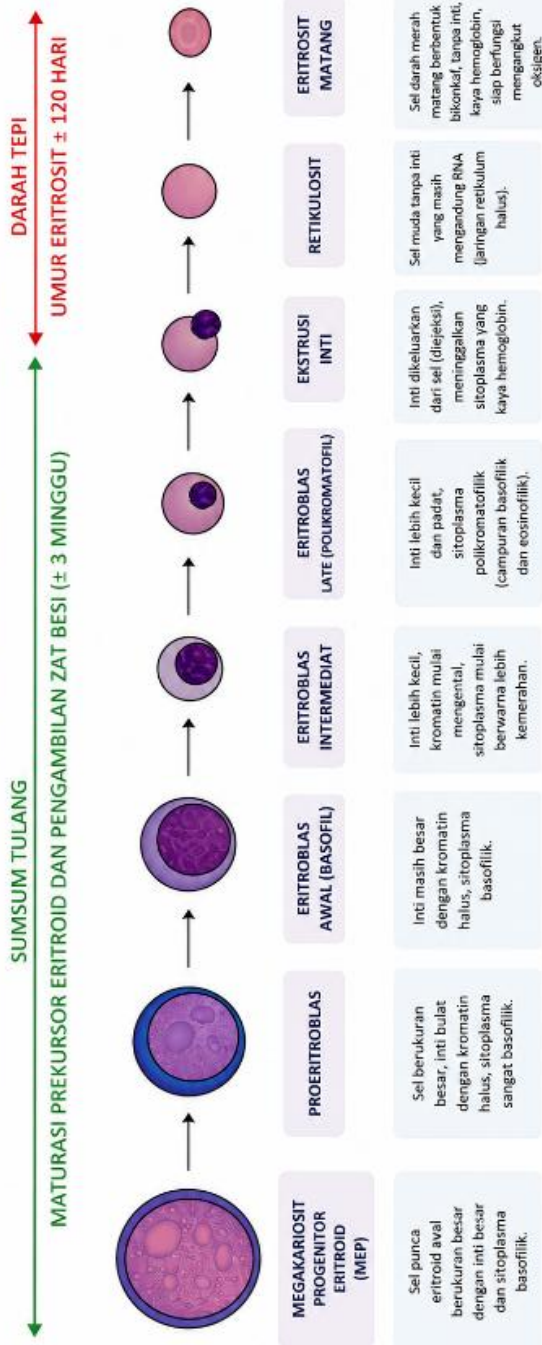
Untuk menjalankan fungsinya dengan lebih efisien dan optimal, eritrosit telah membentuk beberapa karakteristik morfologi dan fisiologi yang unik (Corrons, Casafont and Frasnado, 2021; Chen *et al.*, 2023). Organisasi struktural dan interaksi dinamis dalam jaringan eritrosit merupakan faktor penting yang memengaruhi deformabilitas eritrosit dan ketahanan mekanis dalam konteks fisiologis dan patologis (Tozak Yıldız and Özdamar, 2026).

## B. Morfologi Eritrosit

Eritrosit merupakan penentu utama reologi darah. Pada mamalia, eritrosit tidak memiliki inti, sehingga tidak mampu membelah. Semua eritrosit yang beredar berasal dari eritropoiesis (Nigra, Casale and Santander, 2019). Eritropoiesis adalah proses pembentukan eritrosit yang terjadi di kompartemen hematopoietik sumsum tulang, dimana terjadi berbagai modifikasi diinduksi dalam ekspresi protein membran dan sitoskeleton serta berbagai interaksi vertikal dan horizontal (Nigra, Casale and Santander, 2019; Corrons, Casafont and Frasnado, 2021).

Sel induk hematopoietik berdiferensiasi menjadi progenitor myeloid umum dan kemudian menjadi progenitor megakariosit-eritroid. Diferensiasi lebih lanjut menghasilkan garis keturunan eritroid. Tahapan eritropoiesis secara lengkap dapat dilihat pada **Gambar 2.1** (R, Cm and Mi, 2017). Pematangan eritrosit ditandai dengan hilangnya organel secara selektif, khususnya mitokondria (R, Cm and Mi, 2017). Mitokondria mengatur sel induk hematopoietik dengan memodulasi metabolisme energi dan memfasilitasi pemrograman ulang metabolisme, yang membantu transisi garis keturunan awal dari pluripotensi ke tahap diferensiasi. Pada tahap akhir eritropoiesis, mitokondria terlibat dalam metabolisme besi, biosintesis heme, dan pematangan retikulosit (Am *et al.*, 2020).

## TAHAPAN PEMBENTUKAN ERITROSIT (ERITROPOIESIS)

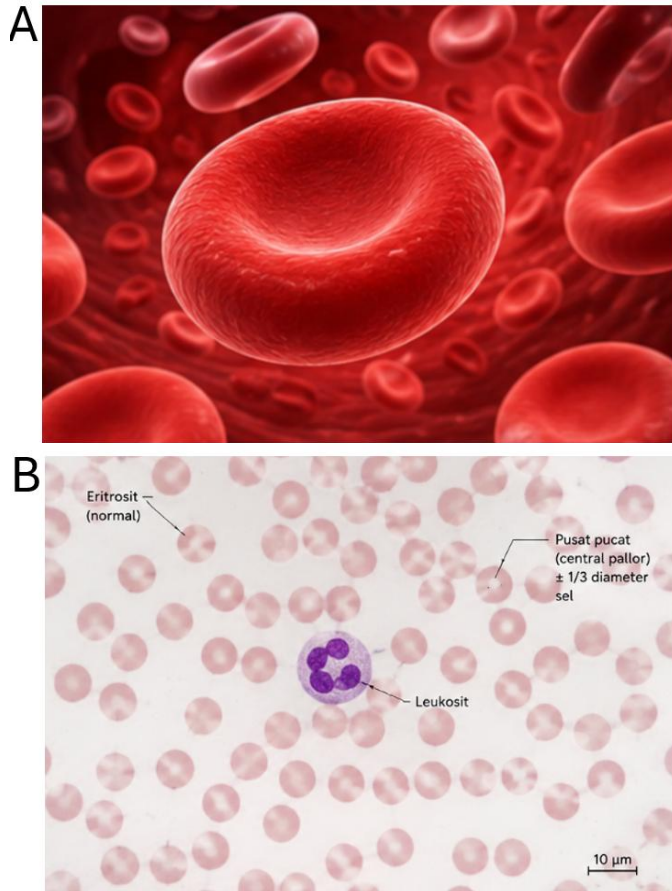


Gambar 2.1 Tahapan Eritropoiesis

Eritrosit adalah sel darah merah berbentuk diskoid bikonkaf (seperti cakram), tidak memiliki nukleus (inti), dengan tepi sitoplasma yang terhemoglobinisasi dengan baik dan memiliki *central pallor* sekitar sepertiga diameter eritrosit (**Gambar 2.2**) (Adewoyin *et al.*, 2019; Barbalato and Pillarisetty, 2026). Diameter eritrosit manusia sekitar 7,5 - 8,7  $\mu\text{m}$  dan ketebalan 1,5 - 2,5  $\mu\text{m}$ , dengan volume rata-rata sekitar 80-100 fL (Diez-Silva *et al.*, 2010; C *et al.*, 2019). Eritrosit tersusun atas dua komponen utama, yaitu membran sel dan sitoplasma (Kuhn *et al.*, 2017).

### **1. Membran Eritrosit**

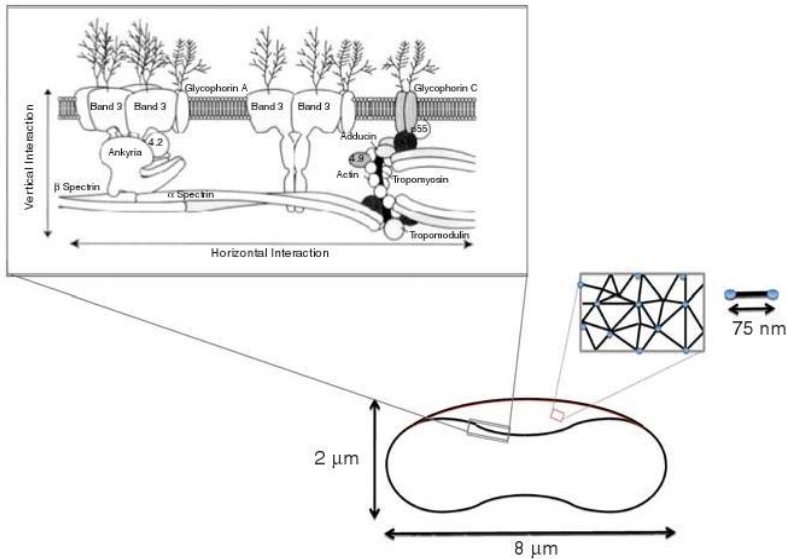
Membran eritrosit berupa lapisan bilayer fosfolipid yang menyelubungi struktur sel dan dipertahankan oleh jaringan protein yang membentuk sitoskeleton (Kuhn *et al.*, 2017; Barbalato and Pillarisetty, 2026). Lapisan luar membran kaya akan glikolipid dan fosfolipid kolin, sedangkan lapisan dalamnya kaya akan aminofosfolipid. Komposisi biokimia membran eritrosit terdiri dari protein (52%), lipid (40%), dan karbohidrat (8%) (Kartini, Muhiddin and Arif, 2017). Sitoskeleton eritrosit terdiri atas aktin, spektrin, band 3, protein 4.1, protein 4.2, dan ankyrin yang memberikan integritas struktural dan kelenturan sel (Diez-Silva *et al.*, 2010; Kuhn *et al.*, 2017; Barbalato and Pillarisetty, 2026).



**Gambar 2.2** Morfologi Eritrosit Normal A. Eritrosit normal;  
B. Eritrosit pada Sediaan Hapus Darah Tepi

Pada bagian bawah dari lapisan bilayer lipid, terdapat kerangka dua dimensi yang dikenal sebagai kerangka atau jaringan membran glikoprotein berbasis spektrin (**Gambar 2.3**) (Nigra, Casale and Santander, 2019). Kerangka ini terhubung ke lapisan bilayer oleh protein integral dan perifer. Koneksi yang melibatkan pengikatan protein disebut sebagai interaksi vertikal, sedangkan pengikatan yang terlibat dalam pembentukan jaringan spektrin dua dimensi disebut sebagai interaksi horizontal (Diez-Silva *et al.*, 2010; Lux, 2016). Spektrin membentuk jaringan utama sitoskeleton eritrosit

dan memberikan kemampuan deformasi pada sel. Jaringan spektrin diatur oleh interaksi dua heterodimer spektrin, yang terdiri dari subunit  $\alpha$  dan  $\beta$ , masing-masing berukuran 280 dan 247 kDa (Lux, 2016; Nigra, Casale and Santander, 2019).



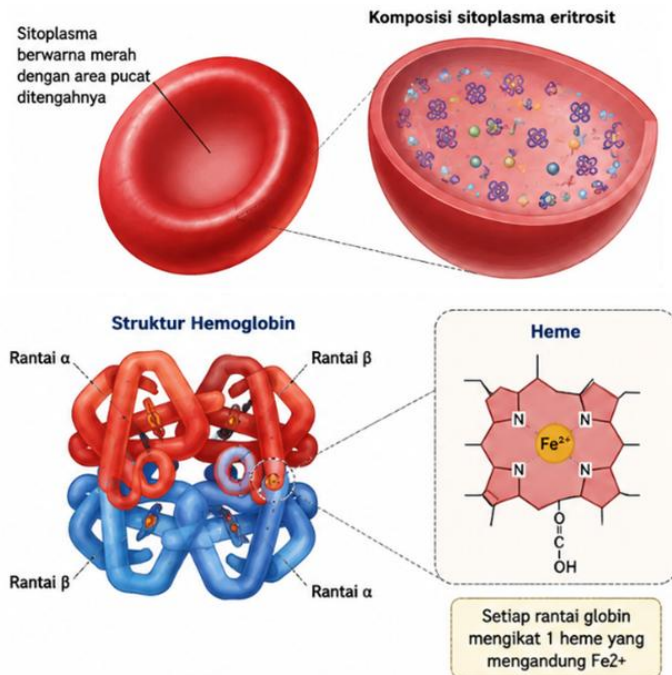
**Gambar 2.3** Representasi Skematis Eritrosit Sehat, Geometri (Bentuk Diskoid), dan Jaringan Spektrin

Penelitian menunjukkan bahwa protein membran dan sitoskeleton menentukan deformabilitas eritrosit, namun deformabilitas ini terbatas (N *et al.*, 2023). Elastisitas eritrosit dipengaruhi oleh berbagai faktor seperti konsentrasi hemoglobin dan protein spektral (M *et al.*, 2020). Jika luas permukaan eritrosit meningkat sebesar 3-4% dapat menyebabkan lisis sel (C *et al.*, 2019). Beberapa protein transmembran merupakan antigen eritrosit dan berkontribusi pada sistem golongan darah (Lux, 2016). Cacat pada sitoskeleton menyebabkan perubahan dalam kemampuan deformasi dan stabilitas eritrosit, yang akhirnya dapat memengaruhi kelangsungan hidup sel dan sifat reologinya (Nigra, Casale and Santander, 2019). Gangguan pada interaksi vertikal dan horizontal juga dapat mengakibatkan perubahan pada kepadatan jaringan

spektrin, yang selalu menyebabkan perubahan morfologi sel, fluktuasi membran, dan deformabilitas eritrosit (Diez-Silva *et al.*, 2010).

## 2. Sitoplasma Eritrosit

Sitoplasma eritrosit adalah matriks cair tanpa organel yang terdiri dari air (sekitar 60-70%), hemoglobin (30-35%), protein struktural dan enzim, elektrolit dan metabolit (Kartini, Muhiddin and Arif, 2017). Sitoplasma eritrosit tampak berwarna merah dengan area pucat di tengahnya dan tidak memiliki mitokondria, sehingga kebutuhan energi sepenuhnya bergantung pada glikolisis anaerob. Hemoglobin merupakan 95% protein dalam sitoplasma yang tersusun dari empat rantai globin ( $\alpha$  dan  $\beta$ ), dan setiap rantai globin mengikat satu gugus heme (mengandung  $\text{Fe}^{2+}$ ) (**Gambar 2.4**) (Kuhn *et al.*, 2017; Key *et al.*, 2023).



**Gambar 2.4** Sitoplasma Eritrosit dan Struktur Hemoglobin

Eritrosit dapat menempuh jarak lebih dari 300 km. Sebagian besar perjalanannya melewati arteri dengan diameter lebih dari 50  $\mu\text{m}$ , tetapi juga melewati kapiler dengan diameter berkisar antara 3-8  $\mu\text{m}$ . Eritrosit harus beradaptasi dengan saluran pembuluh darah yang sempit dengan cara mengubah bentuknya dan mengalami deformasi besar. Oleh karena itu, deformabilitas adalah sifat fisik utama eritrosit untuk memastikan oksigenasi jaringan yang sesuai dan merupakan hasil dari tiga karakteristik geometris dan fisikokimia, yaitu (Corrons, Casafont and Frasnado, 2021):

1. Bentuk (diskoid bikonkaf) tergantung pada rasio permukaan/volume eritrosit;
2. Viskositas tergantung pada konsentrasi hemoglobin intraseluler dan keadaan fisikokimianya;
3. Viskoelastisitas sebagian besar ditentukan oleh sitoskeleton, jaringan aktin-spektrin yang mendasari membran bilayer fosfolipid.

Penelitian menunjukkan bahwa terdapat tiga faktor penting yang memengaruhi struktur dan integritas mekanik jaringan spektrin dan bentuk keseluruhan sel eritrosit, yaitu:

1. Tegangan geser (*shear stress*) pada membran eritrosit;
2. Sifat pengikatan antara interaksi vertikal dan hilangnya interaksi vertikal karena gangguan darah hereditas;
3. Remodeling yang difasilitasi oleh aktivitas metabolisme yang timbul dari energi kimia.

Penelitian menunjukkan bahwa ikatan antara fosfolipid bilayer dan jaringan spektrin secara aktif dikendalikan oleh *adenosin triphosphate* (ATP). Sehingga ketiga hal tersebut sangat penting dalam mempertahankan bentuk bikonkaf diskoid eritrosit (Diez-Silva *et al.*, 2010). Bentuk eritrosit yang seperti cakram ini, menjelaskan bagaimana luas permukaan yang besar, jika dibandingkan dengan volumenya. Hal ini memungkinkan sel untuk menjalankan fungsinya, yaitu pertukaran oksigen, karbon dioksida, dan metabolit antara plasma dan sel dengan lebih efisien (Corrons, Casafont and Frasnado, 2021).

Morfologi eritrosit dievaluasi berdasarkan ukuran, bentuk, warna, distribusi, dan inklusi intrasitoplasma. Secara umum, eritrosit memiliki variasi ukuran yang cukup seragam, dengan distribusi ukuran eritrosit (RDW) berkisar antara 11-15% pada individu normal. Penyimpangan dalam morfologi dapat dikaitkan dengan diagnosis dari suatu penyakit. Contohnya, gambaran darah dengan sedikit eritrosit, fragmen eritrosit yang meningkat, peningkatan eritrosit polikromatik, dapat menunjukkan mikroangiopati atau sindrom fragmentasi (Adewoyin *et al.*, 2019).

### C. Karakteristik Fisiologis Eritrosit

Eritrosit merupakan komponen seluler utama dalam darah, dengan jumlah sekitar seribu kali lebih tinggi dibandingkan leukosit, dengan fraksi volume (hematokrit) sekitar 45% (Nigra, Casale and Santander, 2019). Eritrosit diproduksi secara terus-menerus di sumsum tulang. Setiap detik, sumsum tulang manusia dewasa menghasilkan sekitar 2 juta retikulosit, yang dilepaskan ke sirkulasi untuk menjadi eritrosit matang (Ducamp and Ostuni, 2023). Eritrosit memiliki masa hidup rata-rata sekitar 120 hari di dalam aliran darah dan akan dihancurkan di hati dan limpa (Corrons, Casafont and Frasnado, 2021).

Eritrosit memainkan peran penting dalam fungsi darah secara keseluruhan, yaitu untuk pengangkutan oksigen dari paru-paru ke jaringan dan pembuangan karbon dioksida untuk respirasi sel (Lin *et al.*, 2025). Eritrosit mengangkut oksigen menggunakan bantuan hemoglobin. Satu molekul hemoglobin dapat mengikat empat molekul oksigen. Oksigen berdifusi dari alveolus ke kapiler paru, kemudian oksigen berikatan dengan  $\text{Fe}^{2+}$  pada hemoglobin membentuk oksihemoglobin. Eritrosit membawa oksigen ke jaringan, dimana oksigen dilepaskan sesuai kebutuhan metabolik jaringan (Ducamp and Ostuni, 2023).

Eritrosit berperan dalam mengangkut karbon dioksida hasil metabolisme jaringan menuju paru-paru untuk dikeluarkan. Transport karbon dioksida berlangsung melalui tiga bentuk utama, yaitu bikarbonat ( $\text{HCO}_3^-$ ) sekitar 70%, karbaminohemoglobin ( $\text{HbCO}_2$ ) sekitar 20-23%, dan karbon dioksida ( $\text{CO}_2$ ) terlarut dalam plasma sekitar 7%. Karbon dioksida berdifusi dari sel tubuh menuju plasma lalu masuk ke eritrosit karena perbedaan konsentrasi. Di dalam eritrosit, enzim karbonat anhidrase mengubah  $\text{CO}_2$  dan air menjadi asam karbonat. Asam karbonat kemudian terurai menjadi ion hidrogen dan ion bikarbonat. Ion hidrogen akan diikat oleh hemoglobin untuk menjaga kestabilan pH darah. Sedangkan ion bikarbonat keluar dari eritrosit ke plasma, kemudian ion klorida masuk ke eritrosit untuk mempertahankan keseimbangan muatan listrik. Sebagian  $\text{CO}_2$  langsung berikatan dengan globin hemoglobin membentuk karbaminohemoglobin. Sebagian kecil lainnya langsung larut dalam plasma darah tanpa mengalami perubahan kimia. Eritrosit juga memiliki sistem perlindungan terhadap stress oksidatif, seperti glutathione, yang menjaga integritas membran sel. Selain itu, eritrosit berperan dalam regulasi aliran darah melalui interaksi dengan oksida nitrat, yang memengaruhi vasodilatasi pembuluh darah (Ducamp and Ostuni, 2023).

Metabolisme eritrosit merupakan sistem yang kompleks dan saling terintegrasi untuk mempertahankan fungsi, bentuk, deformabilitas, serta kemampuan transport oksigen eritrosit. Walaupun eritrosit tidak memiliki inti dan organel, sel ini tetap memiliki jaringan metabolik aktif yang tersusun atas beberapa jalur utama, yaitu (Chatzinikolaou *et al.*, 2024):

### 1. Glikolisis

Glikolisis merupakan jalur metabolisme utama eritrosit karena eritrosit tidak memiliki mitokondria sehingga seluruh produksi energi bergantung pada glikolisis anaerob. Jalur ini menghasilkan *adenosin triphosphate* (ATP), *nicotinamide adenine dinucleotide* (NADH), dan 2,3-bisfosfoglisarat (2,3-BPG). ATP digunakan untuk

mempertahankan integritas membran, fungsi pompa ion, dan deformabilitas eritrosit, sedangkan 2,3-BPG berperan dalam mempermudah pelepasan oksigen dari hemoglobin ke jaringan.

## **2. Jalur Pentosa Fosfat**

Jalur pentosa fosfat berfungsi terutama menghasilkan *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate* (NADPH) yang sangat penting dalam mempertahankan keseimbangan redoks eritrosit. NADPH digunakan untuk mempertahankan *glutathione* dalam bentuk tereduksi sehingga eritrosit terlindungi dari stres oksidatif dan kerusakan membran akibat radikal bebas. Pada eritrosit, fungsi utama jalur ini bukan sintesis nukleotida, melainkan perlindungan antioksidan.

## **3. Metabolisme Redoks**

Metabolisme redoks menjaga kestabilan hemoglobin, membran lipid, dan sitoskeleton eritrosit dari kerusakan oksidatif. Sistem ini melibatkan *glutathione*, peroksiredoksin, katalase, dan berbagai enzim antioksidan lainnya. Keseimbangan redoks sangat penting untuk mempertahankan umur eritrosit dan mencegah hemolisis (pecahnya eritrosit).

## **4. Metabolisme Oksigen**

Eritrosit mengatur proses pengikatan dan pelepasan oksigen melalui hemoglobin dan 2,3-BPG. Konsentrasi 2,3-BPG memengaruhi afinitas hemoglobin terhadap oksigen sehingga membantu distribusi oksigen sesuai kebutuhan jaringan tubuh.

## **5. Metabolisme Purin dan Nukleosida**

Eritrosit tidak dapat mensintesis nukleotida baru secara penuh, sehingga menggunakan jalur salvage purin untuk mendaur ulang basa purin dari plasma. Jalur ini mendukung pembentukan ATP dan menjaga keseimbangan energi sel.

## 6. Sistem Pompa dan Transporter Membran

Pompa ion dan transporter membran seperti  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase,  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase, dan protein band 3 berperan dalam mempertahankan volume, bentuk bikonkaf, keseimbangan osmotik, serta deformabilitas eritrosit. Sebagian besar ATP eritrosit digunakan untuk mendukung kerja pompa membran ini.

Dalam hematologi, terdapat berbagai parameter dalam mengkarakterisasi morfologi dan fungsi eritrosit, yaitu (Vives-Corróns, 2019; Corróns, Casafont and Frasnado, 2021):

1. Kuantitasnya atau jumlah sel per liter darah
2. Ukurannya atau volume sel darah merah (*mean corpuscular volume / MCV*)
3. Kandungan hemoglobin dalam sel darah merah (*mean corpuscular haemoglobin / MCH*)
4. Konsentrasi rata-rata hemoglobin dalam sel darah merah (*mean corpuscular haemoglobin concentration / MCHC*)

Indeks eritrosit yang terdiri dari MCV, MCH, dan MCHC dengan nilai normal MCV 80-100 fL, MCH 27-33 pg, dan MCHC 32-36 g/dL (Vives-Corróns, 2019). Indeks eritrosit ini sangat penting untuk klasifikasi morfologi anemia menjadi mikrositik (MCV rendah), normositik (MCV normal), dan makrositik (MCV tinggi) (Corróns, Casafont and Frasnado, 2021).

Dengan demikian, karakteristik fisiologis eritrosit menunjukkan bahwa sel ini tidak hanya berfungsi sebagai pengangkut gas respirasi, tetapi juga memiliki sistem metabolik dan regulasi yang kompleks untuk mempertahankan homeostasis, keseimbangan redoks, deformabilitas membran, serta kelangsungan hidup eritrosit dalam sirkulasi darah. Pemahaman mengenai morfologi dan fisiologi eritrosit menjadi dasar penting dalam interpretasi berbagai kelainan hematologi dan gangguan sistemik yang berkaitan dengan fungsi darah.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adewoyin, A. *et al.* (2019) "Erythrocyte Morphology and Its Disorders." Available at: <https://doi.org/10.5772/intechopen.86112>.
- Am, G.-I. *et al.* (2020) "Erythroid Differentiation and Heme Biosynthesis Are Dependent on a Shift in the Balance of Mitochondrial Fusion and Fission Dynamics," *Frontiers in cell and developmental biology*, 8. Available at: <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.592035>.
- Barbalato, L. and Pillarisetty, L.S. (2026) "Histology, Red Blood Cell," *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK539702/> (Accessed: April 23, 2026).
- C, R. *et al.* (2019) "Impact of surface-area-to-volume ratio, internal viscosity and membrane viscoelasticity on red blood cell deformability measured in isotonic condition," *Scientific reports*, 9(1). Available at: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-43200-y>.
- Chatzinikolaou, P.N. *et al.* (2024) "Erythrocyte metabolism," *Acta Physiologica*, 240(3), p. e14081. Available at: <https://doi.org/10.1111/apha.14081>.
- Chen, M. *et al.* (2023) "Red blood cells: a potential delivery system," *Journal of Nanobiotechnology*, 21, p. 288. Available at: <https://doi.org/10.1186/s12951-023-02060-5>.
- Corrons, J.L.V., Casafont, L.B. and Frasnado, E.F. (2021) "Concise review: how do red blood cells born, live, and die?," *Annals of Hematology* [Preprint]. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00277-021-04575-z>.
- Diez-Silva, M. *et al.* (2010) "Shape and Biomechanical Characteristics of Human Red Blood Cells in Health and Disease," *MRS bulletin / Materials Research Society*, 35(5), pp. 382–388. Available at: <https://doi.org/10.1557/mrs2010.571>.

- Ducamp, S. and Ostuni, M.A. (2023) "Physiology of Red Cell Lineage: From Erythroblast Progenitors to Mature Red Blood Cell," *International Journal of Molecular Sciences*, 24(11), p. 9715. Available at: <https://doi.org/10.3390/ijms24119715>.
- Kartini, D.S., Muhiddin, R. and Arif, M. (2017) "The Morphological Features of Erythrocytes in Stored Packed Red Cells," *Indonesian Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory*, 23(2), pp. 103–106. Available at: <https://doi.org/10.24293/ijcpml.v23i2.1128>.
- Key, A. *et al.* (2023) "Modeling Red Blood Cell Metabolism in the Omics Era," *Metabolites*, 13(11), p. 1145. Available at: <https://doi.org/10.3390/metabo13111145>.
- Kuhn, V. *et al.* (2017) "Red Blood Cell Function and Dysfunction: Redox Regulation, Nitric Oxide Metabolism, Anemia," *Antioxidants & Redox Signaling*, 26(13), pp. 718–742. Available at: <https://doi.org/10.1089/ars.2016.6954>.
- Lin, D. *et al.* (2025) "The involvement of mitochondria in erythrocyte pathology and diseases: from mechanisms to therapeutic strategies," *Clinical and Experimental Medicine*, 25(1), p. 144. Available at: <https://doi.org/10.1007/s10238-024-01555-1>.
- Lux SE. (2016) "Anatomy of the red cell membrane skeleton: unanswered questions," *Blood*, 127(2). Available at: <https://doi.org/10.1182/blood-2014-12-512772>.
- M, R. *et al.* (2020) "Coarse-Grained Modeling of Pore Dynamics on the Red Blood Cell Membrane under Large Deformations," *Biophysical journal*, 119(3). Available at: <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2020.06.016>.
- N, L. *et al.* (2023) "Structural basis of membrane skeleton organization in red blood cells," *Cell*, 186(9). Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2023.03.017>.

- Negoro, M.S.A.S. and Septilia, G. (2024) "Gambaran Morfologi Eritrosit Mahasiswi saat Menstruasi," *Jaringan Laboratorium Medis*, 6(1), pp. 26–33. Available at: <https://doi.org/10.31983/jlm.v6i1.9926>.
- Nigra, A.D., Casale, C.H. and Santander, V.S. (2019) "Human erythrocytes: cytoskeleton and its origin," *Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS*, 77(9), pp. 1681–1694. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00018-019-03346-4>.
- R, G., Cm, F. and Mi, C. (2017) "Autophagy: A necessary event during erythropoiesis," *Blood reviews*, 31(5). Available at: <https://doi.org/10.1016/j.blre.2017.04.001>.
- Tozak Yıldız, H. and Özdamar, S. (2026) "Comparative Analysis of Erythrocyte Morphology in Hematological Malignancies and Anemia," *Hemato*, 7(1), p. 6. Available at: <https://doi.org/10.3390/hemato7010006>.
- Vives-Corróns, J.-L. (2019) "The Rare Anaemias," *Rare Diseases*. IntechOpen. Available at: <https://doi.org/10.5772/intechopen.86986>.

# BAB 3

## STRUKTUR MOLEKULAR DAN FUNGSI HEMOGLOBIN

Assoc. Prof. Harliansyah, Ph.D. Med.Biochem

### A. Struktur Hemoglobin

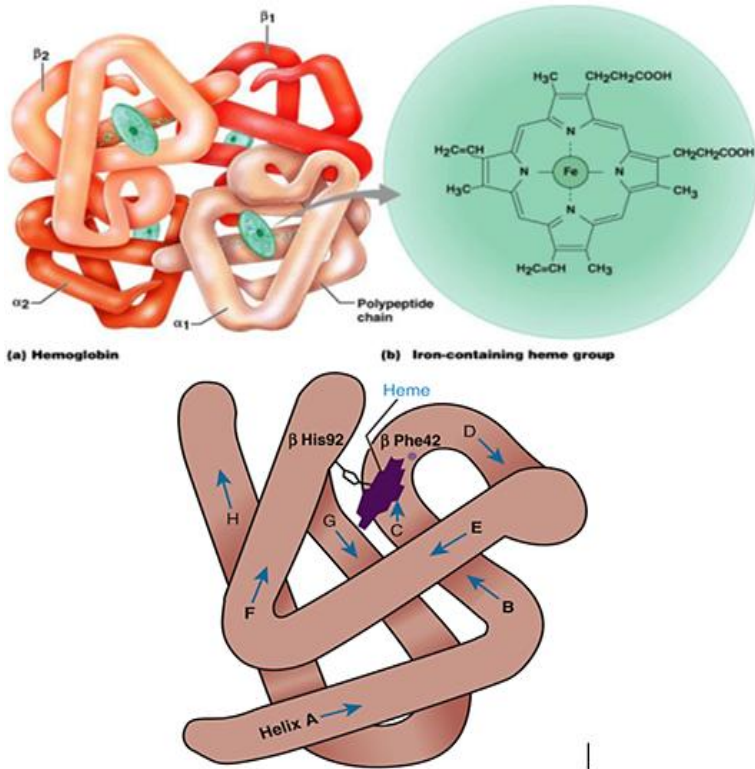
Hemoglobin (Hb) berasal dari gabungan kata hemo atau *haem* dengan *globin*. Kata hemo berasal dari bahasa Yunani, *Haima* yang berarti darah, dengan merujuk adanya gugus heme yang mengandung besi dari protoporfirin. Adapun globin berasal dari bahasa Latin, *Globus* artinya bola, yang merujuk pada struktur protein globular yang mengikat zat besi.

Struktur hemoglobin (Hb) terdiri atas empat sub unit dengan masing-masing subunit memiliki gugus heme dan satu ion besi ( $\text{Fe}^{2+}$ ) untuk mengikat oksigen. Jika ion  $\text{Fe}^{2+}$  teroksidasi menjadi  $\text{Fe}^{3+}$  (reaksi Fenton) maka terjadi perubahan konformasi molekul hemoglobin. Hal ini akan mengubah konstanta kesetimbangan pengikatan molekul  $\text{O}_2$  terutama pada subunit berikutnya. Akibatnya pada kondisi ini terjadi peningkatan afinitas terhadap  $\text{O}_2$  (Ahmed et al, 2020).

Bentuk struktur hemoglobin diperkenalkan oleh Perutz, 1962 yang terdiri atas heme dan protein globin. Heme berisikan molekul protoporfirin-IX yang mengandung ion  $\text{Fe}^{2+}$ . Adapun residu asam amino dari globin mengandung inti hidrofilik dan rantai eksternal hidrofobik, bekerja secara kooperatif positif yang mampu mengikat berbagai gas ( $\text{O}_2$ , NO, CO,  $\text{H}_2\text{S}$ ).

Darah normal berisi hemoglobin dewasa HbA 97% dengan subunit  $2\alpha-2\beta$ , HbA<sub>2</sub> (anemia sel sabit) 2% ( $2\alpha-2\delta$ ) dan Hb fetus 1% ( $2\alpha-2\gamma$ ). Subunit  $\alpha$  mengandung 141 asam amino,

sedangkan subunit  $\beta$ ,  $\delta$  dan  $\gamma$  terdiri dari 146 residu asam amino (Hashmi and Hashmi, 2017).



**Gambar 3.1** Struktur Hemoglobin dengan 2 Subunit  $\alpha$  dan 2 Subunit  $\beta$ .

Tiap satu subunit mengandung 8 helix (A  $\rightarrow$  H) di mana senyawa porfirin dengan inti  $\text{Fe}^{2+}$  yang membawa molekul  $\text{O}_2$  terikat oleh residu asam amino Histidin 92 dan Phenilalanin 42.

## B. Fungsi Hemoglobin

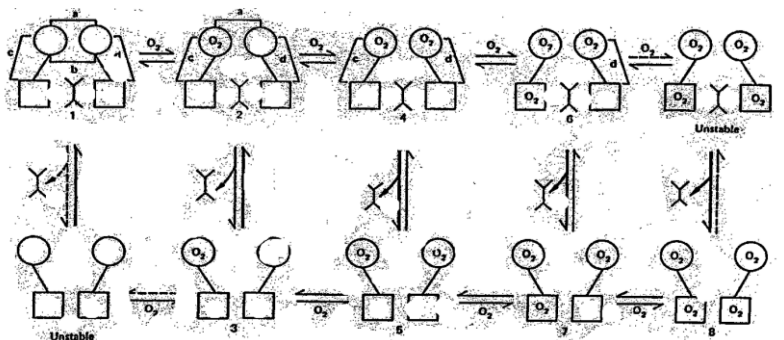
Sebagai protein transpor yang terdapat di dalam sel darah merah, fungsi utama hemoglobin mengangkut  $\text{O}_2$  dari paru-paru ke jaringan tubuh atau  $\text{CO}_2$  dari jaringan ke paru-paru kembali untuk diekskresikan. Setiap sel darah merah mengandung 640 juta molekul hemoglobin (Napolitano, 2009).

Saat hemoglobin mengikat oksigen, berada pada oksihemoglobin ( $\text{HbO}_2$ ). Proses ini bersifat reversibel, dipengaruhi oleh tekanan parsial oksigen ( $\text{pO}_2$ ), pH darah, temperatur dan konsentrasi 2,3-difosfoglisarat (2,3-DPG). Oksihemoglobin mengantarkan oksigen ke jaringan, namun jika terjadi penurunan  $\text{pO}_2$  dan perubahan lingkungan mikro jaringan, terjadi pelepasan oksigen sehingga menghasilkan struktur deoksihemoglobin.

Keseimbangan oksigen dengan molekul Hb sangat penting, untuk menjaga homeostasis jaringan. Adanya gangguan dalam mekanisme ini, dapat menyebabkan keadaan hipoksia, berupa pengurangan oksigen di jaringan serta pembentukan radikal bebas yang berdampak luas pada berbagai sistem tubuh, seperti anemia, stres oksidatif dan penyakit degeneratif sistemik (Israels and Israels, 2002).

Perubahan keadaan molekul hemoglobin dari keadaan *taut* (T) yang terdeoksigenasi ke keadaan *rileks* (R) teroksigenasi melalui serangkaian keadaan perantara dari setiap subunit, ditunjukkan melalui model di bawah ini.

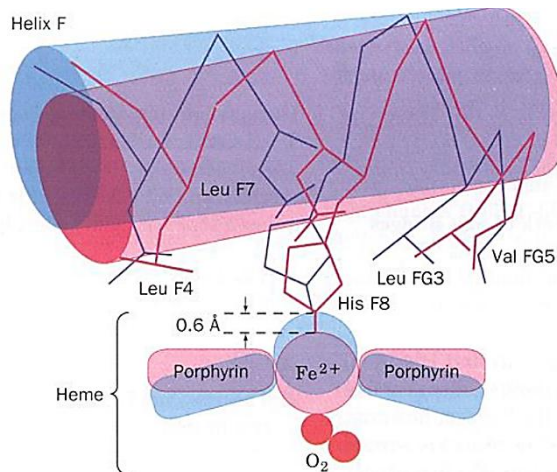
**Gambar**  
**Keadaan T**



**Keadaan R**

**3.2 Model Pengikatan Oksigen pada Setiap Subunit Hemoglobin.** Bagian atas (T) menggambarkan keadaan afinitas terhadap oksigen rendah, sedangkan bagian bawah (R) menggambarkan subunit berada pada afinitas terhadap oksigen tinggi.

Selama proses respirasi, 97% molekul oksigen akan terikat pada ion besi ( $\text{Fe}^{2+}$ ) yang dibawa ke jaringan perifer melalui aliran darah. Sebaliknya saat metabolisme akhir, sebanyak 20%  $\text{CO}_2$  akan diangkut dan terikat pada globin dan 80%  $\text{CO}_2$  akan bebas di dalam plasma. Jumlah  $\text{CO}_2$  bebas ini akan berikatan dengan air ( $\text{H}_2\text{O}$ ) membentuk asam bikarbonat ( $\text{H}_2\text{CO}_3$ ) yang bersifat asam (asidosis) dengan pH darah, kurang dari 7,35. Suasana asam dapat mengganggu kedudukan dari struktur protein seperti denaturasi dan ketidakaktifan fungsi protein plasma secara keseluruhan. Umumnya derajat keasaman (pH) darah normal berkisar antara 7,35 – 7,45 (Helmkamp,2005).

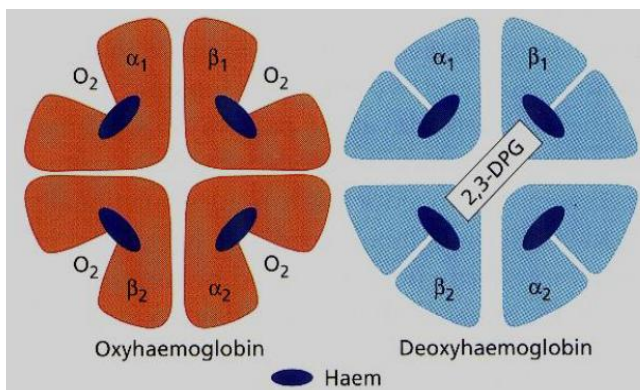


**Gambar 3.3** Perubahan Konformasi Hemoglobin Saat Pengikatan Molekul Oksigen.

Warna merah (oksihemoglobin) di mana  $\text{O}_2$  terikat pada ion  $\text{Fe}^{2+}$  dan warna biru (deoksihemoglobin),  $\text{O}_2$  terlepas dari ion  $\text{Fe}^{2+}$

Gugus imidazol dari residu histidin pada kantong distal (His F7) menstabilkan  $\text{O}_2$  yang terikat melalui interaksi ikatan hidrogen. Dengan tidak adanya oksigen (molekul Hb akan terdeoksigenasi) menyebabkan molekul air terikat sangat lemah untuk mengisi tempat tersebut, membentuk oktahedron yang terdistorsi. Pengikatan ligan atau gas lain, seperti ion nitrit ( $\text{NO}_2$ ), nitrogen monoksida ( $\text{NO}$ ), karbon monoksida ( $\text{CO}$ ),

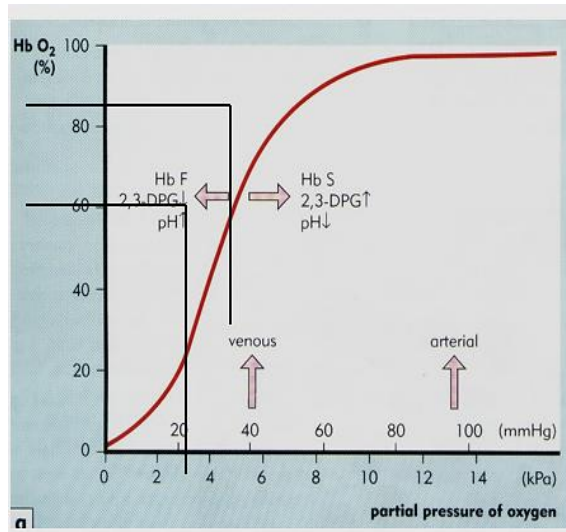
sianida (CN), sulfur monoksida (SO), sulfida (S<sub>2</sub>), dapat berikatan pada subunit dari heme dan bertindak sebagai inhibitor kompetitif, yang memengaruhi pengikatan molekul O<sub>2</sub>. Beberapa senyawa ini akan berikatan dengan afinitas yang jauh lebih tinggi dari pada oksigen, sehingga senyawa-senyawa ini sangat beracun bagi manusia. Misalnya, afinitas pengikatan Hb terhadap CO jauh lebih besar yaitu 240 kali lipat, dibandingkan dengan O<sub>2</sub>, akibatnya jika konsentrasi CO yang 0,1% dari udara terikat, dapat menyebabkan pingsan bahkan kematian pada manusia (Ahmed, et al. 2020).



**Gambar 3.4** Kedudukan Subunit Hemoglobin Sebelum dan Setelah Adanya Inhibitor 2,3 Difosfoglisarat (2,3 DPG).

Hubungan tekanan parsial oksigen terhadap hemoglobin ditunjukkan berupa kurva sigmoidal yang mencerminkan efek kooperatif dalam pengikatan oksigen. Pergeseran kurva ke arah kanan (misalnya karena pengikatan CO, asam (pH rendah), temperatur naik atau adanya inhibitor 2,3-DPG) yang memudahkan pelepasan oksigen dari jaringan. Sebaliknya, pergeseran ke arah kiri kurva menunjukkan peningkatan afinitas hemoglobin terhadap oksigen dan menghambat pelepasan oksigen.

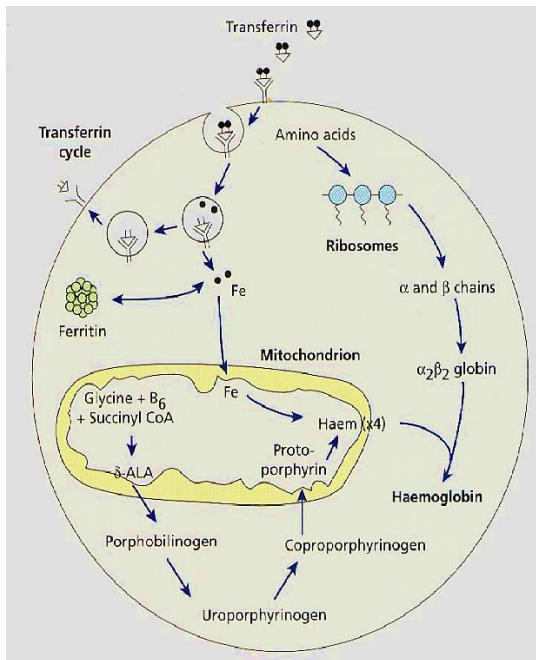
Dari kurva disosiasi oksigen terlihat, grafik yang menunjukkan hubungan seberapa mudah hemoglobin dapat mengikat molekul oksigen pada berbagai konsentrasi oksigen di dalam darah.



**Gambar 3.5** Hubungan Disosiasi Tekanan Parsial Oksigen dengan Hemoglobin

### C. Metabolisme Hemoglobin

Heme disintesis dari glisin dan suksinil -CoA dengan bantuan vitamin B6 dan terbentuk di dalam mitokondria sedangkan globin yang berasal dari poliribosom akan tersinkronisasi menjadi struktur hemoglobin.



**Gambar 3.6** Biosintesis hemoglobin dan transferin sebagai donor  $\text{Fe}^{2+}$

Setiap 120 hari sel darah merah akan pecah menghasilkan heme dan globin. Proses degradasi hemoglobin bebas terjadi pada haptoglobin yang ditangkap oleh makrofag. Selanjutnya haem bebas terikat pada hemopeksin. Hemoglobin pada sel darah merah (eritrosit) yang telah menua akan diambil kembali oleh makrofag. Selanjutnya di dalam makrofag retikulo endotelial, molekul globin dipecah dan dilepaskan sebagai asam amino bebas di dalam tubuh.

Kemudian heme akan kehilangan zat besinya dan diubah menjadi biliverdin, kemudian menjadi bilirubin. Bilirubin bersirkulasi terikat pada albumin untuk berkonjugasi di dalam hati. Bilirubin yang terkonjugasi selanjutnya disekresikan dan diubah menjadi urobilinogen di usus, kemudian menjadi stercobilinogen yang selanjutnya menjadi stercobilin. Urobilinogen juga dapat diserap kembali dan diekskresikan dalam urin sebagai urobilin. Sedangkan zat besi akan tersimpan

dalam retikulo endotelial sebagai feritin atau diekspor ke dalam sirkulasi sebagai transferin (Hashmi and Hashmi, 2017).

#### **D. Parameter Oksigen Darah**

Proses metabolisme sel dan jaringan senantiasa membutuhkan oksigen, namun perlu dibedakan pengertian oksigenasi dan oksidasi. Proses oksigenasi adalah penambahan oksigen ke suatu sistem, biasanya untuk memenuhi kebutuhan oksigen pada substansi atau organisme. Dalam konteks biologi, oksigenasi sering merujuk pada pengikatan oksigen oleh hemoglobin dalam darah, di mana darah mengambil oksigen dari paru-paru dan mengantarkannya ke seluruh tubuh. Oksigenasi penting dalam proses respirasi, sehingga sel-sel tubuh dapat menghasilkan energi melalui proses metabolisme aerobik (Bettati and Mozzarelli, 2011).

Pada sisi lain, proses oksidasi merupakan reaksi kimia, di mana sebuah substansi kehilangan elektron, yang biasanya dengan tambahan oksigen atau pengurangan kadar hidrogen. Dalam banyak kasus, oksidasi melibatkan pemecahan ikatan kimia dan biasanya menyebabkan peningkatan bilangan oksidasi suatu elemen. Oksidasi merupakan salah satu komponen dalam reaksi redoks (reduksi-oksidasi), di mana satu zat dioksidasi (kehilangan elektron) dan zat lainnya direduksi (mendapatkan elektron). Proses ini sangat penting dalam berbagai reaksi kimia, termasuk metabolisme energi dalam sel.

Jumlah terbanyak oksigen yang dikonsumsi per hari adalah 250 mL/min atau 360 L/hari. Adapun jumlah minimum oksigen yang disimpan 1,5 L yang hanya dapat bertahan selama 6 menit. Secara normal kadar hemoglobin pria adalah 14-16 g/dL dan pada wanita 13 - 15 g/dL, di bawah kondisi ini tergolong anemia (Hashmi and Hashmi, 2017).

Oksigen darah menjadi salah satu parameter yang sangat penting dalam mengevaluasi kesehatan sistem pernapasan (respirasi) dan sirkulasi. Oksigen dalam darah umumnya diukur melalui komposisi dan kadar oksigen yang terdapat dalam

darah arteri. Beberapa parameter dan kandungan utama yang terkait dengan oksigen darah antara lain:

### **1. Kandungan Oksigen**

Oksigen terlarut (dissolved oxygen), merupakan jumlah oksigen yang terlarut dalam plasma darah. Meskipun jumlahnya kecil, oksigen terlarut memiliki peran penting dalam fungsi tubuh.

Oksigen terikat hemoglobin, yaitu jumlah oksigen yang berikatan dengan hemoglobin dalam sel darah merah. Hal ini merupakan bentuk utama dari transportasi oksigen dalam darah. Sekitar 98% oksigen dalam darah diangkut dengan cara ini.

### **2. Saturasi Oksigen (SpO<sub>2</sub>)**

Merupakan persentase hemoglobin yang terikat dengan oksigen dibandingkan dengan total hemoglobin yang dapat mengikat oksigen. Normalnya, nilai saturasi oksigen berkisar antara 95% hingga 100%. Saturasi oksigen dapat diukur menggunakan pulse oximeter.

### **3. Tekanan Oksigen Parsial (PaO<sub>2</sub>)**

Merupakan pengukuran tekanan oksigen terlarut dalam darah arteri, yang diukur berdasar ukuran mmHg. Nilai normal PaO<sub>2</sub> berkisar antara 75 hingga 100 mmHg. Indeks PaO<sub>2</sub> memberikan gambaran tentang seberapa baik oksigen dapat memasuki darah dari paru-paru.

### **4. Kandungan Oksigen Total (CaO<sub>2</sub>):**

Merupakan jumlah keseluruhan oksigen yang terdapat dalam darah, baik yang terlarut maupun yang terikat dengan hemoglobin. CaO<sub>2</sub> dinyatakan dalam mL oksigen per 100 mL darah. Rumus untuk menghitung CaO<sub>2</sub> adalah:

$$CaO_2 = (Hb \times 1.34 \times SpO_2) + (PaO_2 \times 0.003)$$

di mana Hb adalah kadar hemoglobin dalam darah (g/dL); 1,34 merupakan kapasitas ikatan oksigen hemoglobin (mL O<sub>2</sub>/ gr Hb). SpO<sub>2</sub> : Saturasi oksigen. PO<sub>2</sub> : Tekanan

Parsial Oksigen (mmHg) dan 0,003 merupakan koefisien kelarutan Oksigen dalam plasma (mL O<sub>2</sub>/dL/mm Hg).

## **5. pH dan PCO<sub>2</sub>**

Meskipun bukan parameter langsung dari oksigen, pH dan tekanan karbon dioksida parsial (PCO<sub>2</sub>) dalam darah juga memberikan informasi penting tentang keseimbangan asam-basa serta efisiensi pertukaran gas di paru-paru.

Parameter-parameter ini sering sekali diukur dalam analisis gas darah (blood gas analysis), yang merupakan prosedur penting di rumah sakit untuk menilai status respirasi dan metabolisme seseorang. Dalam praktik klinis, pemantauan nilai oksigen darah sangat penting, terutama pada pasien dengan kondisi pernapasan atau kardiovaskular kronik (Sanagustin and Osredkar, 2026).

## DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, M.H., Ghatge, M.S., Safo, M.K. (2020). Hemoglobin: Structure, Function and Allostery. *Subcell Biochem*; 94: 345–382.
- Bettati, S., Mozzarelli, A. (2011). Hemoglobin Reactivity and Regulation. In. *Chemistry and Biochemistry of Oxygen Therapeutics: From Transfusion to Artificial Blood*. Mozzarelli., Bettati (Editor): 11-19. John Wiley & Sons.
- Hashmi, M.A., Hashmi, I.H. (2017). Heme Metabolism and Porphyrins. Sixth Edition. Paramount Books (Pvt) Ltd : 128 – 137.
- Helmkamp, G.M. (2005). Oxygen Transport. Dlm. *Medical Biochemistry*. Baynes, J.W dan Dominiczak, M.H. Editor. Second Edition. Elsevier Mosby: 35 – 48.
- Israels, L., Israels, E.D. (2002). Mechanism in Hematology. Third Edition. Core Health Services Inc. Canada.
- Napolitano, L.M. (2009). Hemoglobin-based Oxygen Carriers: First, Second or Third Generation? Human or Bovine? Where are we Now?. *Crit Care Clin*. 25 : 279–301.
- Sanagustin, M.N., Osredkar, J. (2026). Blood gas analysis: Clinical applications, interpretation and future directions (Review). *MEDICINE International* 6: 7 : 1-10.

# BAB 4

## METABOLISME BESI DAN REGULASI HOMEOSTASIS ERITROPOIESIS

dr. Muniroh, Sp.PK

### A. Pendahuluan

Besi merupakan unsur yang esensial bagi kelangsungan hidup hampir seluruh organisme hidup. Homeostasis besi tubuh dipertahankan melalui suatu sistem protein yang mengoordinasikan absorpsi besi di duodenum, proses daur ulang oleh makrofag retikuloendotelial (RE) dan pemanfaatan terutama oleh sel eritroid dan sel proliferaatif. Penyimpanan besi terjadi di hati dan sel RE (Correnti et al., 2022).

Dalam pembentukan hemoglobin, besi merupakan komponen utama. Tubuh memproduksi sekitar dua hingga 3 juta eritrosit setiap detik, yang memerlukan sekitar 30-40 mg besi untuk dikirim ke eritron guna membentuk sekitar 30 pg hemoglobin per sel dengan total produksi hemoglobin mencapai kurang lebih 6 g per hari. Sebagian besar kebutuhan besi harian untuk eritropoiesis berasal dari proses daur ulang besi heme oleh makrofag yang melakukan eritrofagositosis terhadap eritrosit tua. Proses eritropoiesis menjadi faktor dominan dalam metabolisme besi dan keduanya memiliki hubungan fisiologis yang sangat erat (Li & Ginzburg, 2010).

Defisiensi besi merupakan bentuk defisiensi mikronutrien yang paling sering ditemukan di seluruh dunia. Prevalensinya dapat melebihi 50% di negara berkembang dan umumnya berkaitan dengan asupan nutrisi yang tidak memadai. Defisiensi ini menyebabkan masalah kesehatan masyarakat, terutama

karena beratnya dampak yang ditimbulkan terhadap kesehatan pada aspek perkembangan mental dan fisik. Defisiensi besi juga dapat menyebabkan penurunan kapasitas kerja dan gangguan fungsi imun tubuh (Hassan et al., 2016).

## **B. Fisiologi Dasar Besi**

### **1. Peran Besi dalam Tubuh**

Fungsi utama besi adalah sebagai komponen heme dalam hemoglobin eritrosit. Besi memungkinkan hemoglobin mengikat dan mengangkut oksigen dari paru ke jaringan serta membawa sebagian karbon dioksida kembali ke paru. Sekitar dua pertiga besi tubuh berada dalam hemoglobin. Besi juga merupakan komponen mioglobin di otot, yang berfungsi menyimpan oksigen dan memfasilitasi penggunaannya selama kontraksi otot, terutama pada otot rangka dan miokard (Hoffbrand et al., 2024).

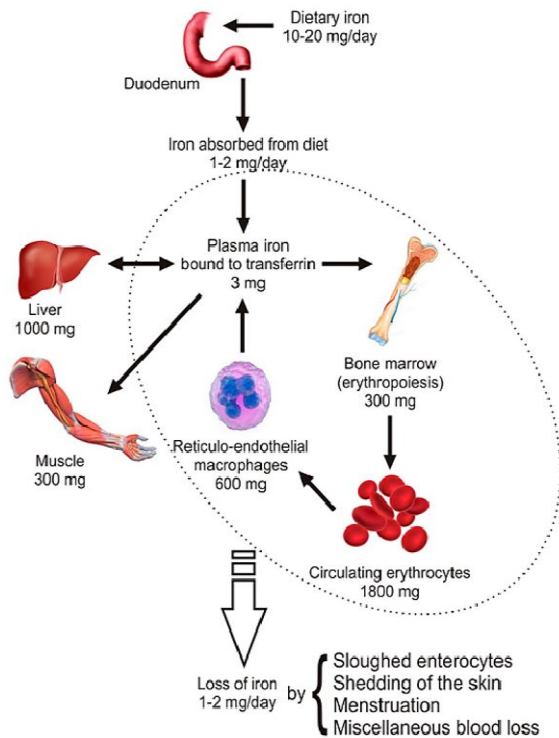
Selain itu, besi juga berperan sebagai kofaktor berbagai enzim seperti sitokrom dalam rantai transpor elektron mitokondria, katalase dan peroksidase, ribonucleotida reductase. Dalam hal ini, besi berperan penting dalam produksi energi seluler, proliferasi sel, dan metabolisme asam nukleat. Sebagai fungsi sistem imun dan sistem saraf, besi diperlukan untuk proliferasi limfosit, aktivitas fagosit, dan fungsi imun seluler. Selain itu, besi juga berperan dalam sintesis neurotransmitter dan perkembangan neurologis, sehingga defisiensi besi dapat menyebabkan gangguan kognitif dan perkembangan anak (Hoffbrand et al., 2024).

### **2. Distribusi Besi Tubuh**

Total kandungan besi tubuh berkisar sekitar 3–5 gram dengan dua pertiga terdapat dalam hemoglobin eritrosit. Distribusi besi tubuh dibagi menjadi beberapa kompartemen utama, yaitu besi fungsional, besi cadangan, dan besi transport. Besi fungsional terdiri dari hemoglobin eritrosit, yaitu sekitar 65–70%, mioglobin sekitar 5–10%, dan enzim yang mengandung besi sekitar <5%. Besi disimpan dalam bentuk cadangan sebagai feritin yang bersifat larut dan

mudah dimobilisasi, dan hemosiderin dalam bentuk tidak larut. Besi cadangan terutama terdapat di hati, makrofag sistem retikuloendotelial (RES), limpa, dan sumsum tulang. Besi transport terdapat pada plasma, diangkut oleh transferin dalam bentuk  $\text{Fe}^{3+}$ . Transferin mengantarkan besi terutama ke sumsum tulang untuk eritropoiesis (Hoffbrand et al., 2024).

Asupan besi harian dari makanan diperkirakan sekitar 10-20 mg, namun hanya sekitar 1-2 mg yang dapat diabsorpsi melalui usus. Jumlah yang sama juga hilang setiap hari melalui perdarahan dengan berbagai etiologi, deskuamasi kulit, serta pelepasan enterosit usus yang mengalami pergantian secara fisiologis (Lesjak & K. S. Srail, 2019)



**Gambar 4.1** Distribusi Besi Tubuh  
(Lesjak & K. S. Srail, 2019)

### 3. Kebutuhan Besi Harian

Kebutuhan besi harian tubuh relatif kecil dibandingkan dengan total cadangan besi tubuh, namun sangat penting untuk mempertahankan eritropoiesis normal dan mengganti kehilangan besi fisiologis setiap hari. Kebutuhan besi harian berbeda berdasarkan usia dan jenis kelamin dan dapat berubah sesuai dengan kondisi fisiologis tertentu. Pria dewasa kehilangan besi fisiologis sekitar  $\pm 1$  mg/hari yang terjadi melalui deskuamasi sel kulit, saluran cerna, keringat, dan urin dalam jumlah yang sedikit. Tubuh tidak memiliki mekanisme ekskresi aktif besi, sehingga absorpsi besi usus disesuaikan dengan jumlah kehilangan tersebut (Hall et al., 2026). Sehingga, angka kecukupan gizi besi untuk pria dewasa sekitar 8 mg per hari.(Harmening, 2024).

Kehilangan besi harian pada wanita dewasa lebih tinggi dibandingkan dengan pria dewasa, yaitu sekitar 1,3 mg/hari. Hal ini karena wanita dewasa mengalami menstruasi yang dapat menyebabkan kehilangan darah. Oleh karena itu, kebutuhan besi pada wanita lebih tinggi dibandingkan dengan pria untuk mempertahankan keseimbangan besi tubuh dan mendukung eritropoiesis yang normal. Secara fisiologis, kehilangan besi harian harus diimbangi dengan absorpsi besi di usus agar homeostasis besi tetap terjaga. Ketidakseimbangan antara kehilangan dan pemasukan besi yang terjadi dalam jangka panjang dapat menyebabkan penurunan cadangan besi tubuh (Hall et al., 2026). Angka kecukupan gizi besi untuk wanita dewasa (usia 19-50 tahun) sekitar 18 mg per hari (Harmening, 2024).

Untuk menggantikan eritrosit yang mengalami penuaan dan dihancurkan tersebut, tubuh memerlukan sekitar 20-30 mg besi per hari untuk mendukung sintesis hemoglobin dan pembentukan eritrosit baru. Namun, sebagian besar kebutuhan besi harian ini tidak berasal dari absorpsi usus, melainkan dari daur ulang besi hasil degradasi eritrosit tua (Harmening, 2024).

Wanita hamil mengalami peningkatan secara bermakna kebutuhan besi harian karena semasa hamil terjadi peningkatan massa eritrosit maternal, pertumbuhan janin dan perkembangan plasenta, serta cadangan besi untuk neonatus, sehingga total kebutuhan tambahan selama kehamilan dapat mencapai  $\pm 500\text{--}1000$  mg selama seluruh periode kehamilan. Kebutuhan besi harian pada anak dan remaja meningkat selama masa pertumbuhan cepat karena terjadi ekspansi volume darah dan peningkatan massa otot (Hall et al., 2026).

#### 4. Sumber Besi

Sumber besi dalam makanan ada dua bentuk utama, yaitu besi heme dan besi non-heme. Besi heme bersumber dari sumber pangan hewani dan merupakan komponen hemoglobin serta mioglobin. Sebaliknya, besi non-heme terdapat pada bahan pangan nabati maupun hewani dan merupakan bentuk besi yang paling banyak ditemukan dalam diet sehari-hari. Jenis makanan sebagai sumber besi antara lain daging merah, unggas, ikan dan makanan laut, kacang-kacangan, sayuran hijau, sereal yang difortifikasi, serta buah-buahan kering. Bioavailabilitas besi dalam makanan relatif rendah, sekitar 5-18%, tergantung pada bentuk besi yang dikonsumsi dan faktor-faktor lain yang memengaruhi absorpsinya di saluran cerna (Harmening, 2024).

Besi heme memiliki tingkat absorpsi lebih tinggi dibandingkan dengan besi non-heme karena lebih mudah diserap oleh enterosit usus dan relatif tidak dipengaruhi oleh komponen makanan lain. Sebaliknya, besi non-heme sangat dipengaruhi oleh berbagai faktor yang dapat meningkatkan maupun menghambat penyerapannya. Beberapa makanan yang dapat meningkatkan absorpsi besi, terutama besi non-heme, antara lain vitamin C (asam askorbat), daging, ikan, dan unggas (*meat factor*), dan lingkungan lambung yang asam. Vitamin C berperan dengan mereduksi besi feri ( $\text{Fe}^{3+}$ ) menjadi besi fero ( $\text{Fe}^{2+}$ ), yang merupakan bentuk yang lebih

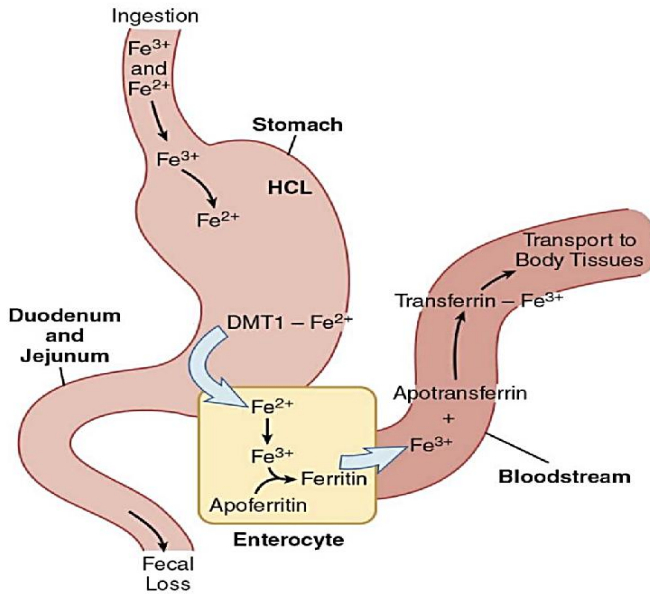
mudah diabsorpsi oleh mukosa usus. Sebaliknya, beberapa zat yang dapat menurunkan absorpsi besi antara lain: fitat, oksalat dalam beberapa jenis sayuran, tanin yang terdapat pada teh dan kopi, fosfat, kalsium dalam jumlah tinggi, dan antasida atau kondisi hipoklorhidria (Harmening, 2024).

### **C. Metabolisme Besi**

Metabolisme besi dan pemeliharaan cadangan besi tubuh diatur sangat ketat untuk menjaga homeostasis. Transport, penyimpanan, dan metabolisme besi dalam tubuh berlangsung melalui mekanisme yang terintegrasi untuk menjamin ketersediaan besi bagi berbagai proses fisiologis sekaligus mencegah terjadinya toksisitas akibat kelebihan besi. Dalam keadaan normal, jumlah besi yang masuk melalui makanan diabsorpsi di seluruh bagian usus halus maupun yang hilang dari tubuh relatif kecil. Sebagian besar kebutuhan besi tubuh dipenuhi melalui proses daur ulang yang berlangsung secara berkesinambungan. Setelah besi diabsorpsi di usus halus, besi segera berikatan dengan apotransferin, suatu  $\beta$ -globulin plasma yang disekresikan oleh hati ke dalam empedu yang kemudian dialirkan ke duodenum, membentuk transferin yang kemudian diangkut melalui sirkulasi menuju berbagai jaringan tubuh (Hall et al., 2026).

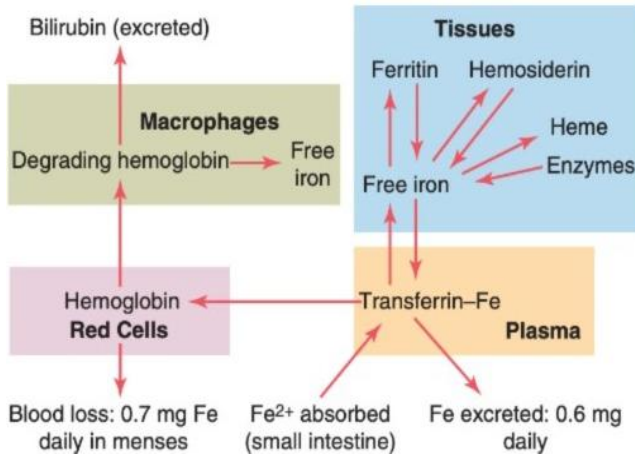
Proses absorpsi besi di saluran pencernaan, penyimpanannya di dalam enterosit, serta pengangkutannya oleh transferin menuju jaringan tubuh ditunjukkan pada Gambar 4.2.

### IRON (Fe) ABSORPTION AND TRANSPORT



**Gambar 4.2** Absorpsi dan Transport Besi  
(Harmening, 2024)

Ikatan antara besi dan transferin bersifat relatif longgar sehingga besi dapat dilepaskan dengan mudah dan dimanfaatkan oleh sel-sel yang memerlukannya, terutama prekursor eritroid di sumsum tulang untuk sintesis hemoglobin. Selain untuk eritropoiesis, besi juga digunakan dalam pembentukan mioglobin, berbagai enzim yang mengandung besi, serta komponen rantai transpor elektron. Jumlah besi yang melebihi kebutuhan jaringan akan disimpan terutama di dalam hepatosit dalam jumlah besar dan dalam jumlah kecil pada sel-sel sistem retikuloendotelial terutama makrofag sumsum tulang. Cadangan besi disimpan dalam bentuk feritin dan hemosiderin yang dapat dimobilisasi kembali ketika kebutuhan tubuh meningkat (Hall et al., 2026).



**Gambar 4.3** Transport dan Metabolisme Besi  
(Hall et al., 2026)

Sebagian besar besi tubuh berada dalam hemoglobin eritrosit. Ketika eritrosit mengalami penuaan dan dihancurkan oleh makrofag sistem retikuloendotelial terutama makrofag di limpa, hati, dan sumsum tulang. Hemoglobin akan dipecah menjadi globin, bilirubin, dan besi. Besi yang dilepaskan kemudian didaur ulang dan dikembalikan ke sirkulasi melalui transferin untuk digunakan kembali dalam proses eritropoiesis. Sebaliknya, bilirubin diekskresikan melalui hati sebagai produk akhir katabolisme heme (Hall et al., 2026).

Di dalam sitoplasma sel, besi terutama berikatan dengan protein apoferitin membentuk feritin yang merupakan bentuk utama penyimpanan besi intraseluler. Apoferitin memiliki berat molekul sekitar 460.000 Dalton dan mampu mengikat besi dalam jumlah yang bervariasi dalam bentuk agregat atom besi di dalam struktur proteinnya. Oleh karena itu, setiap molekul feritin dapat mengandung besi dalam jumlah yang sedikit maupun banyak, bergantung pada status cadangan besi tubuh. Besi yang tersimpan dalam bentuk feritin ini dikenal sebagai besi cadangan (*storage iron*) yang mudah dimobilisasi untuk memenuhi kebutuhan fisiologis tubuh (Hall et al., 2026)

Sebagian kecil cadangan besi dalam bentuk hemosiderin, yaitu kompleks penyimpanan besi yang sangat tidak larut. Hemosiderin terutama terbentuk ketika jumlah besi tubuh melebihi kapasitas penyimpanan yang dapat ditampung oleh apoferritin. Hemosiderin akan terakumulasi di dalam sel sebagai agregat besar yang dapat diamati menggunakan mikroskop cahaya dalam bentuk granula atau partikel kasar. Sebaliknya, partikel ferritin berukuran sangat kecil dan tersebar secara difus di dalam sitoplasma sel sehingga umumnya hanya dapat divisualisasikan dengan mikroskop elektron (Hall et al., 2026).

Ferritin berfungsi sebagai cadangan besi yang mudah tersedia untuk dimobilisasi kembali saat kebutuhan meningkat, sedangkan hemosiderin berperan sebagai bentuk penyimpanan jangka panjang yang relatif kurang mudah dimanfaatkan. Oleh karena itu, peningkatan deposisi hemosiderin sering dijumpai pada kondisi kelebihan besi (iron overload), sedangkan ferritin mencerminkan cadangan besi yang lebih dinamis dan aktif dalam menjaga homeostasis besi tubuh (Hall et al., 2026).

Jika kadar besi dalam plasma menurun, sebagian besi yang tersimpan dalam cadangan ferritin dapat dimobilisasi dengan mudah dan dilepaskan ke sirkulasi. Besi tersebut kemudian diangkut oleh transferin menuju jaringan yang memerlukan, terutama sumsum tulang sebagai lokasi utama eritropoiesis. Transferin mampu berikatan secara spesifik dengan reseptor transferin yang terdapat pada membran eritroblas. Setelah berikatan, kompleks transferin-besi memasuki eritroblas melalui proses endositosis yang dimediasi oleh reseptor (Hall et al., 2026).

Di dalam eritroblas, transferin melepaskan besi yang kemudian ditransportasikan ke mitokondria, tempat berlangsungnya sintesis heme sebagai komponen utama hemoglobin. Oleh karena itu, ketersediaan transferin yang adekuat sangat penting untuk menjamin pasokan besi ke sel-sel eritroid. Jika terjadi defisiensi transferin atau transport besi ke eritroblas, akan menghambat sintesis hemoglobin sehingga menyebabkan anemia hipokromik berat yang ditandai dengan

eritrosit yang memiliki kandungan hemoglobin lebih rendah dibandingkan dengan normal (Hall et al., 2026).

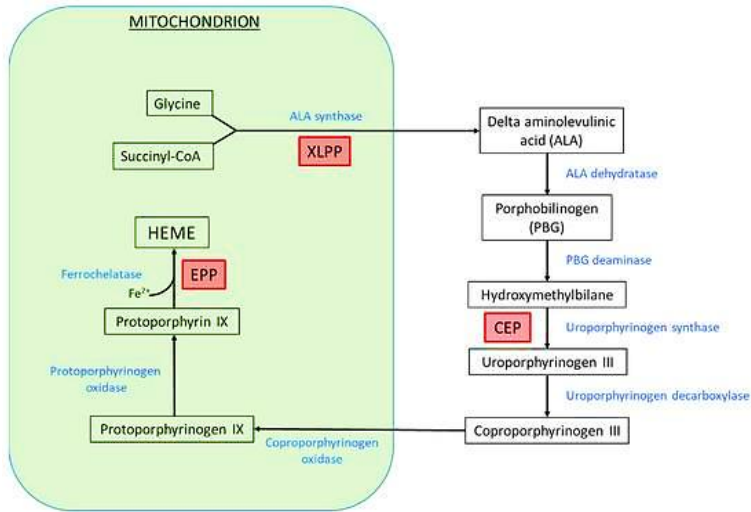
Setelah mencapai akhir masa hidup eritrosit, yaitu sekitar 120 hari, eritrosit akan didegradasi oleh sistem fagosit mononuklear di limpa, hati, dan sumsum tulang. Hemoglobin akan terlepas dari eritrosit, didegradasi, dan besi yang ada di dalamnya dibebaskan dan didaur ulang. Besi hasil katabolisme ini sebagian besar akan disimpan kembali dalam bentuk feritin di dalam makrofag dan dimobilisasi dalam bentuk transferin ke sumsum tulang sebagai bahan baku pembentukan hemoglobin pada eritropoiesis selanjutnya (Hall et al., 2026). Bagian porfirin dari molekul heme tidak didaur ulang menjadi besi, melainkan mengalami proses katabolisme bertahap di dalam makrofag hingga menghasilkan bilirubin yang selanjutnya akan dilepaskan ke sirkulasi darah, diangkut ke hati, dan diekskresikan melalui empedu menuju saluran cerna untuk dieliminasi oleh tubuh (Hall et al., 2026)

Mekanisme daur ulang besi sangat berperan dalam mempertahankan homeostasis besi di tubuh, karena sebagian besar kebutuhan besi harian untuk eritropoiesis berasal dari pemanfaatan kembali besi dari eritrosit tua, bukan dari absorpsi besi melalui saluran cerna (Hall et al., 2026).

#### **D. Regulasi Besi dalam Sintesis Hemoglobin**

Besi berperan dalam biosintesis heme dalam pembentukan hemoglobin. Sintesis protoporfirin merupakan tahap penting dalam biosintesis heme. Hal ini diawali di dalam mitokondria dengan sintesis protoporfirin melalui pembentukan asam  $\delta$ -aminolevulinat ( $\delta$ ALA). Senyawa ini dihasilkan dari kondensasi asam amino glisin dengan suksinil koenzim A (*succinyl-CoA*). Pembentukan  $\delta$ ALA dikatalisis oleh enzim mitokondria  *$\delta$ -aminolevulinat sintase* ( $\delta$ ALA synthase) yang aktivitasnya dipengaruhi oleh eritropoeitin (EPO), piridoksal fosfat yang merupakan bentuk aktif dari vitamin B6 sebagai kofaktor esensial. Pembentukan  $\delta$ ALA memiliki peran sentral dalam menentukan laju produksi heme di dalam sel

eritroid. Heme yang dihasilkan akan berikatan dengan rantai globin untuk membentuk hemoglobin (Harmening, 2024).



**Gambar 4.4** Sintesis Hemoglobin  
(Poli et al., 2021)

## E. Regulasi Besi dan Hpcidin

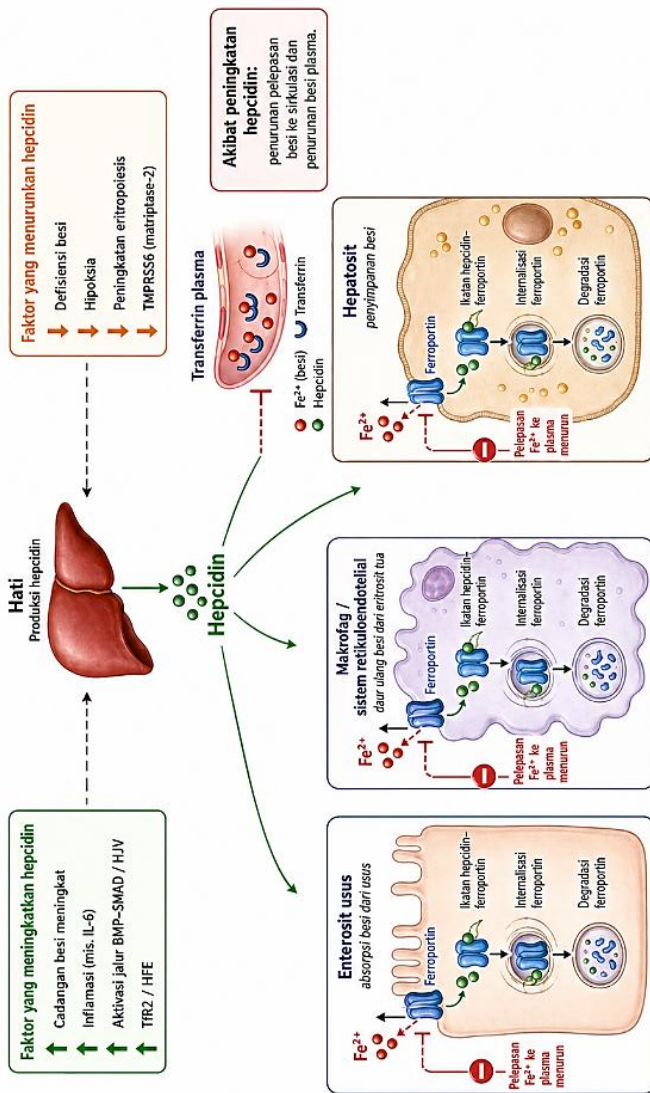
Laju transfer besi dari enterosit ke dalam aliran darah diatur ketat sesuai dengan cadangan besi dan kebutuhan fisiologis tubuh. Ketika cadangan besi tubuh rendah atau kebutuhan besi meningkat, seperti pada masa pertumbuhan, kehamilan, perdarahan, atau peningkatan eritropoiesis, pelepasan besi dari enterosit ke dalam darah akan meningkat untuk memenuhi kebutuhan jaringan. Sebaliknya, apabila cadangan besi tubuh mencukupi atau berlebih, transfer besi ke sirkulasi akan ditekan guna mencegah akumulasi besi yang berpotensi menimbulkan efek toksik (Harmening, 2024).

Pengaturan proses ini terutama dimediasi oleh sistem hepcidin-ferroportin. Hepcidin merupakan hormon peptida yang diproduksi oleh hati dan mengontrol aktivitas ferroportin. Hepcidin berikatan langsung dengan ferroportin, menyebabkan internalisasi dan degradasi protein tersebut, mengakibatkan pelepasan besi dari enterosit, makrofag, dan hepatosit ke dalam

sirkulasi berkurang, sehingga kadar besi plasma menurun. Dengan demikian, hepcidin berfungsi sebagai penghambat utama absorpsi dan mobilisasi besi dalam tubuh (Harmening, 2024).

Regulasi sintesis hepcidin merupakan suatu proses yang kompleks yang melibatkan berbagai molekul pengatur, di antaranya adalah jalur pensinyalan *bone morphogenetic protein-SMAD* (BMP-SMAD), hemojuvelin (HJV), reseptor transferin 1 dan 2 (TfR1 dan TfR2), serta matriptase-2 atau *transmembrane serine protease 6* (TMPRSS6). Jalur BMP-SMAD bersama HJV merupakan regulator utama yang mengendalikan ekspresi hepcidin di hati dan berperan penting dalam mempertahankan homeostasis besi sistemik. Ketika cadangan besi tubuh meningkat, terjadi aktivasi jalur ini yang akan merangsang produksi hepcidin sehingga absorpsi dan pelepasan besi ke sirkulasi ditekan. Sebaliknya, pada kondisi defisiensi besi atau peningkatan kebutuhan eritropoiesis, produksi hepcidin akan menurun sehingga ferroportin tetap aktif dan ketersediaan besi untuk jaringan meningkat (Harmening, 2024).

Sementara itu, TMPRSS6 berfungsi sebagai regulator negatif produksi hepcidin dengan menghambat aktivasi jalur BMP-SMAD melalui pemotongan HJV. Oleh karena itu, TMPRSS6 berperan penting dalam mencegah produksi hepcidin yang berlebihan dan memastikan ketersediaan besi yang memadai untuk eritropoiesis. Sehingga, Secara keseluruhan, sistem hepcidin-ferroportin merupakan mekanisme utama yang mengatur keseimbangan besi tubuh. Interaksi antara kedua molekul ini memungkinkan tubuh menyesuaikan absorpsi, penyimpanan, daur ulang, dan distribusi besi sesuai dengan kebutuhan fisiologis serta mencegah terjadinya defisiensi maupun kelebihan besi (Harmening, 2024).



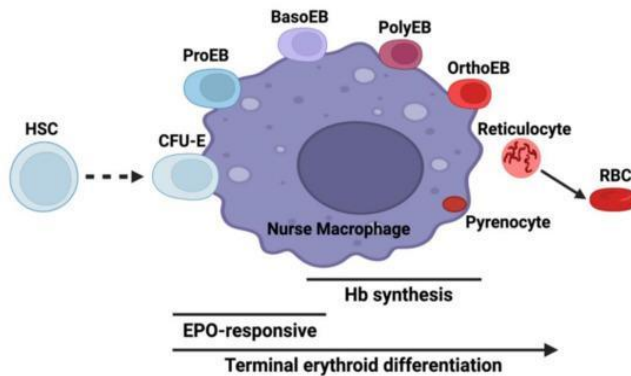
**Gambar 4.5** Regulasi Homeostasis Besi melalui Sistem Hepcidin-Ferroportin  
(Harmening, 2024)

## F. Eritropoiesis

Proses pembentukan eritrosit yang berlangsung di sinusoid sentral sumsum tulang medular yang berlangsung selama 5 hari, dirangsang oleh eritropoietin (EPO), yang menstimulasi proliferasi dan diferensiasi sel-sel prekursor eritroid. Prekursor eritroid mengalami sedikitnya tiga kali pembelahan selama proses maturasi, dimulai dari pronormoblas (rubrisit) yang berkembang menjadi normoblas basofili (prorubrisit), normoblas polikromatofilik (rubrisit), dan akhirnya normoblas ortokromatik (metarubrisit) (Harmening, 2024).

Setiap tahap perkembangan terjadi perubahan morfologi dan biokimia, antara lain penurunan ukuran sel, kondensasi kromatin inti, penurunan rasio inti terhadap sitoplasma, hilangnya nukleolus, berkurangnya kandungan asam ribonukleat (RNA) sitoplasma, penurunan jumlah mitokondria, serta peningkatan sintesis hemoglobin secara lengkap. Pada tahap normoblas ortokromatik (metarubrisit), inti sel mengalami kondensasi maksimal dan akhirnya diekstruksi keluar dari sel, yang akan menghasilkan sel eritroid muda tanpa inti, namun masih terdapat sisa RNA sitoplasma yang dikenal sebagai retikulosit (Harmening, 2024).

Retikulosit dilepaskan ke sirkulasi perifer dan akan mengalami pematangan menjadi eritrosit yang matur dalam waktu 1-2 hari. Pronormoblas akan menghasilkan 14-16 eritrosit. Eritropoiesis ditandai dengan dua proses utama yang berlangsung secara bersamaan, yaitu proliferasi seluler melalui pembelahan mitosis dan maturasi eritroid yang ditandai dengan peningkatan sintesis hemoglobin serta eliminasi inti sel, sehingga terbentuk eritrosit matur yang mampu menjalankan fungsi transport oksigen (Harmening, 2024).



**Gambar 4.6** Eritropoiesis  
(Medlock & Dailey, 2022)

Morfologi eritrosit matur sudah tidak memiliki inti sel , ribosom, dan mitokondria sehingga tidak mempunyai kemampuan untuk mensintesis hemoglobin, namun memiliki kemampuan mempertahankan viabilitas dan fungsinya selama berada dalam sirkulasi mikrovaskular. Agar dapat menjalankan fungsi secara efektif dalam mengangkut oksigen ke seluruh jaringan tubuh, eritrosit memiliki kemampuan mengalami perubahan bentuk tanpa mengalami kerusakan, terutama ketika melewati kapiler dan saluran mikrosirkulasi dengan diameter lebih kecil dari diameter eritrosit, sehingga distribusi oksigen ke jaringan optimal (Harmening, 2024).

## DAFTAR PUSTAKA

- Correnti, M., Gammella, E., Cairo, G., & Recalcati, S. (2022). Iron Mining for Erythropoiesis. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(10), 5341. <https://doi.org/10.3390/ijms23105341>
- Hall, J. E., Hall, M. E., & Guyton, A. C. (2026). *Guyton and Hall textbook of medical physiology* (15th edition). Elsevier.
- Harmening, D. (2024). *Clinical Hematology and Fundamentals of Hemostasis* (6th ed). F. A. Davis Company.
- Hassan, T. H., Badr, M. A., Karam, N. A., Zkaria, M., El Saadany, H. F., Abdel Rahman, D. M., Shahbah, D. A., Al Morshedy, S. M., Fathy, M., Esh, A. M. H., & Selim, A. M. (2016). Impact of iron deficiency anemia on the function of the immune system in children. *Medicine*, 95(47), e5395. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000005395>
- Hoffbrand, A. V., Chowdary, P., Collins, G., & Loke, J. (2024). *Hoffbrand's essential haematology* (Ninth edition). Wiley - Blackwell.
- Lesjak, M., & K. S. Srai, S. (2019). Role of Dietary Flavonoids in Iron Homeostasis. *Pharmaceuticals*, 12(3), 119. <https://doi.org/10.3390/ph12030119>
- Li, H., & Ginzburg, Y. Z. (2010). Crosstalk between Iron Metabolism and Erythropoiesis. *Advances in Hematology*, 2010, 605435. <https://doi.org/10.1155/2010/605435>
- Medlock, A. E., & Dailey, H. A. (2022). New Avenues of Heme Synthesis Regulation. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(13), 7467. <https://doi.org/10.3390/ijms23137467>
- Poli, A., Schmitt, C., Moulouel, B., Mirmiran, A., Puy, H., Lefèbvre, T., & Gouya, L. (2021). Iron, Heme Synthesis and Erythropoietic Porphyrins: A Complex Interplay. *Metabolites*, 11(12), 798. <https://doi.org/10.3390/metabo11120798>

# BAB 5

## PARAMETER HEMATOLOGI DAN INDEKS ERITROSIT BERBASIS OTOMASI

dr. Yona Mimanda, Sp.PK, MARS

### A. Pendahuluan

Pemeriksaan darah lengkap atau pemeriksaan hematologi merupakan salah satu pemeriksaan laboratorium yang paling sering diminta dalam layanan kesehatan, baik di unit gawat darurat, rawat jalan, maupun rawat inap. Pemeriksaan hematologi menyediakan informasi kuantitatif tentang jumlah dan karakteristik sel darah utama yaitu eritrosit, leukosit, dan trombosit, serta menjadi asesmen awal diagnostik untuk berbagai gangguan hematologi, infeksi, imunologi dan lainnya.<sup>1,2,3</sup> Pemeriksaan eritrosit memberikan informasi mengenai konsentrasi hemoglobin (Hb), jumlah eritrosit (RBC), hematokrit (Hct), serta indeks-indeks turunan seperti *mean corpuscular volume* (MCV), *mean corpuscular hemoglobin* (MCH), *mean corpuscular hemoglobin concentration* (MCHC), dan *red cell distribution width* (RDW). Indeks-indeks ini bukan sekadar deskriptor morfologi numerik, melainkan parameter dengan implikasi diagnostik, terapeutik, dan prognostik yang luas.<sup>4,5</sup>

Sebelum era otomasi, pemeriksaan hematologi dilakukan secara manual dengan kombinasi sentrifugasi mikrohematokrit untuk pemeriksaan hematokrit, spektrofotometri untuk Hb, hitung sel di kamar hitung Neubauer, serta pemeriksaan sediaan apus berwarna Romanowsky untuk morfologi dan diferensial leukosit.<sup>1,2,6</sup> Metode manual menuntut keterampilan tinggi dari teknolog medis, padat karya, dan memiliki ketelitian terbatas.

Sebagai contoh, hitung eritrosit manual memiliki *coefficient of variation* (CV) 10–20%, sedangkan alat pemeriksaan otomatis CV <2% pada parameter yang sama.<sup>1,3</sup> Akibatnya, transisi ke otomasi tidak hanya didorong oleh kebutuhan hasil pemeriksaan yang cepat, melainkan juga peningkatan ketepatan dan komparabilitas hasil antar laboratorium.

Awal era otomasi hematologi ditandai oleh penerapan prinsip impedansi listrik oleh Wallace H. Coulter pada akhir 1950-an dan awal 1960-an.<sup>1,3</sup> Prinsip ini masih dipakai hingga kini pada hampir semua alat hematologi yang memungkinkan penghitungan jumlah sel dan estimasi volume sel dilakukan satu per satu pada setiap sel darah. Dekade berikutnya, perkembangan terjadi melalui integrasi flowsitometri, *light scatter* laser, pewarnaan sitokimia intra-instrument (Siemens Advia), arus radiofrekuensi (Sysmex), dan *fluorescence-based discrimination* yang memungkinkan pelaporan parameter ekstensif seperti retikulosit imatur, hemoglobin retikulosit, persentase eritrosit hipokromik/mikrositik, *fragmented red cells*, dan *nucleated red blood cells* (NRBC).<sup>4</sup>

Buttarello dan Plebani<sup>4</sup> menggarisbawahi bahwa interpretasi yang tepat dari hasil pemeriksaan hematologi menuntut pengetahuan yang luas tentang kinerja analitik instrumen serta makna klinis tiap parameter. Hasil otomatis yang dilaporkan tidak hanya berisi nilai numerik, melainkan juga sinyal kualitatif berupa *flags* yang menunjukkan adanya masalah teknis, seperti malafungsi atau adanya interferensi analitik, maupun keberadaan sel abnormal di darah tepi, seperti sel blas, limfosit atipik, granulosit imatur, dan NRBC. Alat hematologi terkini juga mampu menampilkan histogram, scattergram, dan cytogram yang menjadi alat bantu interpretasi proses eritropoiesis.

Perkembangan paling mutakhir adalah integrasi morfologi digital dan kecerdasan buatan. Instrumen seperti CellaVision DM9600, CellaVision DC-1, dan Mindray MC-80 melakukan pemindaian otomatis sediaan apus, klasifikasi sel menggunakan jaringan saraf konvolusional (*convolutional*

neural network, CNN), serta menyajikan galeri citra untuk verifikasi oleh ahli teknologi medis atau dokter patologi klinik.<sup>8,9,10</sup> Kemampuan ini mengaburkan batas tradisional antara pemeriksaan numerik dan pemeriksaan morfologi, sehingga memungkinkan integrasi dari aspirasi sampel hingga klasifikasi morfologi akhir.

Bab ini menyajikan tinjauan pustaka komprehensif tentang parameter hematologi dan indeks eritrosit berbasis otomasi, dengan fokus eksklusif pada eritrosit. Pembahasan dimulai dari tinjauan singkat fisiologi eritrosit (2.2), dilanjutkan dengan metode manual sebagai pembanding (2.3), prinsip-prinsip otomasi (2.4), karakteristik platform utama (2.5), parameter eritrosit dasar dan ekstensif (2.6), interpretasi grafik (2.7), *quality assurance* dan standardisasi (2.8), keterbatasan dan interferensi (2.9)

## **B. Eritrosit**

### **1. Morfologi dan Komposisi**

Eritrosit (*red blood cell*, RBC) adalah sel darah anukleat berbentuk cakram bikonkaf dengan diameter rerata 7–8  $\mu\text{m}$ , tebal 2  $\mu\text{m}$  di pinggir dan 1  $\mu\text{m}$  di bagian tengah, serta volume sekitar 80–100 fL pada dewasa sehat.<sup>6</sup> Bentuk bikonkaf memberikan rasio luas permukaan terhadap volume yang optimal untuk pertukaran gas dan deformabilitas yang memungkinkan eritrosit melewati kapiler dengan diameter lebih kecil dari diameternya sendiri ( $\sim 3 \mu\text{m}$ ). Membran sel eritrosit memiliki sitoskeleton spektrin-aktin yang elastis serta protein integral (band 3, glikoforin) yang mempertahankan integritas mekanik selama 120 hari masa hidupnya.

Komponen intraseluler utama eritrosit adalah hemoglobin, protein konjugasi yang terdiri dari empat subunit globin (dua  $\alpha$  dan dua  $\beta$  pada HbA dewasa) dengan masing-masing satu gugus heme yang mengandung besi divalen ( $\text{Fe}^{2+}$ ). Konsentrasi Hb intraseluler eritrosit normal berkisar antara 32–36 g/dL, dan setiap gram Hb yang

tersaturasi penuh dapat mengangkut 1,34 mL oksigen.<sup>6</sup> Massa sel darah merah dewasa mengandung sekitar 600 g Hb, mampu mengangkut hingga 800 mL oksigen. Fungsi sekunder eritrosit adalah pengangkutan CO<sub>2</sub> sebagai bikarbonat melalui aksi anhidrase karbonat intraseluler serta modulasi keseimbangan asam-basa.

## 2. Eritropoiesis dan Proses Pematangan Eritrosit

Eritrosit matur berasal dari proses eritropoiesis yang berlangsung di sumsum tulang merah. Eritropoiesis dimulai dari sel induk hematopoietik (*hematopoietic stem cell*, HSC) pluripoten yang berdiferensiasi melalui sel progenitor mieloid umum (*common myeloid progenitor*), kemudian menjadi *burst-forming unit-erythroid* (BFU-E), *colony-forming unit-erythroid* (CFU-E), proeritroblas, eritroblas basofilik, eritroblas polikromatik, dan akhirnya eritroblas ortokromatik.<sup>5</sup> Pada tahap terakhir, eritroblas mengekstrusi intinya, menghasilkan retikulosit yang masih mengandung sisa RNA ribosomal dan organela. Retikulosit muda bermigrasi ke sirkulasi darah tepi, bertahan 1–2 hari sebelum matang penuh menjadi eritrosit dewasa. Eritropoietin (EPO), sebuah hormon glikoprotein yang sebagian besar diproduksi sel peritubular ginjal sebagai respons terhadap hipoksia, merupakan regulator utama eritropoiesis melalui interaksi dengan reseptor EPO pada CFU-E dan proeritroblas.

Pemahaman fisiologi eritropoiesis ini menjadi dasar interpretasi parameter eritrosit otomatis. MCV mencerminkan volume rerata eritrosit; nilai rendah (mikrositosis) lazim pada defisiensi besi, thalassemia, dan anemia kronis tertentu, sementara nilai tinggi (makrositosis) lazim pada defisiensi B12/folat, hipotiroid, dan sindrom mielodisplastik (MDS). MCH dan MCHC mencerminkan kandungan dan konsentrasi Hb intraseluler. RDW menggambarkan heterogenitas ukuran (anisositosis) dan peningkatan dini RDW dapat mendahului perubahan MCV pada defisiensi nutrisi.<sup>4,5,11</sup> Hitung retikulosit absolut dan parameter retikulosit ekstensif (RET-He, IRF) memberikan

gambaran tentang aktivitas dan kualitas eritropoiesis pada saat pengukuran.

### **3. Nilai Rujukan**

Nilai rujukan parameter eritrosit bergantung pada usia, jenis kelamin, etnis, ketinggian tempat tinggal, dan alat hematologi yang digunakan. Rentang yang sering dirujuk pada dewasa sehat antara lain: Hb 13,5–17,5 g/dL (laki-laki) dan 12,0–16,0 g/dL (perempuan); RBC  $4,5\text{--}5,9 \times 10^{12}/\text{L}$  (laki-laki) dan  $4,0\text{--}5,2 \times 10^{12}/\text{L}$  (perempuan); Hct 41–53% (laki-laki) dan 36–46% (perempuan); MCV 80–100 fL; MCH 27–33 pg; MCHC 32–36 g/dL; RDW-CV 11,5–14,5%.<sup>2,6</sup> Setiap laboratorium wajib menetapkan rentang rujukan lokal sesuai populasi pasien dan instrumen yang dipakai, sebagaimana direkomendasikan oleh CLSI EP28-A3c dan ICSH.<sup>5</sup>

## **C. Metode Manual sebagai Pemeriksaan Pemanding**

Pemeriksaan hematologi di negara maju secara keseluruhan telah menggunakan alat hematologi otomatis, namun metode manual tetap relevan dengan setidaknya empat alasan: (1) sebagai metode pemanding untuk kalibrasi alat hematologi otomatis, (2) sebagai prosedur cadangan ketika alat hematologi otomatis mengalami gangguan, (3) sebagai metode konfirmasi untuk hasil yang mendapat perhatian khusus, flag atau sangat ekstrem, dan (4) sebagai metode pengajaran yang membantu pemahaman prinsip pengukuran.<sup>2,6</sup> Pemahaman terhadap metode manual juga penting untuk menafsirkan asal-usul dan keterbatasan parameter turunan pada analyzer otomatis.

### **1. Hemoglobinometri: Metode Cyanmethemoglobin (HiCN)**

International Council for Standardisation in Haematology (ICSH) menetapkan metode haemiglobincyanide (HiCN, cyanmethemoglobin) sebagai metode rujukan internasional untuk pengukuran konsentrasi Hb. Pada metode ini, eritrosit dilisiskan dalam reagen Drabkin yang mengandung kalium ferrisianida (mengoksidasi  $\text{Fe}^{2+}$  Hb menjadi  $\text{Fe}^{3+}$  haemiglobin) dan kalium

sianida (mengubah haemoglobin menjadi HiCN yang stabil). Absorbansi HiCN dibaca pada panjang gelombang 540 nm.<sup>2</sup> Keunggulan metode HiCN antara lain hampir semua derivatif Hb dalam darah (HbO<sub>2</sub>, HbCO, HbMet, dan Hb tereduksi) dikonversi menjadi satu bentuk yang stabil (kecuali sulfhemoglobin), sehingga hasilnya tidak bergantung pada proporsi awal masing-masing derivatif. Standar HiCN internasional di oleh ICSH dan menjadi acuan kalibrasi global. Keterbatasan utama pemeriksaan ini dimana reagen mengandung sianida (toksik) yang menuntut perlakuan limbah B3 khusus.

Alternatif modern non-sianida yang digunakan oleh alat hematologi otomatis adalah sodium lauryl sulfate (SLS-Hb), yang diperkenalkan oleh Sysmex. SLS melisiskan eritrosit dan mengubah Hb menjadi SLS-methemoglobin, yang kemudian dibaca pada panjang gelombang 555 nm. Metode ini menghasilkan hasil yang setara dengan HiCN namun lebih aman secara lingkungan.<sup>2,3</sup> Selain itu terdapat direct spectrometry, hemoglobinometer portabel dengan immobilized azide-methemoglobin (HemoCue), serta colour comparator (Lovibond), yang umumnya digunakan untuk pemeriksaan hematologi di lapangan atau POCT.

## **2. Hematokrit (*Packed Cell Volume, PCV*)**

Pemeriksaan mikrohematokrit dilakukan dengan sentrifugasi sampel darah dalam tabung kapiler dengan antikoagulan heparin berukuran 75 × 1,1-1,3 mm pada 10.000-12.000 g selama 5 menit. Volume kolom eritrosit terkemas dibagi panjang total kolom darah memberikan nilai hematokrit. Bull et al.<sup>14</sup> sejalan dengan ICSH yang menetapkan metode referensi pengganti untuk mikrohematokrit dengan memperhitungkan *trapped plasma* (~1,5-3% untuk eritrosit normal, lebih tinggi pada sferositosis dan sickle cell) yang terjebak di antara sel-sel dan menyebabkan mikrohematokrit sedikit lebih tinggi daripada hematokrit yang sebenarnya. Pada alat hematologi otomatis, Hematokrit dihitung dari  $MCV \times RBC \times 0,1$ , sehingga tidak

dipengaruhi *trapped plasma*; konsekuensinya hematokrit otomatis umumnya 2–3% lebih rendah dari mikrohematokrit pada sampel yang sama.

### 3. Hitung Eritrosit di Kamar Hitung Neubauer

Hitung eritrosit secara manual menggunakan kamar hitung *improved Neubauer* dengan pengenceran darah 1:200 dalam larutan Hayem atau formal-citrate-saline. Eritrosit dihitung pada lima kotak berukuran 0,2 × 0,2 mm dengan kedalaman 0,1 mm di bagian tengah kamar hitung. Rumus RBC (×10<sup>12</sup>/L) sama dengan jumlah sel terhitung × 0,01 × pengenceran × 10<sup>6</sup> / volume kotak. Akibat jumlah eritrosit yang besar, CV pada perhitungan manual mencapai 10–20%.<sup>2</sup> Pada era otomasi, hitung manual eritrosit hampir tidak pernah digunakan untuk pelaporan rutin, saat ini, aplikasinya terbatas pada validasi metode dan pemeriksaan cairan tubuh (CSF atau cairan sendi dan lainnya) dengan alat hematologi otomatis yang tidak divalidasi untuk matriks tersebut.

### 4. Kalkulasi Indeks Eritrosit Manual (Wintrobe)

Sebelum era otomasi, Wintrobe (1934) memperkenalkan tiga indeks eritrosit yang dihitung dari Hb, RBC, dan Hct:

**Tabel 5.1** Rumus Perhitungan Indeks Eritrosit

| Parameter   | Rumus                                         | Satuan | Rentang normal dewasa |
|-------------|-----------------------------------------------|--------|-----------------------|
| <b>MCV</b>  | [Hct (%) × 10] / RBC (×10 <sup>6</sup> /μL)   | fL     | 80–100 fL             |
| <b>MCH</b>  | [Hb (g/dL) × 10] / RBC (×10 <sup>6</sup> /μL) | pg     | 27–33 pg              |
| <b>MCHC</b> | [Hb (g/dL) × 100] / Hct (%)                   | g/dL   | 32–36 g/dL            |

Pendekatan kalkulasi ini rentan ketidaksesuaian karena bergantung pada tiga pengukuran independen, masing-masing dengan ketidakpastiannya sendiri. Pada alat hematologi otomatis modern, MCV diukur langsung sel demi sel pada kanal impedansi atau light scatter, sehingga MCV

menjadi parameter primer, sedangkan Hct serta MCH dan MCHC menjadi turunan. Konsekuensinya, ketelitian MCV otomatis jauh melampaui MCV manual, dan diskrepansi antara MCV otomatis dan rerata morfologi eritrosit pada sediaan apus harus mendorong investigasi, misalnya pada kasus autoaglutinasi.<sup>4,12</sup>

## **5. Hitung Retikulosit dengan Pewarnaan Supravital**

Hitung retikulosit manual menggunakan pewarnaan supravital, biasanya *new methylene blue* atau *brilliant cresyl blue*, yang mengikat dan mengendapkan sisa RNA ribosomal dalam retikulosit menjadi struktur granular berwarna biru. Sampel diinkubasi dengan reagen pada rasio 1:1, didiamkan 15 menit pada 37°C, kemudian dibuat sediaan apus dan dievaluasi dengan objektif 100× imersi. Minimal 1.000 eritrosit dihitung dan jumlah sel yang mengandung minimal dua granul biru diakui sebagai retikulosit, dilaporkan sebagai persentase relatif terhadap total eritrosit dewasa.<sup>2</sup> CV hitung retikulosit manual sangat besar (25–50% pada nilai rendah) akibat rasio retikulosit/eritrosit yang kecil (~1–2%), subjektivitas pengamat, dan keterbatasan jumlah sel yang terhitung. Buttarello dan Plebani<sup>4</sup> mencatat bahwa ketidakakuratan metode manual menjadi pendorong utama pengembangan hitung retikulosit otomatis berbasis flowsitometri yang dapat menghitung 30.000–50.000 sel per pengukuran dengan CV <5%.

## **6. Sediaan Apus Darah Tepi**

Pemeriksaan sediaan apus tetap menjadi baku emas morfologi eritrosit. Sediaan dibuat dengan metode wedge (kaca objek) atau coverslip, kemudian diwarnai dengan pewarnaan Romanowsky (Wright, Giemsa, May-Grünwald-Giemsa) yang menggabungkan eosin (asam) dan azure-methylene blue (basa). Pada eritrosit normal, sitoplasma berwarna oranye kemerahan dengan area pusat lebih pucat (central pallor) sekitar 1/3 diameter sel. Morfologi abnormal yang dievaluasi mencakup ukuran (anisositosis seperti mikrositosis, makrositosis), bentuk (poikilositosis seperti

*target cells*, sferosit, eliptosit, skistosit, *sickle cells*, dakriosit), warna (hipokromia, polikromasia), serta inklusi (*Howell-Jolly bodies*, *basophilic stippling*, parasit malaria, *Heinz bodies* dengan pewarnaan supravital).<sup>6,28</sup> Sediaan apus juga dievaluasi untuk hitung jenis leukosit dan estimasi platelet. *International Consensus Group for Hematology Review* (2005) menetapkan 41 kriteria flagging dan review sediaan apus yang menjadi standar global.<sup>4</sup>

#### **D. Prinsip Alat Hematologi Otomatis**

Alat hematologi otomatis adalah instrumen multi-channel yang menggabungkan beberapa prinsip fisik untuk memperoleh informasi yang berbeda tentang setiap sel yang dianalisis. Buttarello dan Plebani<sup>4</sup> merangkum bahwa setiap produsen alat memilih kombinasi prinsip yang berbeda untuk memaksimalkan akurasi pada setiap parameter. Penjelasan berikut merangkum enam prinsip utama yang menjadi tulang punggung alat hematologi otomatis modern.

##### **1. Prinsip Impedansi Listrik**

Prinsip impedansi dikembangkan oleh Wallace Coulter pada 1953 dan masih dipakai pada sebagian besar alat hematologi untuk menghitung eritrosit, platelet, dan dasar MCV. Pada konfigurasi ini, sel-sel yang tersuspensi dalam larutan elektrolit konduktif (saline isotonik) dipompa melalui apertur kecil (~70  $\mu\text{m}$  diameter, 100  $\mu\text{m}$  panjang) yang dipasang di antara dua elektroda. Arus listrik konstan dialirkan di antara kedua elektroda. Ketika sebuah sel melewati apertur, yang merupakan sensing zone, sel menggantikan sejumlah volume elektrolit, menyebabkan peningkatan resistansi (impedansi) sesaat yang sebanding dengan volume sel. Pulsa tegangan yang dihasilkan dideteksi, dihitung sebagai satu sel, dan tinggi pulsa dipetakan ke histogram volume.<sup>1,3</sup>

Pengaturan ambang batas (*threshold*) diskriminasi merupakan aspek yang krusial. Pada eritrosit, sel-sel dengan volume 36–360 fL umumnya dihitung sebagai eritrosit,

sedangkan partikel <30 fL dikategorikan sebagai trombosit. Ambang batas ini dapat divariasikan untuk mengakomodasi populasi sel abnormal seperti mikroeritrosit. Prinsip impedansi memiliki keterbatasan:

- a. *Coincidence* (dua sel melewati apertur bersamaan), dikoreksi dengan algoritma matematis berdasarkan teori probabilitas;
- b. *Recirculation* (sel yang sama terbaca dua kali), dikoreksi dengan *sweep flow*; dan
- c. Sel yang melewati apertur sejajar sumbu (aksial) dan diluar (eksentris), diatasi dengan *hydrodynamic focusing* pada alat hematologi modern.

Beberapa platform (Sysmex, Coulter) menambahkan apertur kedua dengan pengeditan elektronik untuk meningkatkan akurasi.<sup>1,3</sup>

## **2. Arus Radiofrequency (RF) dan Konduktivitas**

Pada beberapa platform seperti Sysmex XE-series, Beckman Coulter dengan VCS technology, arus DC impedansi dikombinasikan dengan arus bolak-balik berfrekuensi tinggi (radio-frequency, RF). Arus DC tidak dapat menembus membran sel yang utuh sehingga sinyalnya mencerminkan volume eksternal. Arus RF, dengan frekuensi yang cukup tinggi (~5 MHz), dapat menembus membran dan dipengaruhi oleh sifat-sifat intraseluler seperti densitas internal, rasio inti/sitoplasma, kompleksitas granular, serta kandungan organel.<sup>1,3</sup> Kombinasi DC dan RF digunakan terutama untuk diferensiasi subpopulasi leukosit (limfosit, monosit, granulosit) serta identifikasi NRBC dan IG (*immature granulocytes*). Pada Beckman Coulter, VCS (*Volume, Conductivity, Scatter*) menambahkan dimensi ketiga berupa *median angle light scatter* untuk klasifikasi sel yang lebih akurat.

### 3. Laser (*Optical Light Scatter*)

Flowsitometri berbasis sinar laser menggunakan hidrodinamik focusing untuk mengarahkan sel-sel melalui sinar laser satu per satu pada kecepatan tinggi. Saat sel menghamburkan cahaya, sinyal pada beberapa sudut deteksi dianalisis: *forward scatter* (FSC, sudut rendah 2–5°) berkorelasi dengan volume sel; *side scatter* (SSC, ~90°) berkorelasi dengan kompleksitas internal/granularitas; *high-angle scatter* (~5–15°) dapat mengukur indeks refraksi yang berkorelasi dengan konsentrasi protein intraseluler.<sup>1,3,4</sup>

Platform Siemens Advia menerapkan *Mie scattering theory* (teori hamburan Mie) untuk mengukur volume dan konsentrasi Hb selular eritrosit secara simultan dari sinyal FSC sudut rendah dan tinggi. Pendekatan ini memungkinkan pelaporan MCHC sel demi sel, sebuah keunggulan karena pada alat hematologi otomatis konvensional, MCHC merupakan parameter turunan dari Hb/Hct. Pengukuran sel demi sel ini juga menjadi dasar parameter %Hypochromic dan %Hyperchromic, platform Advia memperkenalkan lebih awal dibandingkan dengan parameter setara pada platform lain.<sup>4,7</sup>

### 4. Flowsitometri Berbasis Fluoresensi

Penambahan pewarna asam nukleat memungkinkan diferensiasi sel berdasarkan kandungan RNA (retikulosit) atau DNA (NRBC, blas, sel imatur). Pewarna yang digunakan bervariasi, Sysmex memakai polymethine dan oxazine berfluoresensi yang dikombinasikan dengan *permeabilizing surfactant*, sedangkan Abbott CELL-DYN dan Horiba menggunakan thiazole orange yang mengikat RNA dan DNA secara nonspesifik. Pada sitogram dua dimensi, intensitas *side fluorescence* (SFL) dipetakan terhadap *side scatter* (SSC). Berdasarkan intensitas fluoresensinya, retikulosit diklasifikasikan menjadi tiga fraksi maturasi, yaitu *low fluorescence reticulocytes* (LFR) yang merupakan retikulosit paling matur, *middle fluorescence reticulocytes* (MFR), dan *high fluorescence reticulocytes* (HFR) yang merupakan retikulosit

paling imatur. IRF (immature reticulocyte fraction) = MFR + HFR.<sup>4,15</sup>

*Channel* fluoresensi juga digunakan untuk identifikasi NRBC setelah dilisiskan secara selektif yang menghilangkan eritrosit matur, NRBC tetap teridentifikasi melalui kombinasi pewarnaan inti dan *light scatter* rendah. Validasi hitung NRBC otomatis terhadap referensi mikroskopik penting dilakukan terutama pada populasi neonatal dan pediatrik. Brunner-Ziegler et al.<sup>24</sup> memvalidasi hitung NRBC Sysmex XN-1000 pada anak <1 tahun dan menunjukkan korelasi yang baik dengan mikroskopik, dengan beberapa diskrepansi pada nilai rendah ekstrem yang umum pada bayi sehat.

## 5. Sitokimia

Platform Siemens Advia adalah satu-satunya yang masih menggunakan sitokimia peroksidase intra-instrumen secara rutin. Pada channel ini, eritrosit dilisiskan, leukosit difiksasi, dan diberi substrat (4-chloro-1-naphthol + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) yang dioksidasi oleh peroksidase intraseluler menjadi pigmen yang menyerap cahaya. Granulosit (peroksidase-positive) terpisah dari monosit (peroksidase weak-positive) dan limfosit (peroksidase-negative). Channel basofil/lobularity terpisah menggunakan asam phthalic yang melisiskan sebagian besar leukosit kecuali basofil dan sel mononuklear besar (blas).<sup>4</sup> Pendekatan sitokimia memberikan informasi morfologi-imunokimia yang unik namun memerlukan reagen yang lebih kompleks dibanding kompetitor.

## E. Karakteristik Platform Alat Hematologi Utama

Empat platform alat hematologi mendominasi pasar global, yaitu Beckman Coulter, Sysmex, Siemens Healthineers (Advia), dan Abbott. Horiba ABX dan beberapa pabrikan regional (Mindray, Nihon Kohden) juga memiliki pangsa pasar yang signifikan terutama di Asia.<sup>11,12</sup> Tiap platform menggunakan kombinasi prinsip pengukuran yang berbeda, sehingga konsekuensinya parameter ekstensif yang dilaporkan

tidak selalu setara antara instrumen, sehingga komparabilitas hasil antar laboratorium harus diverifikasi sebelum interpretasi serial.

**Tabel 5.2** Karakteristik Prinsip Pengukuran Alat Hematologi

| <b>Platform / Seri</b>                        | <b>Prinsip Pengukuran Dominan</b>                                                                                                       | <b>Parameter Khas Eritrosit</b>                                                                              |
|-----------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Beckman Coulter<br>– LH-750, DxH 800, DxH 900 | Impedansi DC, konduktivitas (RF), <i>light scatter</i> (VCS technology); flowsitometri dan <i>light scatter</i> laser untuk retikulosit | MCV, MCH, MCHC, RDW-CV, %Ret, IRF, MRV                                                                       |
| Sysmex – XE-2100, XE-5000, XN-1000/2000/9000  | Impedansi DC + RF, flowsitometri fluoresensi (polymethine/oxazine), SLS-Hb spektrofotometri                                             | MCV, MCH, MCHC, RDW-CV/SD, RET-He, IRF, %Hypo-He, %Hyper-He, %Micro-R, %Macro-R, Delta-He, FRC#, FRC%, NRBC# |
| Siemens Healthineers Advia 120, 2120, 2120i   | Sitokimia peroksidase, basofil, <i>Mie scattering</i> laser dua sudut untuk volume dan konsentrasi Hb selular                           | MCV, CHCM (selular), RDW, HDW (Hb distribution width), CHr, %Hypo, %Hyper, %Micro, %Macro                    |
| Abbott CELL-DYN Sapphire, Alinity hq          | Impedansi, MAPSS ( <i>Multi-Angle Polarized Scatter Separation</i> ), fluoresensi (retikulosit, NRBC, <i>viability</i> )                | MCV, MCH, MCHC, RDW, %Retic, IRF, MCVr, NRBC                                                                 |

| Platform / Seri                | Prinsip Pengukuran Dominan                                                   | Parameter Khas Eritrosit                                   |
|--------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|
| Horiba ABX Pentra DX 120/Nexus | Impedansi DC, light scatter laser, fluoresensi thiazole orange               | MCV, MCH, MCHC, RDW, %Retic, IRF, NRBC                     |
| Mindray BC-5180, BC-6800Plus   | Impedansi, light scatter, fluoresensi (SF Cube technology pada seri BC-6800) | MCV, MCH, MCHC, RDW, %Retic, IRF, %Micro, %Macro (BC-6800) |

Sumber: dikompilasi dari Davis & Barnes,

Bruegel et al.<sup>11</sup> melakukan studi perbandingan komprehensif (2015) dengan menganalisis 349 sampel rumah sakit pada lima alat hematologi (Abbott Cell-Dyn Sapphire, Beckman Coulter DxH 800, Siemens Advia 2120i, Sysmex XE-5000, Sysmex XN-2000). Mereka menemukan korelasi yang sangat baik untuk parameter dasar pemeriksaan hematologi (Hb, RBC, Hct, MCV) dengan koefisien korelasi  $r > 0,98$  pada seluruh perbandingan berpasangan. Namun, disparitas yang lebih besar muncul pada parameter yang bersifat ekstensif. Perhitungan NRBC menunjukkan kesepakatan sedang antar instrumen, sedangkan kualitas *flagging* sel blast terbaik pada XN-2000 (sensitivitas 97%) dan lebih rendah pada empat instrumen lainnya (65–76%). Implikasi praktis, laboratorium yang mengganti platform harus melakukan studi verifikasi dan bila perlu menetapkan rentang rujukan baru untuk parameter ekstensif.

Studi Wang et al.<sup>12</sup> membandingkan Mindray BC-5180 dengan Sysmex XN-1000 menggunakan data pemantapan mutu eksternal (PME) provinsi Shandong China tahun 2018 dari 72 laboratorium. Pada lima parameter utama pemeriksaan hematologi, yaitu leukosit (WBC), eritrosit (RBC), hemoglobin (Hb), trombosit (PLT), dan hematokrit (Hct), hasil uji *t* menunjukkan tidak terdapat perbedaan bermakna antara kedua alat, dengan nilai  $p > 0,05$ . Analisis regresi Passing-Bablok menunjukkan bahwa interval kepercayaan 95% untuk intersep

mencakup nilai 0 dan interval kepercayaan 95% untuk kemiringan (slope) mencakup nilai 1 pada seluruh parameter, dengan koefisien korelasi ( $r$ )  $>0,98$ . Selain itu, analisis Bland-Altman menunjukkan bahwa lebih dari 95% titik pengukuran berada dalam batas kesepakatan (limits of agreement). Nilai absolute mean difference masing-masing parameter adalah 0,14% untuk WBC, 0,26% untuk RBC, 2,7% untuk PLT, 1,9% untuk Hb, dan 0,69% untuk Hct.

Berdasarkan hasil tersebut, studi ini menyimpulkan bahwa Mindray BC-5180 memiliki kesesuaian analitik yang baik dengan Sysmex XN-1000 dan secara klinis berpotensi digunakan sebagai pengganti untuk pemeriksaan parameter hematologi dasar. Namun, temuan ini masih terbatas pada hasil pemantapan mutu eksternal (EQA) yang menggunakan sampel kontrol. Oleh karena itu, generalisasi hasil terhadap sampel pasien dengan kelainan patologis, termasuk populasi dengan hemoglobinopati, masih memerlukan penelitian lebih lanjut.

## **F. Parameter Eritrosit**

Parameter eritrosit yang dilaporkan alat hematologi modern dapat dikelompokkan menjadi tiga tingkatan: (a) parameter dasar (rutin pada hampir semua analyzer dan tercakup dalam pemeriksaan hematologi standar), (b) parameter retikulosit lanjutan, dan (c) parameter eritrosit ekstensif. Pengelompokan ini mencerminkan tingkat kompleksitas teknologi yang dibutuhkan, ketersediaan pada platform tertentu, serta derajat validasi klinis.<sup>4,7</sup>

### **1. Parameter Dasar Eritrosit**

#### **a. Jumlah Eritrosit (RBC), Hemoglobin (Hb), Hematokrit (Hct)**

RBC dihitung berdasarkan deteksi pulsa pada channel impedansi (Sysmex, Coulter, Mindray, Horiba) atau channel light scatter (Advia, Abbott). Hemoglobin diukur dari spektrofotometri pada aliquot terpisah setelah lisis eritrosit. Sebagian besar analyzer modern menggunakan reagen non-sianida (SLS pada Sysmex,

NaOH-CTAB pada Coulter, lauryl sulfate pada Abbott) yang memberikan hasil setara dengan HiCN ICSH namun lebih aman secara lingkungan.<sup>2,3</sup> Hematokrit pada analyzer otomatis adalah parameter turunan:  $Hct (\%) = MCV (fL) \times RBC (\times 10^{12}/L) \times 0,1$ . Karena tidak melibatkan sentrifugasi, Hct otomatis tidak terpengaruh trapped plasma, sehingga sistematis 2-3% lebih rendah dari PCV mikrohematokrit.<sup>14</sup>

#### **b. Mean Corpuscular Volume (MCV)**

MCV menggambarkan rata-rata ukuran sel eritrosit. Mekanismenya sederhana, setiap eritrosit yang melewati apertur listrik atau berkas sinar laser di dalam alat menghasilkan sinyal yang besarnya sebanding dengan volume sel tersebut. Alat kemudian merata-ratakan puluhan ribu sinyal individual ini menjadi satu nilai MCV. Pengukuran sel demi sel inilah yang membuat MCV otomatis jauh lebih teliti dibandingkan MCV manual, dengan koefisien variasi biasanya <1%.

Secara klinis, MCV menjadi dasar utama klasifikasi morfologi anemia, yaitu pembagian anemia berdasarkan ukuran sel eritrosit: anemia mikrositik bila  $MCV < 80$  fL, normositik bila  $MCV 80-100$  fL, dan makrositik bila  $MCV > 100$  fL.<sup>5,6</sup> Klasifikasi ini langsung menyempitkan kemungkinan diagnosis. Anemia mikrositik umumnya ditemukan pada defisiensi besi, thalassemia  $\alpha$  dan  $\beta$ , anemia sideroblastik, serta sebagian anemia penyakit kronik tahap lanjut. Sebaliknya, anemia makrositik lazim dijumpai pada defisiensi vitamin B<sub>12</sub> atau folat, sindrom mielodisplasia (MDS), retikulositosis berat akibat hemolisis, hipotiroidisme, dan konsumsi alkohol kronis.

Pada konteks skrining hemoglobinopati, MCV memiliki peran khusus. UK National Health Service (NHS) dan beberapa program skrining thalassemia nasional menggunakan nilai batas  $MCV < 79$  fL yang dikombinasikan dengan  $MCH < 27$  pg sebagai indikator awal kecurigaan thalassemia trait. Bila kedua nilai berada

di bawah ambang ini, pasien diarahkan ke pemeriksaan konfirmasi lebih lanjut seperti elektroforesis hemoglobin atau analisis DNA.<sup>29</sup>

**c. Mean Corpuscular Hemoglobin (MCH) dan MCH Concentration (MCHC)**

*Mean corpuscular hemoglobin* (MCH) dan *mean corpuscular hemoglobin concentration* (MCHC) keduanya merupakan parameter turunan, artinya tidak diukur langsung oleh alat melainkan dihitung dari parameter lain. MCH dihitung dari Hb dibagi jumlah RBC, sedangkan MCHC dari Hb dibagi Hct. Pengecualian terdapat pada platform Siemens Advia, yang mampu mengukur konsentrasi hemoglobin sel demi sel secara langsung dan melaporkannya sebagai CHCM (cellular hemoglobin concentration mean).

Nilai MCH umumnya bergerak sejalan dengan MCV. Bila MCH rendah, kondisi ini disebut hipokromia (sel kekurangan Hb). Bila MCH tinggi, yang jarang terjadi, disebut hiperkromia. Ambang MCH <27 pg banyak dipakai sebagai cut-off skrining thalassemia trait; pada beberapa populasi, MCH bahkan dilaporkan lebih sensitif daripada MCV untuk tujuan ini.<sup>29</sup>

Sebaliknya, MCHC secara historis dianggap parameter yang paling tidak dapat diandalkan. Alasannya, MCHC adalah hasil bagi dari dua nilai yang juga sudah merupakan pengukuran tidak langsung (Hb dan Hct), sehingga kesalahan analitik mudah terakumulasi. Nilai MCHC >36 g/dL biasanya bukan menandakan hiperkromia sejati, melainkan artefak akibat krioaglutinin, lipemia, hemoglobinemia bebas, atau sferositosis.

Karena alasan tersebut, Fabry dan Old<sup>13</sup> mencatat bahwa MCHC sering dipandang tidak informatif, dan menganjurkan metode alternatif seperti *density gradient* untuk evaluasi formal densitas eritrosit pada hemoglobinopati.

#### d. Red Cell Distribution Width (RDW)

RDW menggambarkan heterogenitas volume eritrosit (anisositosis). Dilaporkan dalam dua bentuk yaitu RDW-CV (*coefficient of variation*, persen) yang dihitung sebagai  $SD/MCV \times 100$ , dan RDW-SD (standard deviation, fL) yang dihitung pada level 20% tinggi puncak histogram. RDW-CV bergantung pada MCV sehingga pada mikrositosis berat RDW-CV dapat normal meskipun ada anisositosis nyata, sedangkan RDW-SD lebih independen dari ukuran sel rerata.<sup>2</sup>

Aplikasi klinis tradisional RDW adalah membantu diferensiasi penyebab anemia mikrositik contoh pada defisiensi besi, RDW umumnya naik (anisositosis akibat eritropoiesis tidak homogen), sedangkan pada thalassemia trait RDW lebih sering normal atau hanya sedikit naik. Namun, peran RDW telah berkembang jauh melampaui diagnostik hematologis. Goyal et al.<sup>26</sup> merangkum bukti hubungan RDW dengan mortalitas pada gangguan gastrointestinal (penyakit hati kronis, IBD, kanker kolorektal). Anand et al.<sup>27</sup> melakukan systematic review dan meta-analisis 5.222 kasus appendisitis akut yang menunjukkan utilitas RDW sebagai biomarker non-invasif diagnosis. RDW juga terbukti sebagai prediktor independen mortalitas pada penyakit kardiovaskular, sepsis, COVID-19, dan kanker padat. Mekanisme yang diusulkan mencakup inflamasi sistemik, stres oksidatif, gangguan eritropoiesis, dan disregulasi metabolisme besi yang semuanya tercermin dalam ketidakhomogenan ukuran eritrosit yang bersirkulasi.

## 2. Parameter Retikulosit Lanjutan

Hitung retikulosit otomatis berbasis flowsitometri menyediakan jumlah retikulosit absolut dan persen dengan presisi yang jauh lebih baik daripada metode manual. Buttarello dan Plebani<sup>4</sup> merangkum bahwa generasi analyzer modern menambahkan setidaknya tiga kelompok parameter retikulosit: (a) indeks maturasi retikulosit, (b) indeks selular

retikulosit, dan (c) hitung absolut yang lebih akurat untuk respons eritropoiesis.

**a. Persen dan Hitung Absolut Retikulosit**

Retikulosit dideteksi berdasarkan intensitas fluoresensi pewarna asam nukleat (Sysmex, Horiba, Mindray) atau light scatter setelah pewarnaan retikulosit dengan auramine atau new methylene blue (Coulter, Advia). Hitung absolut (Ret#, sel/ $\mu\text{L}$  atau  $\times 10^9/\text{L}$ ) lebih informatif secara klinis daripada persen, terutama pada anemia berat dimana persen dapat menyesatkan akibat penurunan denominator RBC. Pada respons sumsum tulang yang adekuat, misalnya pada anemia hemolitik aktif, pasca terapi B12, terapi besi, dan EPO, Ret# biasanya  $>100 \times 10^9/\text{L}$ , sedangkan pada anemia hipoproliferatif seperti aplasia, MDS lanjut, defisiensi besi tanpa terapi, Ret# cenderung rendah.

Reticulocyte production index (RPI) ( $\% \text{Retikulosit} \times \text{Hct pasien} / \text{Hct normal}$ )/faktor maturasi. Indeks ini digunakan untuk mengoreksi pelepasan dini retikulosit imatur dari sumsum tulang ke darah tepi yang lazim terjadi pada anemia berat.

**b. Immature Reticulocyte Fraction (IRF)**

Retikulosit dibagi menjadi tiga fraksi berdasarkan intensitas fluoresensi yang mencerminkan kandungan RNA. *Low fluorescence reticulocytes* (LFR) merupakan retikulosit paling matur, *middle fluorescence reticulocytes* (MFR), dan *high fluorescence reticulocytes* (HFR), merupakan retikulosit paling imatur atau baru saja dilepaskan dari sumsum tulang.  $\text{IRF} = \text{MFR} + \text{HFR}$ .<sup>4,15</sup> IRF mencerminkan output retikulosit imatur sumsum tulang, dimana peningkatan dini IRF muncul beberapa hari sebelum peningkatan hitung retikulosit total atau Hb. Wysocka dan Turowski<sup>15</sup> menjelaskan bahwa IRF (bersama RMI dan HFR) merupakan penanda dini kondisi sumsum tulang pasca transplantasi hematopoietic stem cell, serta indikator awal respons terhadap terapi

eritropoietin pada gagal ginjal kronik. Aplikasi klinis lain IRF adalah monitoring respon terhadap terapi besi (peningkatan IRF dalam 3–5 hari), diferensiasi krisis aplastik dari hemolisis pada kasus anemia sel sabit, serta prediksi penyembuhan sumsum tulang pasca kemoterapi induksi, dan deteksi dini kegagalan sumsum tulang pada MDS.

**c. Reticulocyte Hemoglobin Equivalent (RET-He) dan CHr**

RET-He (Sysmex) dan CHr (Siemens Advia) mengukur kandungan hemoglobin pada retikulosit secara individual, dengan satuan pikogram (pg). Karena masa hidup retikulosit hanya 1–2 hari, parameter ini mencerminkan ketersediaan besi untuk eritropoiesis pada saat pengukuran yang secara biologis lebih awal dibandingkan dengan penanda klasik seperti ferritin atau saturasi transferin yang mencerminkan status besi minggu sebelumnya. Pada Sysmex, RET-He diukur melalui sinyal forward scatter pada channel retikulosit; pada Advia, CHr diukur dari *high-angle scatter laser* yang berkorelasi dengan indeks refraksi sel.<sup>4,7</sup>

Urrechaga et al.<sup>7</sup> pada 90 subjek sehat, 85 pasien gagal ginjal kronik (GGK), 65 pasien hemodialisis (HD), dan 91 pasien anemia defisiensi besi (IDA) menggunakan Sysmex XE-5000. Hasil utama pada kelompok IDA, RET-He menurun mencerminkan *iron-restricted erythropoiesis* bersamaan dengan peningkatan %Hypo-He. Pada kelompok pasien HD-GGK yang menerima terapi besi dan EPO, %retikulosit meningkat (eritropoiesis meningkat akibat terapi), RET-He >30 pg menunjukkan ketersediaan besi memadai, MCH tetap dalam batas normal, sedangkan %Hypo-He sedikit meningkat. Analisis ROC untuk diagnosis defisiensi besi (gold standard sTfR >21 nM) memberikan: RET-He AUC 0,935 dengan cut-off 29,8 pg, sensitivitas 90,7%, spesifisitas 83,1%; %Hypo-He AUC 0,925 dengan cut-off 3,5%, sensitivitas 87,3%, spesifisitas 88,0%. Kombinasi RET-He

dan %Hypo-He meningkatkan informasi diagnostik terkait karakteristik sel individual dan status besi.

Konfirmasi dari penelitian skala besar diberikan oleh Poventud-Fuentes et al.<sup>17</sup> pada populasi pediatrik di rumah sakit tersier yang menetapkan utilitas RET-He sebagai penanda defisiensi besi pada anak. Almashjary et al.<sup>16</sup> menunjukkan bahwa RET-He tidak hanya mendeteksi defisiensi besi, melainkan dapat membedakan stadium defisiensi (*iron depletion, iron-deficient erythropoiesis, iron deficiency anemia*) dengan sensitivitas dan spesifisitas tinggi. Aslam et al.<sup>18</sup> memvalidasi performa RET-He pada pasien hipotiroidisme, di mana metabolisme besi sering terganggu. Pada anak dengan malaria asimtomatik di Burkina Faso, parameter retikulosit lanjutan termasuk RET-He membantu menggambarkan kapasitas eritropoietik sumsum tulang yang mengkompensasi peningkatan kehilangan eritrosit.

#### **d. MCVr dan CHCMr**

MCVr (mean cell volume of reticulocytes) lebih besar dari MCV eritrosit matur karena retikulosit kehilangan ~20% volume selama 1–2 hari pematangan akhir. CHCMr (*cellular hemoglobin concentration mean of reticulocytes*) mengukur konsentrasi Hb intraseluler retikulosit. Kedua parameter melengkapi RET-He/CHr untuk profil hemoglobinisasi eritropoiesis.<sup>15</sup> Pada terapi besi yang efektif, MCVr menurun bertahap (sel baru lebih kecil tapi terisi Hb cukup) sedangkan CHCMr meningkat (densitas Hb membaik). Pola ini berguna untuk memantau kepatuhan dan respons terhadap terapi besi.

### **3. Parameter Eritrosit Ekstensif**

#### **a. %Hypo-He dan %Hyper-He**

%Hypo-He menunjukkan persentase eritrosit matur dengan kandungan Hb selular di bawah ambang batas, umumnya <17 pg untuk Sysmex atau <28 g/dL untuk Advia. Kebalikannya, %Hyper-He menggambarkan eritrosit hiperkromik (>49 pg pada

Sysmex). Pengukuran sel demi sel ini memberi informasi yang tidak terkandung dalam MCH rerata: pasien dapat memiliki MCH normal namun proporsi %Hypo-He tinggi (heterogenitas), atau MCH rendah namun %Hypo-He hanya moderat.<sup>4,7</sup>

Urrechaga et al.<sup>7</sup> menetapkan cut-off %Hypo-He 3,5% untuk diagnosis defisiensi besi (AUC 0,925). Schoorl dan Schoorl<sup>19</sup> mempelajari trimester ketiga kehamilan dengan suspect iron-deficient erythropoiesis (IDE) – yaitu kondisi dengan eritropoiesis terganggu oleh besi yang belum memenuhi kriteria klasik IDA. Mereka membandingkan kelompok IDE (n=39) yang menerima suplementasi besi vs kelompok tanpa IDE (n=106), dengan zinc protoporphyrin/heme ratio sebagai penanda IDE. Hasil: %MicroR dan %Hypo-He meningkat pada IDE ( $P < 0,001$ ), sedangkan RET-He, RBC-He, dan Delta-He menurun ( $P < 0,001$ ). Korelasi positif kuat dengan ZPP:  $r=0,75$  untuk %MicroR dan  $r=0,77$  untuk %Hypo-He. Setelah suplementasi besi 4 minggu, %Hypo-He menurun bermakna ( $P=0,002$ ) sedangkan %MicroR tetap stabil; RET-He dan Delta-He meningkat. Implikasi praktis: %Hypo-He bersifat dinamis sehingga sensitif untuk monitoring respons terapi, sedangkan %MicroR bersifat lebih lambat berubah (memerlukan turnover populasi eritrosit). Kombinasi keempat parameter (%MicroR + %Hypo-He + RET-He + Delta-He) memberi nilai tambah dalam monitoring eritropoiesis selama kehamilan, melampaui MCV/MCH tradisional.

#### **b. %Micro-R dan %Macro-R**

%Micro-R adalah persentase eritrosit dengan volume  $<60$  fL, sedangkan %Macro-R adalah eritrosit dengan volume  $>120$  fL, CO bervariasi tergantung platform. Berbeda dengan MCV yang merupakan hasil perhitungan rerata, %Micro-R dan %Macro-R secara langsung mengkuantifikasi proporsi sel ekstrem, yang berguna untuk mendeteksi populasi dimorfik. Pada

populasi kehamilan dengan IDE, Schoorl dan Schoorl<sup>19</sup> menunjukkan %MicroR meningkat bermakna, namun tidak segera menurun setelah terapi besi, sehingga lebih berfungsi sebagai penanda integratif kronik daripada penanda respons cepat. %Macro-R berguna untuk anemia makrositik lanjut, memantau respons B12, dan mendeteksi populasi makrositik pada MDS.

### c. Delta-He

Delta-He adalah selisih hemoglobin equivalent retikulosit dan eritrosit matur. Delta-He positif mencerminkan hemoglobinisasi retikulosit yang lebih baik daripada eritrosit matur, dimana pola yang muncul pada perbaikan status besi atau respons terapi yang baik. Delta-He negatif menandakan retikulosit baru dengan hemoglobinisasi terganggu, khas pada anemia penyakit kronik maupun defisiensi besi fungsional di mana sekuesterasi besi oleh hepcidin menghambat utilisasi besi untuk eritropoiesis aktif.<sup>20,21</sup>

Danielson et al.<sup>21</sup> melakukan observasi pada 82 pasien dialisis peritoneal selama 12 minggu dengan follow-up tambahan 36 bulan, mengukur Delta-He, Ret-He, hs-CRP, IL-6, dan penanda besi. Hasilnya didapatkan Delta-He berkorelasi dengan IL-6 ( $\rho=0,48$ ,  $P < 0,001$ ), hs-CRP ( $\rho=0,36$ ,  $P < 0,001$ ), dan ESA hyporesponsiveness index (EHRI,  $\rho=-0,44$ ,  $P < 0,001$ ). Yang menarik, Delta-He tidak berkorelasi dengan penanda besi pada pasien dialisis maupun subjek sehat, menandakan bahwa pada pasien ini Delta-He lebih kuat mencerminkan status inflamasi daripada besi per se. Setelah penyesuaian multivariabel (usia, jenis kelamin, hs-CRP, komorbiditas, status nutrisi), Delta-He menjadi prediktor independen mortalitas (OR 0,70, 95% CI 0,51-0,96,  $P < 0,05$ ). Hong et al.<sup>22</sup> memperluas aplikasi Delta-He ke onkologi, melaporkan Delta-He  $>3,3$  pg sebagai prediktor independen progression-free survival (HR 0,87,  $P=0,016$ )

dan overall survival (HR 0,33, P=0,005) pada 79 pasien NSCLC yang menerima inhibitor PD-1/PD-L1.

#### **d. Nucleated Red Blood Cell (NRBC)**

NRBC matur yang masih bersirkulasi di darah tepi merupakan temuan abnormal pada dewasa (kecuali kondisi fisiologis tertentu seperti pasca splenektomi atau pada bayi baru lahir hingga umur 1 minggu). NRBC ditemukan pada: eritropoiesis ekstramedular (myelofibrosis, infiltrasi sumsum tulang oleh tumor/leukemia/granuloma), anemia hemolitik berat dengan respons sumsum tulang maksimal, krisis aplastik sickle cell, sepsis berat, hipoksia berat, distress fetal pada bayi baru lahir, dan stres berat lainnya. Hitung NRBC otomatis menjadi standar pada analyzer modern karena NRBC yang tidak terhitung dengan benar akan menyebabkan over-count leukosit (NRBC tidak lisis oleh reagen WBC lysing).<sup>4,24</sup>

Brunner-Ziegler et al.<sup>24</sup> memvalidasi hitung NRBC otomatis pada Sysmex XN-1000 terhadap referensi mikroskopik pada 220 anak <1 tahun dan menunjukkan korelasi yang baik ( $r=0,89$ ), dengan beberapa diskrepansi pada nilai ekstrem rendah yang umum pada bayi sehat. Cheng et al.<sup>25</sup> mengingatkan bahwa hemolisis sampel in vitro dapat menyebabkan pseudo-elevasi hitung NRBC otomatis, sehingga preanalitik (penanganan sampel, transportasi suhu, waktu sampai pemeriksaan) harus dijaga ketat. Pada populasi neonatal dan kritis, hitung NRBC otomatis juga digunakan sebagai prediktor prognostik: persistensi NRBC  $>0,01 \times 10^9/L$  pada bayi prematur berkorelasi dengan luaran neurologis dan mortalitas.

#### **G. Pemantapan Mutu, Kalibrasi, dan Standardisasi**

Performa alat hematologi dievaluasi berdasarkan dua dimensi utama: akurasi (kedekatan terhadap nilai sejati) dan presisi (reproduksibilitas pengukuran berulang). Akurasi

dievaluasi terhadap reference material atau metode rujukan, sedangkan presisi dinilai dari pengukuran berulang pada sampel yang sama. Sebuah alat pemeriksaan hematologi dapat sangat presisi (CV rendah) namun tidak akurat (bias tinggi), atau sebaliknya.<sup>5</sup>

## 1. Badan Standardisasi Internasional

*International Council for Standardisation in Haematology* (ICSH) adalah badan rujukan global yang menetapkan metode rujukan dan standar untuk pemeriksaan hematologi. Beberapa rekomendasi kunci ICSH meliputi:

- a. Metode rujukan HiCN untuk Hb (sejak 1965, direvisi periodik).
- b. Surrogate reference method untuk PCV mikrohematokrit (Bull et al., 2003).
- c. Standardisasi hitung retikulosit otomatis (2014).
- d. Standardisasi hitung NRBC otomatis.
- e. Pedoman *flagging* dan review sediaan apus (bersama International Consensus Group for Hematology Review).
- f. Pedoman penilaian schistocyte (2012).

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) menerbitkan dokumen yang lebih operasional untuk laboratorium di Amerika Utara dan global, antara lain: H26-A2 (*validation, verification, and quality assurance of automated hematology analyzers*), H56-A (*body fluid analysis*), dan EP28-A3c (*verification of reference intervals*).<sup>5</sup>

## 2. Kalibrasi

Kalibrasi adalah proses pemberian nilai sejati pada respons instrumen, menggunakan reference material yang telah diuji dengan metode rujukan. Bahan kalibrator pada analyzer hematologi modern berupa darah utuh stabil yang ditelusuri ke metode rujukan ICSH. Kalibrasi formal dilakukan: (1) saat instalasi awal, (2) setelah perbaikan/penggantian komponen kritis, (3) setelah perubahan reagen (lot baru) yang menunjukkan pergeseran, dan (4) bila hasil QC menunjukkan tren bias. Kalibrasi rutin

yang terlalu sering (mis. harian) tidak dianjurkan karena dapat memperkenalkan variabilitas yang tidak perlu.<sup>2</sup>

### **3. Pemantapan Mutu Internal (PMI)**

PMI harian menggunakan tiga level kontrol komersial (*low, normal, high*) yang diukur minimal 1 kali per shift. Aturan Westgard (1S, 2S, 3S, R4S, 4\_1S, 10\_X) digunakan untuk mengevaluasi penyimpangan. Selain itu, moving average (XB analysis berdasarkan rerata MCV/MCH/MCHC) dapat memberi sinyal pergeseran sebelum kontrol komersial menunjukkan adanya masalah. Laboratorium juga menerapkan delta check (perbandingan hasil pasien terhadap hasil sebelumnya) untuk mengidentifikasi kesalahan sampel atau perubahan klinis ekstrem.<sup>2,5</sup>

### **4. Pemantapan Mutu Eksternal (PME) / External Quality Assessment Scheme (EQAS)**

Partisipasi dalam EQAS internasional (UK NEQAS, CAP Survey, RCPA QAP) memungkinkan benchmarking terhadap laboratorium peer dan deteksi bias sistemik. Pada EQAS, sampel kontrol identik dikirim ke ratusan laboratorium dan hasilnya dibandingkan dengan target value (assigned value) serta peer group. Penyimpangan yang bermakna ( $>2$  SD) memicu investigasi akar masalah. Wang et al.<sup>12</sup> memanfaatkan dataset EQAS provinsi Shandong sebagai dasar perbandingan kinerja antar instrumen Mindray BC-5180 dan Sysmex XN-1000.

### **5. Flagging Otomatis dan Review Sediaan Apus**

Sistem flagging otomatis memberi peringatan terhadap hasil yang mencurigakan, terbagi menjadi: (a) *instrument flags* (gangguan teknis, voltase tidak stabil, kekurangan reagen, clot), (b) *suspect flags* (suspek sel blast, suspek IG, suspek NRBC, suspek limfosit atipik, suspek platelet clump, anisositosis, RBC fragments, RBC dimorfik), dan (c) *action flags* (review smear required). International Consensus Group for Hematology Review (Barnes et al., 2005)

menetapkan 41 kriteria sebagai standar global; namun, implementasi spesifik bergantung pada platform alat hematologi dan kebijakan laboratorium.<sup>4</sup> Wang et al.<sup>10</sup> menunjukkan bahwa optimasi kriteria review yang terkoordinasi dengan sistem morfologi digital dapat mengurangi beban kerja review manual tanpa mengorbankan akurasi. Bruegel et al.<sup>11</sup> memetakan kualitas flagging blast pada lima alat pemeriksaan hematologi, yaitu XN-2000 yang menunjukkan sensitivitas tertinggi (97%), sementara empat analyzer lainnya menunjukkan 65–76%. Sensitivitas tinggi dengan trade-off spesifisitas yang lebih rendah merupakan konfigurasi yang lazim diinginkan untuk skrining keganasan hematologi.

## **H. Keterbatasan dan Interferensi**

Meskipun otomatisasi hematologi memberikan presisi tinggi dan *throughput* besar, terdapat sejumlah keterbatasan dan sumber interferensi yang perlu dipahami untuk mencegah salah interpretasi.

### **1. Interferensi Preanalitik**

Sampel pemeriksaan hematologi umumnya dikumpulkan dalam tabung EDTA K<sub>2</sub> atau K<sub>3</sub> pada konsentrasi akhir 1,5–2,2 mg/mL. Beberapa interferensi preanalitik penting:

- a. Penyimpanan EDTA berkepanjangan: >6–8 jam pada suhu kamar atau >24 jam pada 4°C menyebabkan pembengkakan eritrosit dengan peningkatan MCV (~2–5 fL), penurunan MCHC, dan dapat mempengaruhi morfologi platelet.
- b. EDTA-dependent platelet clumping (pseudothrombocytopenia): terjadi pada ~0,1% sampel, menyebabkan trombosit teragregasi yang terhitung sebagai sel lain. Solusinya adalah dengan mengulang pengambilan menggunakan sitrat atau heparin.

- c. Hemolisis in vitro dapat menurunkan hitung RBC dan secara otomatis meningkatkan hitung NRBC.<sup>25</sup> Hemoglobin bebas plasma yang muncul juga dapat menyebabkan overestimasi Hb spektrofotometrik.
- d. Pengisian tabung yang kurang (*underfilling*) dapat menyebabkan rasio EDTA/darah meningkat, eritrosit menyusut, dan MCV menurun secara palsu.
- e. Pengisian berlebih (*overfilling*) dapat menyebabkan rasio antikoagulan tidak adekuat, mikroclot dapat muncul dan mengganggu hitung sel.

## 2. Interferensi Optik pada Pengukuran Hb

Spektrofotometri Hb dapat terganggu oleh kondisi yang menambah absorbansi atau turbiditas pada panjang gelombang pembacaan:

- a. Hiperlipemia (trigliserida >1000 mg/dL): turbiditas plasma meningkatkan pembacaan Hb palsu, sehingga menyebabkan MCH dan MCHC palsu tinggi. Solusinya adalah dengan pengukuran ulang setelah sentrifugasi dan pencucian eritrosit dengan saline, atau blanko plasma.
- b. Hiperbilirubinemia (>5 mg/dL ikterus berat): bilirubin menyerap pada 440 nm dan dapat sedikit mengganggu pembacaan SLS-Hb, namun analyzer modern umumnya menggunakan dual-wavelength correction.
- c. Hemoglobinemia bebas (hemolisis intravaskular), Hb bebas plasma dimasukkan dalam pembacaan total Hb namun tidak terlihat dalam hitung eritrosit, menyebabkan MCH dan MCHC palsu tinggi. Tanda hemolitik di plasma harus selalu diperhatikan.
- d. Hiperleukositosis (WBC  $>50 \times 10^9/L$ ): kontribusi optik leukosit kepada pembacaan Hb menjadi tidak diabaikan. Beberapa analyzer melakukan koreksi WBC secara otomatis; bila tidak, perlu dilakukan pengukuran ulang dengan pengenceran khusus.

### **3. Krioaglutinin dan Autoaglutinasi**

Krioaglutinin (cold agglutinin), autoantibodi IgM yang mengaglutinasi eritrosit pada suhu di bawah 37°C, dapat menyebabkan artefak besar pada alat pemeriksaan hematolog. Pada suhu kamar, eritrosit teraglutinasi terhitung sebagai sel tunggal, sehingga RBC menurun palsu (sering 50–70%), MCV meningkat palsu (sering >130 fL), Hct menurun palsu (karena  $Hct = MCV \times RBC$ ), dan MCHC meningkat palsu melewati 36 g/dL (warning level). Hb tetap akurat karena diukur setelah lisisnya selesai. Solusinya adalah dengan menghangatkan sampel pada 37°C selama 15–30 menit sebelum analisis.<sup>13</sup> Diagnosis kondisi penyebab (cold agglutinin disease, infeksi Mycoplasma, EBV, beberapa limfoma) diikuti kemudian dengan titer DAT dan thermal amplitude.

### **4. Implikasi Klinis Komparabilitas Antar-Platform**

Komparabilitas antar platform menjadi isu krusial ketika pasien berpindah antar fasilitas atau ketika laboratorium melakukan upgrade instrumen. Parameter dasar pemeriksaan hematologi umumnya konsisten antarinstrumen ( $r > 0,98$ ), namun parameter ekstensif menunjukkan disparitas yang lebih besar.<sup>11</sup> Penelitian Wang et al memperlihatkan komparabilitas yang baik antara Mindray BC-5180 dan Sysmex XN-1000 pada parameter inti namun studi ini terbatas pada sampel EQA bukan populasi pasien.<sup>12</sup> Praktik terbaik: laboratorium yang menggunakan multiplatform harus mendokumentasikan studi komparabilitas terhadap masing-masing parameter secara ekstensif, menetapkan rentang rujukan yang spesifik terhadap platform, dan memberi informasi platform pada laporan hasil agar klinisi dapat menafsirkan secara tepat.<sup>11</sup>

## DAFTAR PUSTAKA

- Almashjary MN, Barefah AS, Bahashwan S, Ashankyty I, AlJabri A, Alroqi F, et al. Reticulocyte Hemoglobin-Equivalent Potentially Detects, Diagnoses and Discriminates between Stages of Iron Deficiency with High Sensitivity and Specificity. *J Clin Med*. 2022;11(19):5675. Tersedia di: <https://doi.org/10.3390/jcm11195675>
- Anand T, Krishnan G, Joshi A, Singh S, Bhargava V. Utility of Red Cell Distribution Width (RDW) as a Noninvasive Biomarker for the Diagnosis of Acute Appendicitis: A Systematic Review and Meta-Analysis of 5222 Cases. *Diagnostics*. 2022;12(4):1011. Tersedia di: <https://doi.org/10.3390/diagnostics12041011>
- Aslam HM, Habib MB, Iqbal Z, Tariq F, Atif U. Reticulocyte Hemoglobin Equivalent: Diagnostic Performance in Assessment of Iron Deficiency in Patients with Hypothyroidism. *Anemia*. 2021;2021:9071057. Tersedia di: <https://doi.org/10.1155/2021/9071057>
- Briggs C, Bain BJ. Basic Haematological Techniques. In: Bain BJ, Bates I, Laffan MA, editors. *Dacie and Lewis Practical Haematology*. 12th ed. Philadelphia: Elsevier; 2017. p. 18–49.
- Bruegel M, Nagel D, Funk M, Fuhrmann P, Zander J, Teupser D. Comparison of five automated hematology analyzers in a university hospital setting: Abbott Cell-Dyn Sapphire, Beckman Coulter DxH 800, Siemens Advia 2120i, Sysmex XE-5000, and Sysmex XN-2000. *Clin Chem Lab Med*. 2015;53(7):1057–71. Tersedia di: <https://doi.org/10.1515/cclm-2014-0945>
- Brunner-Ziegler S, Jilma B, Schörgenhofer C, Winter M, Eichinger S. Comparison Evaluation of Automated Nucleated Red Blood Cell Enumeration by Sysmex XN 1000 in Comparison With

- Microscopic Reference in Children Under 1 Year. *J Clin Lab Anal.* 2024;38(8):e25037. Tersedia di: <https://doi.org/10.1002/jcla.25037>
- Bull BS, Fujimoto K, Houwen B, Klee G, Van Assendelft OW, van Hove L, et al. International Council for Standardization in Haematology (ICSH) recommendations for surrogate reference method for the packed cell volume. *Lab Hematol.* 2003;9(1):1–9. Tersedia di: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12661822/>
- Buttarelo M, Plebani M. Automated blood cell counts: state of the art. *Am J Clin Pathol.* 2008;130(1):104–16. Tersedia di: <https://doi.org/10.1309/EK3C7CTDKNVPXVTN>
- Cheng J, Zhang Y, Zhang T, Lin M. Influence of hemolysis on nucleated red blood cells count. *Int J Lab Hematol.* 2023;45(3):343–8. Tersedia di: <https://doi.org/10.1111/ijlh.14039>
- Danielson K, Beshara S, Qureshi AR, Heimbürger O, Lindholm B, Hansson M, et al. Delta-He: a novel marker of inflammation predicting mortality and ESA response in peritoneal dialysis patients. *Clin Kidney J.* 2014;7(3):275–81. Tersedia di: <https://doi.org/10.1093/ckj/sfu038>
- Davis BH, Barnes PW. Automated Cell Analysis: Principles. In: Hillyer CD, Shaz BH, Zimring JC, Abshire TC, editors. *Laboratory Hematology Practice*. Chichester (UK): Wiley-Blackwell; 2012. p. 21–32.
- Fabry ME, Old JM. Laboratory Methods for Diagnosis and Evaluation of Hemoglobin Disorders. In: Steinberg MH, Forget BG, Higgs DR, Weatherall DJ, editors. *Disorders of Hemoglobin: Genetics, Pathophysiology, and Clinical Management*. 2nd ed. Cambridge: Cambridge University Press; 2009. p. 658–87.

- Goyal H, Lippi G, Gjymishka A, John B, Chhabra R, May E. Prognostic significance of red blood cell distribution width in gastrointestinal disorders. *World J Gastroenterol*. 2017;23(27):4879–91. Tersedia di: <https://doi.org/10.3748/wjg.v23.i27.4879>
- Hong G, Lee SI, Kang DH, Chung C, Park HS, Lee JE. Delta-He as a Novel Predictive and Prognostic Biomarker in Patients With NSCLC Treated With PD-1/PD-L1 Inhibitors. *Cancer Med*. 2025;14(7):e70826. Tersedia di: <https://doi.org/10.1002/cam4.70826>
- Lesesve JF, Speyer E, Lacombe F. Fragmented red cells reference range for the Sysmex XN-series of automated blood cell counters. *Int J Lab Hematol*. 2015;37(3):e89–91. Tersedia di: <https://doi.org/10.1111/ijlh.12364>
- Lippi G, Plebani M. Identification and disposal of fluid samples with potentially detectable defects in coagulation/hematology testing. *Clin Chem Lab Med*. 2019;57(11):e242–4. Tersedia di: <https://doi.org/10.1515/cclm-2019-0337>
- Merino A, Laguna J, Bornia A, Boldú L, Acevedo A, Alférez S, et al. Performance of the new MC-80 automated digital cell morphology analyser in detection of normal and abnormal blood cells: Comparison with the CellaVision DM9600. *Int J Lab Hematol*. 2024;46(1):37–45. Tersedia di: <https://doi.org/10.1111/ijlh.14178>
- Molnar JA. Automated Blood Cell Analysis. In: Keohane EM, Otto CN, Walenga JM, editors. *Rodak's Hematology: Clinical Principles and Applications*. 6th ed. St. Louis (MO): Elsevier; 2020. p. 174–93.
- Old J, Harteveld CL, Traeger-Synodinos J, Petrou M, Angastiniotis M, Galanello R. Prevention of Thalassaemias and Other Haemoglobin Disorders. Volume 2: Laboratory Protocols. 2nd ed. Nicosia (CY): Thalassaemia International Federation; 2012.

- Poventud-Fuentes I, Chong T, Mohan S, Lambert S, Master SR. Reticulocyte hemoglobin equivalent as a marker to assess iron deficiency: A large pediatric tertiary care hospital study. *Int J Lab Hematol*. 2024;46(1):46–52. Tersedia di: <https://doi.org/10.1111/ijlh.14188>
- Schoorl M, Schoorl M. Effects of iron supplementation on microcytic and hypochromic red blood cells during the third trimester of pregnancy. *Int J Lab Hematol*. 2022;44(6):1060–7. Tersedia di: <https://doi.org/10.1111/ijlh.13948>
- Smock KJ, Perkins SL. Examination of the Blood and Bone Marrow. In: Greer JP, Arber DA, Glader B, List AF, Means RT, Rodgers GM, editors. *Wintrobe's Clinical Hematology*. 13th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer; 2014. p. 1–17.
- Turgeon ML. Manual Procedures in Hematology. In: *Clinical Hematology: Theory and Procedures*. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2011. p. 505–35.
- Urrechaga E, Borque L, Escanero JF. Erythrocyte and reticulocyte indices in the assessment of erythropoiesis activity and iron availability. *Int J Lab Hematol*. 2013;35(2):144–9. Tersedia di: <https://doi.org/10.1111/ijlh.12013>
- Vajpayee N, Graham SS, Bem S. Basic Examination of Blood and Bone Marrow. In: McPherson RA, Pincus MR, editors. *Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*. 23rd ed. St. Louis (MO): Elsevier; 2017. p. 510–39.
- van der Vorm LN, Hendriks HA, Smits SM, van Solinge WW. Performance of the CellaVision DC-1 digital cell imaging analyser for differential counting and morphological classification of blood cells. *J Clin Pathol*. 2022;75(10):691–6. Tersedia di: <https://doi.org/10.1136/jclinpath-2021-207863>

- Wang J, Zhao S, Su Z, Liu X. Analytical comparison between two hematological analyzer systems: Mindray BC-5180 vs Sysmex XN-1000. *J Clin Lab Anal.* 2019;33(9):e22955. Tersedia di: <https://doi.org/10.1002/jcla.22955>
- Wang R, Ye J, Xie L, Huang J. Establishment of Review Criteria Coordinating With the Automated Digital Cell Morphology Identification System in a Specialized Women's and Children's Hospital. *Lab Med.* 2023;54(5):497–504. Tersedia di: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36124751/>
- Weimann A, Cremer M, Hernáiz-Driever P, Zimmermann M. Delta-He, Ret-He and a New Diagnostic Plot for Differential Diagnosis and Therapy Monitoring of Patients Suffering from Various Disease-Specific Types of Anemia. *Clin Lab.* 2016;62(4):667–77. Tersedia di: <https://doi.org/10.7754/clin.lab.2015.150830>
- Wysocka J, Turowski D. New reticulocyte indices and their utility in hematologic diagnosis. *Pol Merkur Lekarski.* 2000;8(49):498–502. Tersedia di: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11070726/>

# BAB 6

## RETIKULOSIT SEBAGAI INDIKATOR AKTIVITAS ERITROPOIESIS

Dr. dr. Fachriani Putri., MKM

### A. Pendahuluan

Eritropoiesis merupakan proses pembentukan eritrosit yang terjadi di sumsum tulang melalui diferensiasi dan maturasi sel punca hematopoietik menjadi eritrosit matur. Proses ini dikendalikan oleh eritropoietin (EPO), mikroenvironment sumsum tulang, status nutrisi, dan regulasi molekuler yang kompleks. Gangguan pada salah satu faktor tersebut dapat menurunkan produksi eritrosit sehingga menyebabkan anemia dan kelainan hematologi lainnya (Means, 2020).

Gangguan eritropoiesis hingga saat ini masih menjadi masalah penting dalam bidang hematologi klinik. *World Health Organization* melaporkan bahwa anemia memengaruhi lebih dari 1,6 miliar penduduk dunia, terutama pada anak-anak, wanita usia reproduktif, ibu hamil, dan lansia (WHO, 2023). Tingginya angka kejadian anemia menunjukkan pentingnya evaluasi aktivitas eritropoiesis dalam praktik klinis (Camaschella, 2019).

Dalam kondisi fisiologis, aktivitas eritropoiesis tidak selalu dapat dinilai melalui pemeriksaan jumlah eritrosit saja. Oleh karena itu, diperlukan parameter yang mampu menggambarkan respons sumsum tulang secara lebih dinamis. Salah satu indikator penting adalah retikulosit, yaitu eritrosit imatur yang baru dilepaskan dari sumsum tulang ke sirkulasi perifer. Karena retikulosit merupakan produk langsung eritropoiesis, maka jumlah dan maturitasnya mencerminkan

aktivitas pembentukan eritrosit di sumsum tulang (Bain, 2020; Briggs et al., 2019).

Dalam praktik klinis, peningkatan jumlah retikulosit menunjukkan respons regeneratif sumsum tulang terhadap hemolisis atau perdarahan, sedangkan penurunan retikulosit mengindikasikan gangguan produksi eritrosit seperti anemia aplastik, anemia penyakit kronik, maupun supresi sumsum tulang (Tefferi, 2021). Dengan demikian, pemeriksaan retikulosit memiliki nilai penting untuk membedakan anemia regeneratif dan non-regeneratif dan mengevaluasi efektivitas eritropoiesis (Piva et al., 2015).

Perkembangan teknologi hematologi modern memperluas peran retikulosit dalam diagnostik laboratorium. Selain digunakan dalam evaluasi anemia, parameter retikulosit modern seperti *Immature Reticulocyte Fraction* (IRF) dan *Reticulocyte Hemoglobin Equivalent* (Ret-He) juga dimanfaatkan untuk memonitoring penyakit ginjal kronik, keganasan hematologi, infeksi kronik, terapi eritropoietin, hingga transplantasi sumsum tulang (Brugnara, 2019; Mast et al., 2021). Hal ini menunjukkan bahwa retikulosit bukan hanya parameter hematologi rutin, melainkan juga sebagai biomarker fungsional aktivitas eritropoiesis.

Meskipun pemeriksaan retikulosit telah lama dikenal dalam hematologi, interpretasinya dalam praktik klinis sehari-hari masih kurang dimanfaatkan secara optimal. Pemahaman mengenai hubungan retikulosit dengan aktivitas eritropoiesis masih relatif terbatas, sehingga dapat menyebabkan kesalahan diagnosis dan ketidaktepatan interpretasi klinis (Buttarelo, 2016). Selain itu, perkembangan parameter retikulosit modern belum sepenuhnya terintegrasi dalam praktik klinis sehari-hari, terutama di negara berkembang. dengan diperlukan pembahasan yang komprehensif mengenai retikulosit sebagai indikator aktivitas eritropoiesis.

Berdasarkan hal di atas, bab ini disusun untuk memberikan pemahaman mengenai retikulosit sebagai indikator aktivitas eritropoiesis secara *evidence-based* dengan

mengintegrasikan konsep hematologi dasar, diagnostik laboratorium, interpretasi klinis, dan perkembangan penelitian mutakhir sehingga diharapkan dapat menjadi referensi akademik dan klinis bagi civitas kedokteran dan kesehatan.

## **B. Hematopoiesis dan Eritropoiesis**

Hematopoiesis merupakan proses pembentukan sel darah yang berlangsung secara dinamis dan berkesinambungan di sumsum tulang. Proses ini melibatkan proliferasi, diferensiasi, dan maturasi sel punca hematopoietik menjadi berbagai lini sel darah, yaitu eritrosit, leukosit, dan trombosit. Dalam keadaan fisiologis, hematopoiesis berfungsi untuk mempertahankan homeostasis darah, memenuhi kebutuhan oksigenasi jaringan dan sistem imun tubuh. Gangguan pada proses hematopoiesis dapat menyebabkan berbagai kelainan hematologi, termasuk anemia, leukopenia, trombositopenia, hingga keganasan hematologi (Kaushansky et al., 2021).

Salah satu komponen utama hematopoiesis adalah eritropoiesis, yaitu proses pembentukan eritrosit yang berperan dalam transportasi oksigen ke seluruh jaringan tubuh. Eritropoiesis merupakan proses dinamis yang dipengaruhi oleh berbagai faktor seperti eritropoietin, mikroenvironment sumsum tulang, faktor pertumbuhan hematopoietik, dan ketersediaan nutrisi seperti zat besi, vitamin B12, dan asam folat (Means, 2020). Dalam konteks klinis, pemahaman mengenai mekanisme eritropoiesis menjadi dasar penting untuk menginterpretasikan parameter hematologi, termasuk retikulosit sebagai indikator aktivitas eritropoiesis.

### **1. Stem Cell Hematopoietik**

Hematopoiesis berasal dari *hematopoietic stem cell* (HSC), yaitu sel punca multipoten yang memiliki kemampuan *self-renewal* dan diferensiasi menjadi seluruh lini sel darah. Pada manusia dewasa, HSC berada dalam sumsum tulang aksial seperti vertebra, sternum, pelvis, dan tulang iga. Secara fisiologis HSC mempertahankan keseimbangan antara

proliferasi dan diferensiasi (Doulatov et al., 2018). Diferensiasi HSC menghasilkan dua progenitor utama, yaitu:

- a. *Common Myeloid Progenitor* (CMP)
- b. *Common Lymphoid Progenitor* (CLP)

Lini eritroid berasal dari CMP yang kemudian berkembang menjadi *megakaryocyte-erythroid progenitor* (MEP), lalu berdiferensiasi menjadi *burst-forming unit erythroid* (BFU-E) dan *colony-forming unit erythroid* (CFU-E) sebelum berkembang menjadi eritroblas dan eritrosit matur (Palis, 2021).

## 2. Diferensiasi Eritroid

Diferensiasi eritroid merupakan proses maturasi prekursor eritroid hingga terbentuk eritrosit matur. Proses eritropoiesis berlangsung secara bertahap melalui beberapa stadium perkembangan sel, yaitu proeritroblas, eritroblas basofilik, eritroblas polikromatofilik, eritroblas ortokromatik, retikulosit, dan akhirnya eritrosit matur. Selama proses tersebut terjadi berbagai perubahan morfologis dan biokimia, meliputi penurunan ukuran inti sel, kondensasi kromatin, peningkatan sintesis hemoglobin, serta eliminasi organel intraseluler (Koury, 2016; Bain, 2020).

Pada tahap akhir diferensiasi eritroid, eritroblas ortokromatik mengalami proses enukleasi sehingga menghasilkan retikulosit yang masih mengandung sisa ribosomal RNA di dalam sitoplasma. Retikulosit kemudian dilepaskan ke sirkulasi perifer dan mengalami maturasi lebih lanjut menjadi eritrosit matur dalam waktu sekitar 24–48 jam (Bain, 2020). Kondisi tersebut menunjukkan bahwa retikulosit dianggap sebagai indikator langsung aktivitas eritropoiesis sumsum tulang.

Proses diferensiasi eritroid sangat dipengaruhi oleh eritropoietin dan ketersediaan zat besi. Pada kondisi hipoksia, ginjal meningkatkan produksi eritropoietin yang akan merangsang proliferasi dan maturasi prekursor eritroid di sumsum tulang. Respons tersebut menyebabkan peningkatan produksi dan pelepasan retikulosit ke sirkulasi

sebagai bentuk kompensasi fisiologis terhadap peningkatan kebutuhan oksigen jaringan (Koury, 2016).

### **3. Regulasi Eritropoietin**

Eritropoietin (EPO) merupakan hormon glikoprotein utama yang mengatur eritropoiesis. Pada orang dewasa, sekitar 90% EPO diproduksi oleh fibroblas interstisial peritubular ginjal, sedangkan sisanya diproduksi di hati (Haase, 2017). Produksi EPO dikendalikan oleh mekanisme hipoksia melalui *hypoxia inducible factor* (HIF). Ketika tekanan oksigen jaringan menurun, HIF akan teraktivasi dan meningkatkan transkripsi gen eritropoietin sehingga kadar EPO dalam sirkulasi meningkat. Peningkatan kadar EPO kemudian merangsang proliferasi dan diferensiasi prekursor eritroid di sumsum tulang yang pada akhirnya meningkatkan produksi retikulosit sebagai respons terhadap kebutuhan oksigen jaringan (Locatelli & Fishbane, 2019).

Dengan demikian, jumlah retikulosit dalam sirkulasi perifer dapat mencerminkan aktivitas eritropoiesis yang dipengaruhi oleh stimulasi eritropoietin. Pada kondisi hipoksia, hemolisis, atau perdarahan akut, peningkatan kadar EPO biasanya diikuti oleh peningkatan jumlah retikulosit sebagai bentuk respons regeneratif sumsum tulang.

Selain hipoksia, produksi EPO juga dipengaruhi oleh berbagai kondisi seperti : inflamasi, penyakit ginjal kronik, status nutrisi, dan sitokin proinflamasi. Pada anemia penyakit kronik, peningkatan interleukin-6 (IL-6) dapat menurunkan respons eritropoietin dan menghambat eritropoiesis sehingga menyebabkan anemia inflamasi (Means, 2020).

### **4. Mikroenvironment Sumsum Tulang**

Mikroenvironment sumsum tulang atau *bone marrow niche* merupakan lingkungan biologis kompleks yang berperan penting dalam mendukung hematopoiesis. Niche sumsum tulang tersusun atas berbagai komponen seluler dan non-seluler seperti sel stromal, osteoblas, sel endotel,

makrofag, adiposit, matriks ekstraseluler, dan berbagai sitokin dan faktor pertumbuhan hematopoietik. Interaksi antara HSC dengan mikroenvironment sumsum tulang berperan dalam mempertahankan keseimbangan proliferasi, diferensiasi, dan maturasi sel hematopoietik (Morrison & Scadden, 2019).

Dalam eritropoiesis, makrofag sumsum tulang memiliki peran penting melalui pembentukan *erythroblastic island*, yaitu struktur mikroenvironment tempat eritroblas mengalami proliferasi dan maturasi. Makrofag pada struktur tersebut menyediakan zat besi, faktor pertumbuhan, dan dukungan metabolik yang diperlukan oleh prekursor eritroid selama proses diferensiasi eritroid (Chasis & Mohandas, 2018). Hal tersebut menunjukkan bahwa integritas mikroenvironment sumsum tulang sangat memengaruhi efektivitas eritropoiesis dan produksi retikulosit.

Gangguan pada mikroenvironment sumsum tulang dapat menyebabkan disfungsi hematopoiesis dan kegagalan eritropoiesis. Kondisi tersebut dapat ditemukan pada fibrosis sumsum tulang, anemia aplastik, sindrom mielodisplasia, maupun berbagai penyakit infiltratif sumsum tulang lainnya yang pada akhirnya memengaruhi produksi eritrosit dan jumlah retikulosit perifer.

## **5. Maturasi Eritrosit**

Maturasi eritrosit merupakan tahap akhir eritropoiesis yang ditandai oleh berbagai perubahan morfologis dan biokimia pada sel eritroid. Selama proses maturasi, eritroblas mengalami peningkatan sintesis hemoglobin, pengurangan organel intraseluler, kondensasi inti, proses enukleasi, dan perubahan komposisi membran sel. Perubahan tersebut bertujuan menghasilkan eritrosit matur yang memiliki deformabilitas optimal untuk transportasi oksigen di sirkulasi perifer (Chasis & Mohandas, 2018; Bain, 2020).

Retikulosit merupakan bentuk eritrosit imatur yang baru dilepaskan dari sumsum tulang ke sirkulasi perifer. Sel ini masih mengandung residu ribosomal RNA di dalam

sitoplasma yang dapat dideteksi melalui pewarnaan supravital maupun teknologi flow cytometry modern (Briggs et al., 2019; Bain, 2020 ). Oleh karena masih mengandung RNA residual, maka retikulosit dianggap sebagai indikator langsung aktivitas eritropoiesis sumsum tulang.

Secara fisiologis, retikulosit akan mengalami proses maturasi lanjutan berupa remodeling membran, eliminasi organel residual, dan penurunan kandungan RNA sebelum menjadi eritrosit matur. Proses ini berlangsung sekitar 24–48 jam di sirkulasi perifer. Pada kondisi stres eritropoietik seperti hemolisis, perdarahan akut, hipoksia berat, maupun terapi eritropoietin, sumsum tulang dapat melepaskan retikulosit yang lebih imatur ke sirkulasi perifer. Kondisi tersebut menyebabkan peningkatan parameter *immature reticulocyte fraction* (IRF) yang saat ini digunakan sebagai indikator dini respons eritropoiesis sumsum tulang (Piva et al., 2015).

## **6. Faktor Nutrisi Eritropoiesis**

Eritropoiesis normal memerlukan berbagai nutrisi yang berperan dalam sintesis DNA, proliferasi sel, dan pembentukan hemoglobin. Nutrisi utama yang terlibat dalam proses tersebut meliputi zat besi, vitamin B12, asam folat, protein, vitamin B6, dan tembaga.

Defisiensi zat besi dapat mengganggu sintesis hemoglobin sehingga menyebabkan anemia mikrositik hipokromik (Camaschella, 2019). Sedangkan defisiensi vitamin B12 dan asam folat dapat mengganggu sintesis DNA eritroblas sehingga menyebabkan gangguan maturasi inti sel yang mengakibatkan anemia megaloblastik. Selain itu, kondisi inflamasi kronik dapat meningkatkan produksi hepcidin yang menghambat absorpsi dan mobilisasi zat besi sehingga menurunkan efektivitas eritropoiesis (Ganz, 2019).

Gangguan faktor nutrisi eritropoiesis akan memengaruhi produksi retikulosit dan respons eritropoietik sumsum tulang. Dalam pemeriksaan klinis, parameter retikulosit seperti *reticulocyte hemoglobin equivalent* (Ret-He)

digunakan untuk mengevaluasi ketersediaan besi fungsional secara *real time* sehingga membantu diagnosis dini defisiensi dan monitoring terapi suplementasi besi (Brugnara, 2019; Mast et al., 2021).

### **C. Biologi Retikulosit**

Biologi retikulosit mencerminkan tahapan transisi penting antara eritroblas di sumsum tulang dan eritrosit matur di sirkulasi perifer. Karakteristik biologis retikulosit meliputi perubahan morfologi, proses maturase, waktu sirkulasi, dan adanya retikulosit stres. Pemahaman mengenai aspek biologis retikulosit penting dalam menginterpretasi pemeriksaan retikulosit karena perubahan jumlah dan maturitas retikulosit berkaitan erat dengan aktivitas eritropoiesis sumsum tulang serta respons hematopoietik terhadap berbagai keadaan klinis (Bain, 2020; Briggs et al., 2019).

#### **1. Morfologi Retikulosit**

Retikulosit merupakan eritrosit imatur non-nukleat yang berada pada tahap akhir diferensiasi eritroid sebelum menjadi eritrosit matur. Secara morfologis, retikulosit memiliki ukuran sedikit lebih besar dari eritrosit matur dengan nilai *Mean Corpuscular Volume* (MCV) relatif lebih tinggi karena masih mengandung sisa organel dan komponen intraseluler. Selama proses maturasi, ukuran retikulosit akan berangsur mengecil hingga mencapai morfologi eritrosit matur normal (Bain, 2020; Kaushansky et al., 2021).

Karakteristik utama retikulosit adalah keberadaan residual ribosomal RNA (rRNA) di dalam sitoplasma yang merupakan sisa aktivitas sintesis protein pada tahap akhir eritropoiesis. Pada pewarnaan Romanowsky, retikulosit tampak sebagai eritrosit polikromatofilik dengan warna kebiruan karena kandungan RNA residual. Kandungan RNA tersebut juga menjadi dasar pemeriksaan retikulosit modern menggunakan flow cytometry berbasis fluoresensi. Jumlah RNA residual mencerminkan tingkat maturitas retikulosit;

semakin imatur suatu retikulosit, semakin tinggi kandungan RNA yang dimilikinya (Briggs et al., 2019).

Berdasarkan intensitas fluoresensi RNA, retikulosit diklasifikasikan menjadi *high fluorescence reticulocytes* (HFR), *medium fluorescence reticulocytes* (MFR), *low fluorescence reticulocytes* (LFR). Klasifikasi tersebut menjadi dasar pembentukan parameter *Immature Reticulocyte Fraction* (IRF) yang saat ini digunakan sebagai indikator dini aktivitas eritropoiesis di sumsum tulang (Piva et al., 2015).

Dalam kondisi fisiologis normal, retikulosit menyusun sekitar 0,5–2,5% dari total eritrosit perifer pada individu dewasa sehat. Peningkatan jumlah retikulosit atau retikulositosis menunjukkan peningkatan aktivitas eritropoiesis, seperti pada hemolisis atau perdarahan akut, sedangkan retikulositopenia mencerminkan gangguan produksi eritrosit di sumsum tulang (Tefferi, 2021). Pada kondisi eritropoiesis stres, sumsum tulang dapat melepaskan retikulosit yang lebih imatur dengan kandungan RNA lebih tinggi ke sirkulasi perifer sebagai respons kompensatorik terhadap peningkatan kebutuhan eritrosit tubuh (Borowitz et al., 2020).

## **2. Proses Pematangan Retikulosit**

Pematangan retikulosit merupakan tahap akhir eritropoiesis yang berlangsung di sumsum tulang dan berlanjut di sirkulasi perifer. Setelah mengalami enukleasi dari eritroblas ortokromatik, retikulosit dilepaskan ke sirkulasi darah dan akan mengalami transformasi menjadi eritrosit matur dalam waktu sekitar 24–48 jam (Bain, 2020).

Selama proses pematangan, retikulosit mengalami berbagai perubahan struktural dan biokimia, meliputi degradasi RNA residual, eliminasi organel intraseluler, remodeling membran sel, penurunan volume sel, dan reorganisasi sitoskeleton. Proses tersebut berlangsung melalui mekanisme autophagy dan eksositosis vesikular yang dikendalikan oleh berbagai protein regulator intraseluler (Mankelaw et al., 2016).

Maturasi retikulosit dipengaruhi oleh berbagai faktor seperti kadar eritropoietin, status oksigenasi jaringan, metabolisme zat besi, dan kondisi mikroenvironment sumsum tulang. Gangguan pada proses maturasi dapat menyebabkan pelepasan retikulosit abnormal sehingga eritropoiesis tidak efektif sebagaimana ditemukan pada sindrom mielodisplasia dan anemia megaloblastik (Means, 2020). Hal tersebut menunjukkan bahwa perubahan maturasi retikulosit dapat mencerminkan gangguan aktivitas eritropoiesis pada berbagai kondisi hematologi.

### **3. Waktu Sirkulasi Retikulosit**

Dalam kondisi fisiologis normal, retikulosit berada di sumsum tulang selama sekitar 2-3 hari sebelum dilepaskan ke sirkulasi perifer. Setelah memasuki sirkulasi darah, retikulosit memerlukan waktu sekitar 24-48 jam untuk mengalami maturasi penuh menjadi eritrosit matur (Briggs et al., 2019; Bain, 2020).

Waktu sirkulasi dan maturasi retikulosit dapat berubah pada berbagai kondisi patologis. Pada anemia hemolitik atau perdarahan akut, peningkatan stimulasi eritropoietin akan mempercepat pelepasan retikulosit dari sumsum tulang. Retikulosit yang dilepaskan umumnya masih berada pada tahap maturasi lebih awal dengan kandungan RNA residual yang lebih tinggi sehingga memerlukan waktu maturasi perifer yang lebih panjang (Borowitz et al., 2020). Sebaliknya, pada anemia aplastik maupun kondisi supresi sumsum tulang lainnya, gangguan eritropoiesis menyebabkan penurunan produksi eritroid sehingga jumlah retikulosit di sirkulasi perifer menjadi menurun (Means, 2020). Hal ini menegaskan bahwa evaluasi jumlah dan maturitas retikulosit dapat memberikan gambaran mengenai respons eritropoiesis sumsum tulang terhadap berbagai kondisi klinis.

#### 4. Retikulosit Stress

Retikulosit stress merupakan retikulosit imatur yang dilepaskan secara prematur dari sumsum tulang sebagai respons terhadap peningkatan kebutuhan eritrosit tubuh. Kondisi ini umumnya ditemukan pada anemia hemolitik, perdarahan akut, hipoksia berat, terapi eritropoietin, maupun fase pemulihan pascakemoterapi dan transplantasi hematopoietik. Peningkatan stimulasi eritropoiesis pada keadaan tersebut menyebabkan sumsum tulang melepaskan retikulosit pada tahap maturasi yang lebih awal ke sirkulasi perifer (Briggs et al., 2019; Borowitz et al., 2020).

Dibandingkan retikulosit normal, retikulosit stress umumnya memiliki ukuran sel lebih besar, kandungan RNA residual lebih tinggi, dan waktu maturasi perifer yang lebih panjang. Peningkatan jumlah retikulosit stress mencerminkan respons kompensatorik eritropoiesis yang aktif terhadap kebutuhan oksigen jaringan atau kehilangan eritrosit (Briggs et al., 2019; Borowitz et al., 2020).

Secara klinis, kondisi tersebut sering ditunjukkan oleh peningkatan parameter *immature reticulocyte fraction* (IRF) pada automated hematology analyzer. Parameter IRF saat ini dianggap sebagai indikator dini aktivitas eritropoiesis dan pemulihan fungsi sumsum tulang, bahkan dapat mendeteksi recovery hematopoietik lebih awal dibandingkan jumlah retikulosit total setelah kemoterapi maupun transplantasi hematopoietik (Piva et al., 2015; Briggs et al., 2019).

#### D. Pemeriksaan Retikulosit

Pemeriksaan retikulosit merupakan salah satu pemeriksaan laboratorium penting dalam mengevaluasi aktivitas eritropoiesis di sumsum tulang. Seiring perkembangan teknologi hematologi, metode pemeriksaan retikulosit telah berkembang dari teknik manual berbasis mikroskopi menjadi metode otomatis berbasis flow cytometry dan *automated hematology analyzer*. Perkembangan tersebut meningkatkan sensitivitas, akurasi, dan kemampuan analisis parameter

retikulosit modern sehingga memberikan informasi diagnostik dan prognostik yang lebih luas dibandingkan hitung retikulosit konvensional (Piva et al., 2015).

Dalam praktik laboratorium, pemilihan metode pemeriksaan retikulosit dipengaruhi oleh berbagai faktor, termasuk tujuan klinis pemeriksaan, ketersediaan fasilitas dan instrumen laboratorium, tingkat akurasi yang dibutuhkan, serta kapasitas pelayanan laboratorium.

### **1. Metode Manual Supravital Staining**

Metode manual merupakan teknik pemeriksaan retikulosit klasik yang menggunakan pewarnaan supravital, antara lain new methylene blue, brilliant cresyl blue, dan azure B. Pewarna supravital tersebut akan mengendapkan residual ribosomal RNA di dalam sitoplasma retikulosit sehingga membentuk struktur granular atau filamentosa yang tampak sebagai reticulum pada pemeriksaan mikroskop cahaya (Bain, 2020).

Pada metode manual, retikulosit dihitung secara visual berdasarkan jumlah eritrosit dibandingkan total eritrosit pada preparat apus darah. Hasil pemeriksaan umumnya dinyatakan dalam persentase retikulosit terhadap eritrosit perifer. Metode ini masih digunakan di beberapa laboratorium dengan fasilitas terbatas karena prosedurnya relatif sederhana, biaya pemeriksaan lebih rendah, dan tidak memerlukan instrumen otomatis (ICSH, 2021).

Meskipun demikian, metode manual memiliki beberapa keterbatasan, seperti subjektivitas pengamat, variasi interobserver, sensitivitas yang rendah, serta akurasi yang terbatas terutama pada jumlah retikulosit rendah (ICSH, 2021). Oleh karena itu, perkembangan teknologi hematologi modern mendorong penggunaan metode otomatis yang memiliki presisi dan reproduktibilitas lebih baik.

### **2. Automated Hematology Analyzer**

Perkembangan automated hematology analyzer memungkinkan pemeriksaan retikulosit dilakukan secara otomatis menggunakan prinsip fluoresensi dan flow

cytometry internal. Teknologi ini memanfaatkan zat pewarna fluoresen yang berikatan dengan RNA residual retikulosit, kemudian dianalisis berdasarkan intensitas fluoresensi dan karakteristik ukuran sel (Briggs et al., 2019).

Metode automated hematology analyzer memiliki berbagai keunggulan dibandingkan pemeriksaan manual, antara lain waktu pemeriksaan yang lebih cepat, akurasi dan reproduksibilitas yang lebih baik, serta kemampuan menganalisis ribuan sel dalam waktu singkat. Selain menghitung jumlah retikulosit, metode automated hematology analyzer juga dapat menghasilkan berbagai parameter tambahan seperti *immature reticulocyte fraction* (IRF), *reticulocyte hemoglobin equivalent* (Ret-He), *high fluorescence ratio*, dan *reticulocyte maturity index* (Buttarelli, 2016).

Saat ini, metode automated hematology analyzer menjadi metode utama pemeriksaan retikulosit di laboratorium hematologi modern karena memiliki sensitivitas, spesifisitas, dan presisi yang lebih baik dibandingkan metode manual (Buttarelli, 2016). Perkembangan teknologi tersebut juga memungkinkan evaluasi aktivitas eritropoiesis dilakukan secara lebih akurat dan komprehensif dalam praktik klinis sehari-hari.

### **3. Flow Cytometry**

Flow cytometry merupakan metode pemeriksaan retikulosit dengan sensitivitas tinggi yang menggunakan pewarna fluoresen spesifik RNA dan analisis optik berbasis laser. Pada metode ini, sel darah dialirkan melalui sinar laser sehingga intensitas fluoresensi RNA residual pada retikulosit dapat diukur secara akurat (Borowitz et al., 2020; Briggs et al., 2019).

Metode flow cytometry mampu mendeteksi retikulosit imatur, mengukur kandungan RNA residual, dan mengevaluasi heterogenitas populasi retikulosit secara lebih detail dibandingkan metode konvensional. Tingginya sensitivitas dan akurasi metode ini menjadikannya

bermanfaat dalam penelitian hematologi, transplantasi sumsum tulang, monitoring kemoterapi, serta evaluasi dini aktivitas eritropoiesis (Borowitz et al., 2020).

Meskipun demikian, pemeriksaan flow cytometry memiliki keterbatasan berupa biaya yang relatif mahal, kebutuhan peralatan khusus, serta perlunya tenaga laboratorium yang terlatih dalam interpretasi hasil pemeriksaan. Namun, metode ini tetap menjadi salah satu pendekatan penting dalam evaluasi eritropoiesis modern karena mampu memberikan analisis retikulosit yang lebih komprehensif dan presisi (Briggs et al., 2019; ICSH, 2021)

#### **4. Immature Reticulocyte Fraction (IRF)**

*Immature reticulocyte fraction* (IRF) merupakan parameter yang menggambarkan proporsi retikulosit imatur dengan kandungan RNA residual tinggi di dalam sirkulasi perifer. Parameter ini dihitung berdasarkan intensitas fluoresensi RNA menggunakan automated hematology analyzer berbasis flow cytometry. Semakin tinggi kandungan RNA residual suatu retikulosit, semakin imatur tingkat maturitas sel tersebut (Piva et al., 2015).

Peningkatan nilai IRF menunjukkan adanya stimulasi eritropoiesis dini dan sering ditemukan pada kondisi seperti anemia hemolitik, perdarahan akut, fase pemulihan pascakemoterapi, transplantasi sumsum tulang, maupun terapi eritropoietin. Dibandingkan jumlah retikulosit total, IRF dianggap lebih sensitif dalam mendeteksi respons awal sumsum tulang terhadap peningkatan kebutuhan eritrosit atau proses recovery hematopoietik (Piva et al., 2015).

Dalam praktik klinis, IRF menjadi salah satu parameter penting untuk mengevaluasi aktivitas eritropoiesis secara dini karena dapat memberikan gambaran respons sumsum tulang sebelum terjadi peningkatan jumlah retikulosit total di sirkulasi perifer (Piva et al., 2015).

## 5. Reticulocyte Hemoglobin Equivalent (Ret-He)

*Reticulocyte hemoglobin equivalent* (Ret-He) merupakan parameter yang mengukur kandungan hemoglobin pada retikulosit. Parameter ini mencerminkan ketersediaan besi fungsional untuk eritropoiesis dalam beberapa hari terakhir karena retikulosit merupakan eritrosit yang baru dilepaskan dari sumsum tulang (Brugnara, 2019).

Secara klinis, Ret-He memiliki berbagai manfaat diagnostik, terutama untuk deteksi dini defisiensi besi, monitoring respons terapi suplementasi besi, evaluasi anemia penyakit kronik, serta penilaian status besi pada pasien penyakit ginjal kronik. Dibandingkan parameter besi konvensional seperti feritin serum, Ret-He dinilai lebih mampu menggambarkan ketersediaan besi aktual untuk eritropoiesis, terutama pada kondisi inflamasi kronik yang dapat memengaruhi interpretasi feritin serum (ICSH, 2021).

Saat ini, beberapa guideline internasional merekomendasikan penggunaan parameter retikulosit modern seperti Ret-He sebagai biomarker *iron-restricted erythropoiesis* dan monitoring terapi besi dalam praktik hematologi modern. Perbandingan berbagai metode pemeriksaan retikulosit dapat dilihat pada Tabel 6.1.

**Tabel 6.1** Perbandingan Metode Pemeriksaan Retikulosit

| <b>Metode</b>                 | <b>Prinsip Pemeriksaan</b>                            | <b>Sensitivitas</b> | <b>Spesifisitas</b> | <b>Akurasi</b> | <b>Kelebihan</b>                                          | <b>Kekurangan</b>                                            |
|-------------------------------|-------------------------------------------------------|---------------------|---------------------|----------------|-----------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|
| Manual Supravital Staining    | Pewarnaan RNA residual menggunakan pewarna supravital | Rendah-sedang       | Sedang              | Rendah         | Murah, sederhana, dapat dilakukan di laboratorium dasar   | Subjektif, variasi interobserver tinggi, sensitivitas rendah |
| Automated Hematology Analyzer | Deteksi fluoresensi RNA secara otomatis               | Tinggi              | Tinggi              | Tinggi         | Cepat, reproduksibel, mampu menghasilkan parameter modern | Biaya alat tinggi, membutuhkan kalibrasi                     |
| Flow Cytometry                | Analisis fluoresensi berbasis laser                   | Sangat tinggi       | Sangat tinggi       | Sangat tinggi  | Sangat sensitif, mampu mendeteksi retikulosit imatur      | Mahal, membutuhkan operator khusus                           |
| IRF                           | Analisis proporsi retikulosit imatur                  | Sangat tinggi       | Tinggi              | Tinggi         | Deteksi dini aktivitas eritropoiesis                      | Dipengaruhi standar alat                                     |

| Metode | Prinsip Pemeriksaan                 | Sensitivitas | Spesifisitas | Akurasi | Kelebihan                               | Kekurangan                           |
|--------|-------------------------------------|--------------|--------------|---------|-----------------------------------------|--------------------------------------|
| Ret-He | Pengukuran kandungan Hb retikulosit | Tinggi       | Tinggi       | Tinggi  | Deteksi dini defisiensi besi fungsional | Belum tersedia di semua laboratorium |

## DAFTAR PUSTAKA

- Bain, B.J. (2020) *Blood Cells: A Practical Guide*. 6th edn. Hoboken: Wiley-Blackwell.
- Borowitz, M.J. et al. (2020) '(Briggs et al., 2019; Borowitz et al., 2020). maturation and clinical applications', *International Journal of Laboratory Hematology*, 42(1), pp. 12–20.
- Briggs, C., Longair, I. and Slavik, M. (2019) 'The modern reticulocyte', *International Journal of Laboratory Hematology*, 41(S1), pp. 29–37.
- Brugnara, C. (2019) 'Reticulocyte hemoglobin equivalent in clinical practice', *International Journal of Laboratory Hematology*, 41(5), pp. 603–610.
- Buttarelo, M. (2016) 'Laboratory diagnosis of anemia: are the old and new red cell parameters useful in classification and treatment, how?', *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 54(12), pp. 1885–1895.
- Camaschella, C. (2019) 'Iron deficiency', *Blood*, 133(1), pp. 30–39. doi:10.1182/blood-2018-05-815944.
- Chasis, J.A. and Mohandas, N. (2018) 'Erythroblastic islands and red cell maturation', *Blood*, 112(3), pp. 470–478.
- Doulatov, S., Notta, F., Laurenti, E. and Dick, J.E. (2018) 'Hematopoiesis: a human perspective', *Cell Stem Cell*, 10(2), pp. 120–136.
- Ganz, T. (2019) 'Anemia of inflammation', *New England Journal of Medicine*, 381(12), pp. 1148–1157.
- Haase, V.H. (2017) 'Regulation of erythropoiesis by hypoxia-inducible factors', *Blood Reviews*, 27(1), pp. 41–53.
- ICSH (2021) *Guidelines for Reticulocyte Counting and Reporting*. International Council for Standardization in Haematology.
- Kaushansky, K. et al. (2021) *Williams Hematology*. 10th edn. New York: McGraw-Hill.

- Koury, M.J. (2016) 'Mechanisms of erythropoiesis', *Experimental Hematology*, 44(6), pp. 422–428.
- Locatelli, F. and Fishbane, S. (2019) 'Anemia management in chronic kidney disease', *Kidney International Supplements*, 9(1), pp. 37–47.
- Mankelow, T.J. et al. (2016) 'Autophagic vesicles in mature human reticulocytes', *Autophagy*, 12(2), pp. 264–271.
- Mast, A.E., Blinder, M.A. and Dietzen, D.J. (2021) 'Reticulocyte hemoglobin content', *American Journal of Hematology*, 96(9), pp. 1234–1242.
- Means, R.T. Jr. (2020) 'Pathogenesis of anemia of chronic disease', *Hematology/Oncology Clinics of North America*, 34(4), pp. 593–603.
- Morrison, S.J. and Scadden, D.T. (2019) 'The bone marrow niche for haematopoietic stem cells', *Nature*, 505(7483), pp. 327–334.
- Palis, J. (2021) 'Primitive and definitive erythropoiesis in mammals', *Frontiers in Physiology*, 2(1), pp. 1–9.
- Piva, E., Brugnara, C., Spolaore, F. and Plebani, M. (2015) 'Clinical utility of reticulocyte parameters', *Clinics in Laboratory Medicine*, 35(1), pp. 133–163.
- Tefferi, A. (2021) *Primary Hematology*. 3rd edn. New York: Humana Press.
- World Health Organization (WHO) (2023) *Global Anaemia Estimates, 2023 Edition*. Geneva: WHO.

# BAB 7

## MORFOLOGI DAN DIFERENSIASI LEUKOSIT

Dr. Sabarina Elfrida Manik, A.MAK., SKM., M.Pd

### A. Pengertian Hitung Jenis Sel

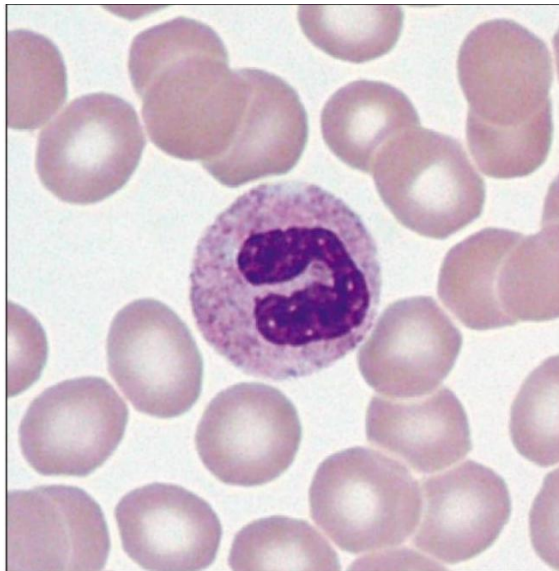
Hitung jenis sel atau *differential leukocyte count* merupakan pemeriksaan hematologi yang digunakan untuk menentukan persentase masing-masing jenis leukosit di dalam darah tepi. Pemeriksaan ini meliputi identifikasi neutrofil, eosinofil, basofil, limfosit, dan monosit yang memiliki fungsi berbeda dalam sistem imun tubuh. Menurut Hoffbrand dan Moss dalam *Essential Haematology*, pemeriksaan hitung jenis leukosit memiliki peran penting dalam membantu evaluasi klinis terhadap berbagai kondisi patologis seperti infeksi, inflamasi, alergi, serta gangguan hematologi.

Pemeriksaan hitung jenis sel dilakukan melalui pengamatan apusan darah tepi menggunakan mikroskop ataupun alat hematologi otomatis. Hasil pemeriksaan dapat menunjukkan perubahan jumlah leukosit tertentu yang berkaitan dengan kondisi penyakit tertentu. Peningkatan jumlah neutrofil umumnya ditemukan pada infeksi bakteri, sedangkan peningkatan limfosit sering dikaitkan dengan infeksi virus. Oleh karena itu, pemeriksaan hitung jenis sel menjadi salah satu bagian penting dalam diagnosis laboratorium di bidang hematologi.

## B. Jenis-Jenis Sel Darah dan Morfologinya

Morfologi sel darah merupakan ilmu yang mempelajari bentuk, ukuran, struktur, serta karakteristik sel darah yang diamati melalui pemeriksaan mikroskopis. Pengamatan morfologi dilakukan untuk mengetahui kondisi normal maupun abnormal dari sel darah sehingga dapat membantu tenaga kesehatan dalam menegakkan diagnosis penyakit. Pemeriksaan morfologi biasanya dilakukan pada apusan darah tepi dengan menggunakan pewarnaan khusus agar bentuk dan struktur sel terlihat lebih jelas.

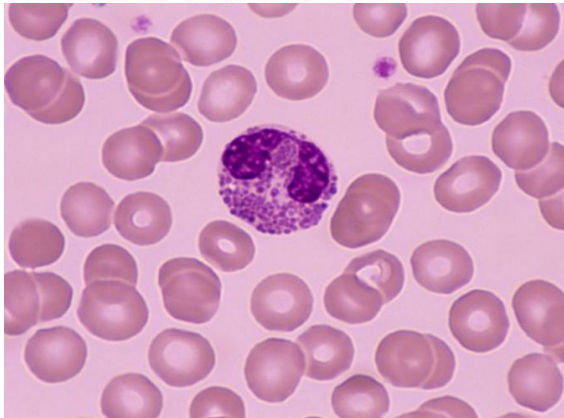
Setiap jenis sel darah memiliki karakteristik morfologi yang berbeda, baik dari bentuk inti, ukuran sel, warna sitoplasma, maupun keberadaan granula. Perubahan morfologi sel darah dapat menjadi indikator adanya gangguan kesehatan tertentu, seperti infeksi, peradangan, anemia, alergi, hingga kelainan darah. Oleh karena itu, pemeriksaan morfologi sel darah memiliki peranan penting dalam bidang hematologi karena membantu proses identifikasi dan evaluasi kondisi kesehatan pasien.



**Gambar 7.1** Neutrofil

Neutrofil merupakan jenis leukosit yang paling banyak ditemukan dalam darah manusia dan memiliki peran penting dalam sistem pertahanan tubuh, terutama dalam melawan infeksi bakteri. Sel ini termasuk ke dalam kelompok granulosit yang diproduksi di sumsum tulang dan bekerja melalui proses fagositosis, yaitu menangkap serta menghancurkan mikroorganisme asing yang masuk ke dalam tubuh. Dalam kondisi normal, jumlah neutrofil berkisar antara 50–70% dari total leukosit dalam darah sehingga menjadi komponen utama dalam respons imun tubuh.

Secara morfologi, neutrofil memiliki inti sel bersegmen yang umumnya terdiri dari tiga hingga lima lobus yang saling terhubung oleh benang kromatin tipis. Sitoplasma neutrofil mengandung granula halus berwarna pucat yang dapat diamati melalui pemeriksaan mikroskopis. Peningkatan jumlah neutrofil biasanya terjadi pada infeksi bakteri atau peradangan, sedangkan penurunannya dapat dikaitkan dengan gangguan kesehatan tertentu seperti infeksi virus atau kelainan sumsum tulang.



**Gambar 7.2** Eosinofil

Eosinofil merupakan salah satu jenis leukosit yang memiliki peran penting dalam sistem kekebalan tubuh, terutama dalam merespons reaksi alergi dan melawan infeksi parasit. Sel ini diproduksi di sumsum tulang dan dapat ditemukan di dalam

darah maupun jaringan tubuh tertentu. Dalam keadaan normal, jumlah eosinofil berkisar antara 1–4% dari total leukosit dalam darah. Peningkatan jumlah eosinofil biasanya ditemukan pada kondisi alergi, asma, infeksi parasit, maupun beberapa penyakit inflamasi tertentu.

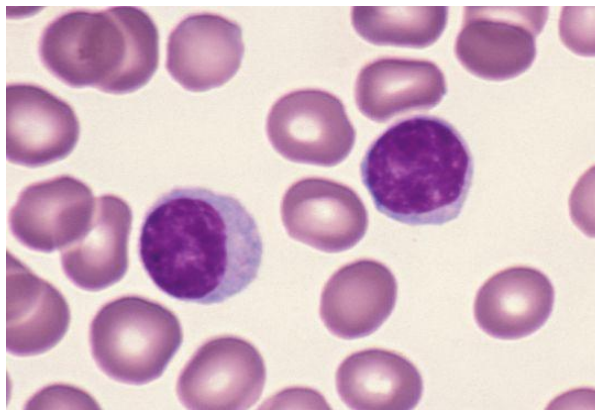
Secara morfologi, eosinofil memiliki inti sel yang umumnya terdiri dari dua lobus dan dihubungkan oleh benang kromatin tipis. Sitoplasma eosinofil mengandung granula besar yang tampak berwarna merah jingga saat dilakukan pemeriksaan mikroskopis dengan pewarnaan darah. Bentuk morfologi tersebut menjadi ciri khas eosinofil sehingga mudah dibedakan dari jenis leukosit lainnya pada pemeriksaan darah tepi.



**Gambar 7.3** Basofil

Basofil merupakan salah satu jenis leukosit yang memiliki jumlah paling sedikit di dalam darah, yaitu sekitar 0–1% dari total leukosit. Meskipun jumlahnya sedikit, basofil memiliki peran penting dalam sistem pertahanan tubuh, terutama pada reaksi alergi dan proses peradangan. Sel ini bekerja dengan melepaskan zat kimia seperti histamin dan heparin yang berfungsi membantu respons tubuh terhadap zat asing atau alergen yang masuk ke dalam tubuh. Peningkatan jumlah basofil dapat ditemukan pada kondisi alergi, peradangan kronis, maupun beberapa gangguan darah tertentu.

Secara morfologi, basofil memiliki inti sel yang tidak beraturan dan sering kali sulit diamati karena tertutupi oleh granula besar di dalam sitoplasma. Granula tersebut tampak berwarna biru tua atau ungu saat dilakukan pemeriksaan mikroskopis menggunakan pewarnaan darah. Karakteristik morfologi tersebut menjadi ciri khas basofil sehingga dapat dibedakan dari jenis leukosit lainnya pada pemeriksaan darah tepi

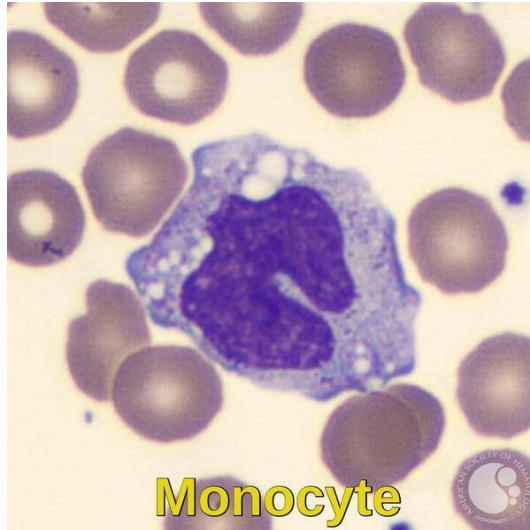


**Gambar 7.4** Limfosit

Limfosit merupakan salah satu jenis leukosit yang berperan penting dalam sistem kekebalan tubuh, terutama dalam melawan infeksi virus dan membantu pembentukan antibodi. Sel ini diproduksi di sumsum tulang dan berkembang pada organ limfoid, seperti limpa, timus, dan kelenjar getah bening. Limfosit memiliki fungsi utama dalam mengenali serta melawan zat asing yang masuk ke dalam tubuh sehingga berperan penting dalam menjaga daya tahan tubuh. Dalam kondisi normal, jumlah limfosit berkisar antara 20–40% dari total leukosit dalam darah. Peningkatan jumlah limfosit umumnya ditemukan pada infeksi virus, sedangkan penurunannya dapat terjadi pada gangguan sistem imun tertentu.

Secara morfologi, limfosit memiliki ukuran yang relatif kecil hingga sedang dengan inti sel besar berbentuk bulat atau oval yang hampir memenuhi seluruh bagian sel. Sitoplasma limfosit tampak tipis dan berwarna biru muda ketika diamati

melalui pemeriksaan mikroskopis menggunakan pewarnaan darah. Karakteristik tersebut menjadi ciri khas limfosit sehingga dapat dibedakan dari jenis leukosit lainnya pada pemeriksaan darah tepi.



**Gambar 7.5** Monosit

Monosit merupakan salah satu jenis leukosit yang berperan penting dalam sistem pertahanan tubuh melalui proses fagositosis, yaitu menghancurkan mikroorganisme, sel mati, dan zat asing yang masuk ke dalam tubuh. Sel ini diproduksi di sumsum tulang dan memiliki fungsi membantu sistem imun dalam melawan infeksi serta membersihkan sisa-sisa sel yang rusak. Dalam kondisi normal, jumlah monosit berkisar antara 2–8% dari total leukosit dalam darah. Peningkatan jumlah monosit umumnya dapat ditemukan pada infeksi kronis, peradangan, maupun beberapa gangguan kesehatan tertentu.

Secara morfologi, monosit memiliki ukuran yang lebih besar dibandingkan jenis leukosit lainnya dengan inti sel berbentuk oval, melengkung, atau menyerupai ginjal. Sitoplasma monosit tampak lebih luas dan berwarna kebiruan ketika diamati menggunakan mikroskop pada pemeriksaan darah tepi. Ciri morfologi tersebut menjadi pembeda monosit

dari jenis leukosit lainnya serta membantu proses identifikasi dalam pemeriksaan hematologi.

### C. Pemeriksaan Hitung Jenis Leukosit (*Differential Count*)

Pemeriksaan hitung jenis leukosit atau *differential leukocyte count (diff count)* merupakan salah satu pemeriksaan hematologi yang bertujuan untuk mengetahui persentase masing-masing jenis leukosit yang terdapat di dalam darah tepi. Pemeriksaan ini dilakukan dengan cara mengidentifikasi dan menghitung jenis leukosit, yaitu neutrofil, eosinofil, basofil, limfosit, dan monosit. Hasil pemeriksaan digunakan untuk membantu tenaga kesehatan dalam mengevaluasi kondisi tubuh serta mendukung proses diagnosis berbagai penyakit, seperti infeksi, peradangan, alergi, gangguan sistem imun, hingga kelainan darah tertentu.

Pemeriksaan *differential count* dilakukan menggunakan sampel darah yang dibuat menjadi apusan darah tepi (*blood smear*) di atas kaca objek. Preparat darah kemudian diberikan pewarnaan khusus, seperti pewarnaan Wright atau Giemsa, agar struktur dan morfologi sel darah terlihat lebih jelas saat diamati menggunakan mikroskop. Pengamatan dilakukan pada area preparat yang sesuai untuk memastikan distribusi sel darah dapat diamati secara optimal.

Dalam pemeriksaan ini, setiap jenis leukosit dihitung berdasarkan karakteristik morfologinya hingga mencapai jumlah tertentu, biasanya sebanyak 100 sel leukosit. Setelah proses perhitungan selesai, hasil dinyatakan dalam bentuk persentase dari total leukosit yang dihitung. Persentase tersebut kemudian dibandingkan dengan nilai normal untuk mengetahui adanya peningkatan atau penurunan jumlah jenis leukosit tertentu. Oleh karena itu, pemeriksaan hitung jenis leukosit memiliki peranan penting dalam bidang hematologi karena dapat memberikan gambaran mengenai kondisi kesehatan seseorang secara lebih rinci.

#### D. Menghitung Jumlah Jenis Leukosit (*Differential Count*)

Perhitungan jumlah jenis leukosit, atau yang dikenal dengan hitungan diferensial, dilakukan dengan cara mengamati preparat apusan darah tepi menggunakan mikroskop. Sebelum memulai pengamatan, sampel darah diolah menjadi preparat apusan darah kemudian diberi pewarnaan khusus seperti Wright atau Giemsa, agar bentuk dan struktur dari leukosit dapat terlihat secara jelas. Biasanya, pengamatan ini difokuskan pada bagian preparat yang menunjukkan distribusi sel darah yang merata.

Selama perhitungan, teknisi laboratorium akan mengidentifikasi dan melakukan pencatatan setiap jenis leukosit, termasuk neutrofil, eosinofil, basofil, limfosit, dan monosit, hingga jumlahnya mencapai 100 sel leukosit total. Setelah semua sel dihitung, hasilnya dicatat dalam bentuk persentase, sehingga jumlah keseluruhan harus setara dengan 100%. Selanjutnya, hasil ini dibandingkan dengan nilai normal untuk membantu mendeteksi adanya masalah kesehatan tertentu.

| Jenis Sel       | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | Jumlah | Nilai Normal |
|-----------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|--------|--------------|
| Basofil         |   |   |   |   |   |   |   |   |   |    |        | 0 - 1 %      |
| Eosinofil       |   |   |   |   |   |   |   |   |   |    |        | 1 - 3 %      |
| Monosit         |   |   |   |   |   |   |   |   |   |    |        | 2 - 8 %      |
| Limfosit        |   |   |   |   |   |   |   |   |   |    |        | 20 - 40 %    |
| Netrofil Batang |   |   |   |   |   |   |   |   |   |    |        | 2 - 6 %      |
| Segmen          |   |   |   |   |   |   |   |   |   |    |        | 50 - 70 %    |
| Total           |   |   |   |   |   |   |   |   |   |    |        |              |

#### E. Nilai Normal Leukosit pada Pemeriksaan Hitung Jenis Sel

Dalam analisis jumlah berbagai tipe leukosit, setiap jenis leukosit memiliki rentang nilai normal yang berbeda dalam darah manusia. Rentang nilai normal ini dijadikan tolak ukur untuk menentukan apakah terdapat peningkatan atau penurunan jumlah leukosit tertentu yang bisa mengindikasikan adanya masalah kesehatan. Fluktuasi jumlah leukosit dapat

dipengaruhi oleh kondisi fisik, infeksi, reaksi alergi, peradangan, serta beberapa penyakit tertentu.

Dalam pemeriksaan hitung diferensial, nilai normal leukosit umumnya terdiri dari neutrofil yang mencapai 50–70%, eosinofil 1–4%, basofil 0–1%, limfosit 20–40%, dan monosit 2–8% dari total leukosit yang terhitung. Hasil analisis yang berada di luar rentang normal bisa menjadi indikasi adanya masalah medis tertentu, sehingga perlu dilakukan pemeriksaan lanjutan oleh tenaga medis.

#### **F. Faktor yang Mempengaruhi Hasil Hitung Jenis Leukosit**

Hasil analisis jumlah leukosit dapat dipengaruhi oleh sejumlah elemen, baik yang bersifat fisiologis maupun patologis. Elemen fisiologis mencakup faktor umur, tingkat aktivitas fisik, keadaan stres, serta gaya hidup individu. Contohnya, stres baik fisik maupun emosional dapat meningkatkan jumlah jenis leukosit tertentu dalam aliran darah sebagai respons tubuh terhadap situasi tersebut.

Di samping elemen fisiologis, hasil analisis juga dapat terpengaruh oleh adanya penyakit atau kondisi tertentu, seperti infeksi bakteri, infeksi virus, reaksi alergi, proses peradangan, serta gangguan pada sistem kekebalan tubuh. Penggunaan obat-obatan tertentu juga bisa memengaruhi jumlah leukosit dalam darah. Oleh karena itu, pengertian hasil analisis jumlah leukosit perlu dilakukan dengan mempertimbangkan kondisi klinis pasien agar hasil pemeriksaan dapat dimanfaatkan dengan baik dalam mendukung proses diagnosis penyakit.

#### **G. Kelainan Jumlah Leukosit dan Hubungannya dengan Penyakit**

Perubahan dalam angka leukosit yang terlihat pada pemeriksaan jenis sel dapat menjadi tanda adanya masalah kesehatan tertentu. Baik peningkatan ataupun penurunan jumlah leukosit biasanya berkaitan dengan respon tubuh terhadap infeksi, alergi, inflamasi, atau gangguan pada darah.

Oleh sebab itu, hasil dari analisis leukosit sering kali digunakan sebagai dukungan diagnosis di bidang hematologi.

Neutrofilia adalah kondisi di mana terjadi peningkatan pada jumlah neutrofil, dan ini biasanya terlihat pada infeksi yang disebabkan oleh bakteri serta peradangan akut. Di sisi lain, neutropenia adalah kondisi di mana jumlah neutrofil mengalami penurunan, yang dapat disebabkan oleh infeksi virus atau masalah dengan sumsum tulang. Eosinofilia sering kali ditemukan pada orang dengan alergi atau infeksi parasit, sedangkan limfositosis bisa muncul saat terjadi infeksi virus. Selain itu, monositosis umumnya terdeteksi pada infeksi yang bersifat kronis, sedangkan meningkatnya jumlah basofil (basofilia) dapat terkait dengan reaksi alergi atau gangguan darah tertentu.

#### **H. Pentingnya Pemeriksaan Hitung Jenis Leukosit dalam Diagnosis Penyakit**

Pemeriksaan hitung jenis leukosit memiliki peranan penting dalam membantu proses diagnosis berbagai penyakit. Pemeriksaan ini dapat memberikan gambaran mengenai kondisi sistem kekebalan tubuh seseorang melalui jumlah dan persentase masing-masing jenis leukosit di dalam darah. Perubahan jumlah leukosit tertentu dapat menjadi petunjuk adanya infeksi, peradangan, alergi, maupun gangguan darah sehingga membantu tenaga kesehatan dalam menentukan diagnosis awal pasien.

Selain membantu diagnosis, pemeriksaan hitung jenis leukosit juga digunakan untuk memantau perkembangan penyakit dan efektivitas pengobatan yang diberikan. Sebagai contoh, peningkatan neutrofil sering ditemukan pada infeksi bakteri, sedangkan peningkatan limfosit lebih sering terjadi pada infeksi virus. Oleh karena itu, pemeriksaan hitung jenis leukosit menjadi salah satu pemeriksaan penting dalam bidang hematologi karena dapat memberikan informasi mengenai kondisi kesehatan seseorang secara lebih rinci.

## **I. Kelebihan dan Kekurangan Pemeriksaan *Differential Count***

Pemeriksaan *differential count* memiliki beberapa kelebihan, salah satunya adalah dapat membantu mengetahui perubahan jumlah masing-masing jenis leukosit sehingga mempermudah tenaga kesehatan dalam mendeteksi adanya gangguan kesehatan tertentu. Selain itu, pemeriksaan ini relatif mudah dilakukan dan sering digunakan sebagai pemeriksaan penunjang dalam diagnosis berbagai penyakit, terutama yang berkaitan dengan infeksi dan gangguan sistem imun.

Meskipun demikian, pemeriksaan *differential count* juga memiliki keterbatasan. Hasil pemeriksaan dapat dipengaruhi oleh kondisi pasien, kualitas preparat darah, serta ketelitian pemeriksa saat mengidentifikasi leukosit. Oleh karena itu, hasil pemeriksaan perlu diinterpretasikan bersama dengan pemeriksaan laboratorium lainnya dan kondisi klinis pasien agar diagnosis yang diberikan menjadi lebih akurat.

## DAFTAR PUSTAKA

- Bain, B. J. (2022). *Blood Cells: A Practical Guide*. Wiley-Blackwell.
- Dacie, J. V., & Lewis, S. M. (2017). *Practical Haematology*. Elsevier.
- Hoffbrand, A. V., & Moss, P. A. H. (2019). *Essential Haematology*. Wiley-Blackwell.
- McKenzie, S. B., & Williams, J. L. (2019). *Clinical Laboratory Hematology*. Pearson.
- National Center for Biotechnology Information. (2024). *Differential Leukocyte Count and Blood Cell Morphology*.
- Rodak, B. F., Fritsma, G. A., & Keohane, E. M. (2020). *Hematology: Clinical Principles and Applications*. Elsevier.
- Turgeon, M. L. (2020). *Clinical Hematology: Theory and Procedures*. Wolters Kluwer.
- World Health Organization. (2024). *Basic Haematology Techniques and Blood Examination*.

# BAB

# 8

## LIMFOPOIESIS DAN DIFERENSIASI SUBPOPULASI LIMFOSIT

dr. Yulia Nadar Indrasari, SpPK, Subsp. H.K.(K)

### A. Pendahuluan

Hematopoiesis merupakan proses yang sangat dinamis dan kompleks dimana seluruh komponen darah berasal dari sel punca hematopoietik (hematopoietic stem cells/HSCs) di dalam organ limfoid primer. Proses ini mencakup serangkaian tahapan penting, termasuk pembaruan sel (cell renewal), proliferasi, diferensiasi, dan maturasi. HSC adalah sel multipoten dengan kemampuan pembaruan diri seumur hidup (*lifelong cell-renewal*), dan memastikan produksi sel darah selama masa kehidupan (1). Sel hematopoietik diklasifikasikan ke dalam *lineage* limfoid dan mieloid, masing-masing terdiri dari berbagai subset dengan fungsi, distribusi, dan masa hidup yang berbeda (1).

Pada manusia, sumsum tulang dewasa menghasilkan semua sel darah kecuali limfosit T, dengan maturasi di timus, secara kolektif menghasilkan sekitar 200 miliar sel setiap hari (2). Secara klasik, sel *lineage* limfoid berkembang dari *common lymphoid progenitor* (CLP), yang terutama menghasilkan limfosit (2), tetapi juga dapat menghasilkan *plasmacytoid* (3) dan sel dendritik (DC) (4). CLP yang menuju timus bermigrasi dari sumsum tulang ke timus. Namun, limfosit B merupakan limfosit yang paling banyak berasal dari sumsum tulang (20%), diikuti oleh sel NK (Natural Killer) (5%) dan *innate lymphoid cells* (ILCs) (< 1%) (2).

Keganasan limfoid memiliki manifestasi klinis dan respons terapi yang beragam, sehingga subklasifikasi limfoma yang akurat merupakan aspek yang sangat penting dalam tata laksana klinis(5). Limfosit merupakan bagian dari *lineage* limfoid dan sistem limfatik terpisah, namun berinteraksi di sirkulasi darah, dimana prekursor limfosit dihasilkan di sumsum tulang. Artikel di Bab 11 ini akan membahas tentang diferensiasi limfosit B dan limfosit T serta maturasinya di jaringan limfoid sekunder (6).

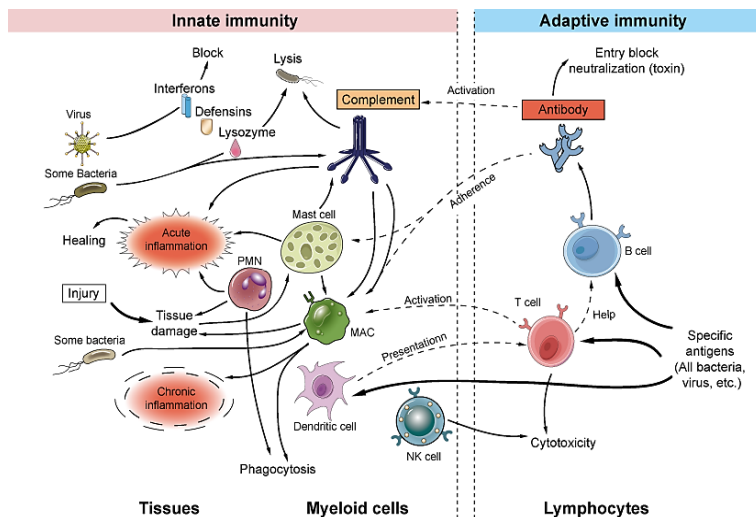
## **B. Ontogeni Hematopoietik: Limfoid**

Diferensiasi dan fungsi limfosit neoplasma sel B cenderung meniru berbagai tahap diferensiasi sel B normal, dan kemiripan dengan tahap sel normal ini merupakan dasar utama untuk klasifikasi dan nomenklaturanya (7).

Kelenjar getah bening (KGB) merupakan organ limfoid sekunder, yang sebagian besar terdiri dari sel imun hematopoietik, termasuk sebagian besar limfosit B dan T adaptif dan sebagian kecil sel imun alamiah, seperti makrofag, monosit, sel dendritik (DC), dan sel *natural killer* (NK). KGB juga mengandung populasi sel parenkim kompleks yang meliputi *high endothelial cells* (HECs), *lymphatic endothelial cells* (LECs), *fibroblastic reticular cells* (FRCs), dan *follicular dendritic cells* (FDCs). Sel parenkim ini memberikan sinyal struktural dan perkembangan penting pada sel imun dan berkontribusi pada fungsinya secara langsung (8).

Imunitas alamiah teraktivasi ketika sel mengenali berbagai jenis mikroorganisme (bakteri, virus, dan sebagainya) melalui serangkaian reseptor khusus (pattern recognition receptors-PRRs) yang melakukan penetrasi dan berhasil menembus komponen imunitas alamiah pejamu (host). Ikatan dan interaksi pada reseptor ini mengaktifkan sejumlah mekanisme dasar, seperti fagositosis bakteri oleh makrofag dan neutrofil, atau pelepasan interferon. Berbagai mekanisme yang terlibat dalam imunitas alamiah sebagian besar sama dengan mekanisme yang bertanggung jawab untuk reaksi non-spesifik

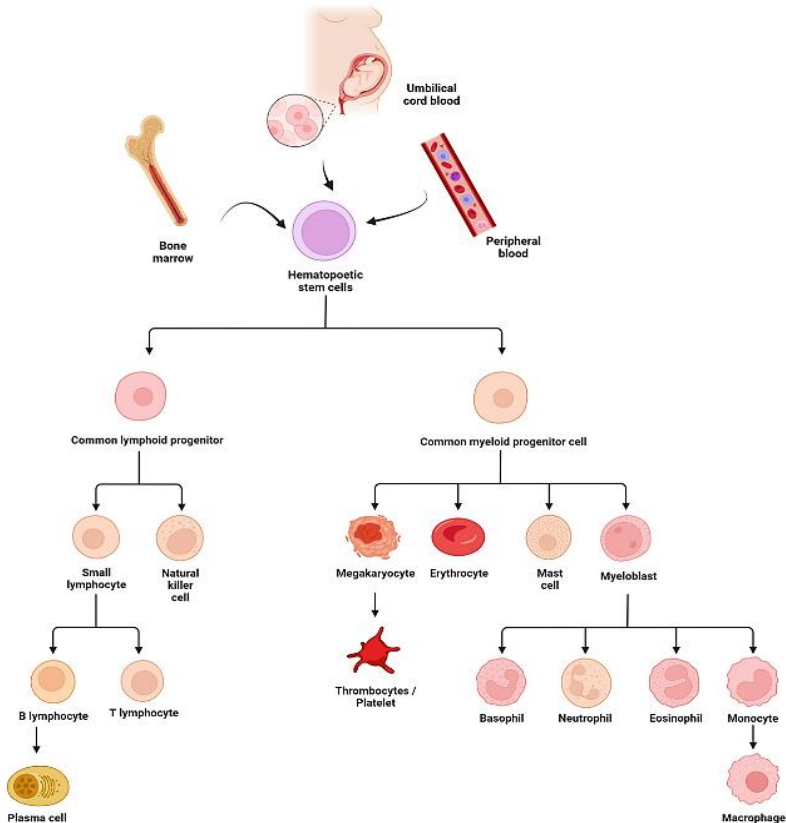
terhadap kerusakan jaringan, dengan menghasilkan suatu proses inflamasi (**Gambar 8.1**) (9).



**Gambar 8.1** Sistem Imun terbagi atas Sistem Imun Alamiah (innate) dan Adaptif (adaptive), sebagai mediator ketika terdapat patogen (bakteri, virus) yang masuk ke dalam pejamu (host). Masing-masing terdiri dari unsur seluler (bagian bawah) dan humoral (terdapat dalam serum atau cairan tubuh; bagian atas). Mekanisme adaptif menjalankan banyak fungsi interaksi dengan mekanisme sistem *innate* sebelumnya (9).

Sistem imun adaptif menghasilkan respons imun yang lebih kompleks, dengan 2 komponen terpenting yaitu spesifisitas antigen dan memori (7). Kemajuan konsep penting dalam biologi *innate lymphoid cells* (ILCs) adalah penemuan bahwa populasi sel ini berpotensi berfungsi sebagai sel penyaji antigen (antigen-presenting cells) dan memodulasi respons imun adaptif secara langsung. Studi awal mengidentifikasi bahwa sel *LTi* (lymphoid tissue-inducer cells) janin mengekspresikan molekul MHC kelas II. *ILC* memodulasi respons imun adaptif melalui produksi molekul efektor *soluble* yang memberikan efeknya secara langsung maupun melalui aktivasi sel epitel dan sel mieloid (sel dendritik (DC) dan fagosit mononuklear (MNP)) di dalam jaringan (10). *ILC* juga berperan

penting sebagai sumber sitokin efektor selama infeksi atau inflamasi, selain berperan menghubungkan respons imun *innate* dan adaptif. ILC memengaruhi fungsi dan kualitas respons imun adaptif dengan kompleks *microenvironment* jaringan (10).



**Gambar 8.2** Diferensiasi Sel Punca Hematopoietik (HSC) (11).

Berikut komponen penting dalam diferensiasi sel punca hematopoietik (HSC), berfokus pada *lineage* limfoid:

### 1. *Hematopoietic Stem Cell (HSC)*

Sel punca hematopoietik (HSC) memiliki kemampuan untuk memperbarui diri (*self-renew*) dan berdiferensiasi menjadi semua jenis sel darah, terutama yang terlibat dalam sistem kekebalan tubuh manusia. Diferensiasi sel *lineage* ini terbagi dua kelas, yaitu garis keturunan (*lineage*) limfoid dan mieloid. Sel limfoid terdiri dari sel *natural killer* (NK), limfosit

T dan B, sedangkan sel mieloid terdiri dari granulosit (neutrofil, eosinofil, dan basofil), monosit, makrofag, eritrosit, megakariosit, dan sel mast. Meskipun sel limfoid dan mieloid berasal dari *long-term hematopoietic stem cells* (LT-HSCs) yang sama, mereka memiliki jalur diferensiasi yang berbeda (12).

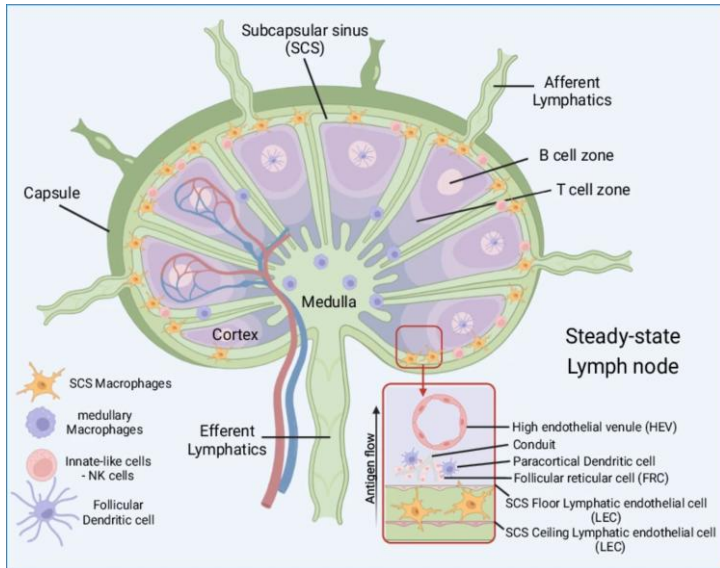
Sel punca hematopoietik (HSC) adalah sekelompok sel punca pluripoten yang terdapat dalam jaringan hematopoietik. Mereka adalah sekelompok sel hematopoietik primitif yang dapat berdiferensiasi dan menghasilkan berbagai sel darah matur (sel darah merah, makrofag, trombosit, limfosit, dll.) untuk mempertahankan fungsi fisiologis normal (**Gambar 8.2**) (11).

HSC tidak memiliki karakteristik morfologi yang berbeda, dimana morfologi serta ukurannya mirip dengan limfosit normal. Sebagian besar HSC berada dalam *G phase* dan tidak mengekspresikan antigen spesifik garis keturunan (antigen *Lin*, termasuk *CD13*, *CD14*, *CD91*, *CD19*, *CD3*, *CD59*, *CD33*, *CD38*, *HLA-DR* dan penanda lainnya) tetapi sering mengekspresikan *CD34*, *CD133*, *Sca-1*, dan *ABCG*. HSC dapat menghasilkan sel progenitor hematopoietik, sel prekursor, dan berbagai jenis sel darah matur (11).

## 2. *Common Lymphoid Progenitor (CLP)*

LT-HSCs berdiferensiasi menjadi *short-term HSCs* (ST-HSCs) yang memiliki kemampuan *self-renewal* yang terbatas. ST-HSCs kemudian berdiferensiasi menjadi *common lymphoid progenitor* (CLP) dan *common myeloid progenitor* (CMP). CLP (*Lin<sup>-</sup> CD34<sup>+</sup> CD10<sup>+</sup>Thy-1<sup>-</sup>* dari sumsum tulang) memiliki kemampuan berdiferensiasi menjadi limfosit B, limfosit T, sel NK, dan sel dendritik. CLP berdiferensiasi menjadi *pro-B cells* pada *B-cell lineages*. CLP juga berdiferensiasi menjadi *pro-T cells* di timus. HSC pada individu dewasa mengekspresikan *marker* atau penanda *Lin<sup>-</sup>CD34<sup>+</sup>CD10<sup>+</sup>* yang merupakan *marker* CLP dengan kemampuan potensial dalam ekspresi diferensiasi limfoid secara lengkap pada pembentukan limfosit B, sel NK, maupun limfosit T. CLPs di timus, mengekspresikan *T-cell surface markers*, yaitu *CD4* dan *CD8*

yang khas. Sel NK mengekspresikan fenotipe *surface marker*, yaitu CD56 dan CD3. Sedangkan  $CD19^+$  B cells juga merupakan diferensiasi dari *lineage* limfosit B yang menggambarkan kemampuan diferensiasi CLP (12).



**Gambar 8.3** Struktur Jaringan *Lymph Nodes* (LN) pada *Steady State*.

Cairan limfa yang dikeluarkan dari jaringan melalui pembuluh limfa aferen mengalir searah dari *subcapsular sinus* (SCS) ke daerah medula dan keluar melalui pembuluh limfa eferen. Pada area perbatasan SCS dan korteks LN, jaringan sel yang kompleks (makrofag SCS, DC parakortikal, *lymphatic endothelial cell*-LEC, dan *follicular reticular cell*-FRC), saluran, dan *fibril PLVAP* (*Plasmalemma Vesicle-Associated Protein*) akan menyaring antigen dan patogen ke dalam korteks LN. Di dalam zona korteks sel B dan sel T, sel dendritik (DC) parakortikal dan folikuler mengaktifkan *antigen-specific lymphocytes* (13).

### 3. *Microenvironment* Sumsum Tulang (*Bone Marrow Niche*)

*Microenvironment*, dikenal juga sebagai *niche* merupakan komponen spasial khusus yaitu lokasi sel progenitor yang akan mendapatkan stimuli khusus dalam fungsi dan diferensiasi selnya. *Osteoblast* pada regio kavitas trabekular tulang merupakan *niche* untuk *HSC*. *Osteoblast* mengekspresikan molekul adesi seperti *N-cadherin* dan *VCAM-1*, yang berfungsi untuk mempertahankan *HSC* di dalam *niche*-nya. *Osteoblast* juga memberikan sinyal penting untuk menjaga *HSC* dalam keadaan *quiescent* dan tidak terdiferensiasi, seperti angiopoietin dan *Jagged-1*. *Niche* vaskular untuk *HSC* juga diidentifikasi, dimana *HSC* ditemukan berasosiasi dengan sel retikular yang mengekspresikan *CXCL12* di endotelium sinusoid. *Microenvironment* sangat menunjang proses diferensiasi spesifik pada berbagai tahap selama perkembangan limfosit B dan T (14).

Timosit CD4 dan CD8 *double negative* (DN) berada di kapsul dan area subkapsular timus, sedangkan timosit *double positive* (DP) dihasilkan di korteks bagian luar. Seleksi positif dan negatif timosit DP kemudian terjadi di korteks, dan DP yang diseleksi positif akan bermigrasi ke medula untuk mengalami proses maturasi menjadi timosit *single positive* (SP). *Niche* khusus juga menunjang proses diferensiasi limfosit B pada berbagai tahap perkembangan di sumsum tulang. Sel yang mengekspresikan *CXCL12/SDF-1a* di sumsum tulang membentuk *niche* untuk sel *pre-proB*, sedangkan sel *proB* bersama dengan sel stroma penghasil *IL-7* dimana hal ini berbeda dari sel yang mensekresikan *SDF-1a* (14).

### C. Mekanisme Regulasi Awal Limfopoiesis

Regulasi lineage memerlukan koordinasi yang kompleks antara pensinyalan eksternal dan jaringan genetik internal. Faktor transkripsi spesifik menentukan progenitor multipotent

hingga berdiferensiasi menjadi sub tipe limfoid matur yang terdiri dari 3 (tiga) aspek berikut, yaitu:

### **1. Spesifikasi Limfosit B**

Spesifikasi limfosit B dipengaruhi sebagian besar oleh ekspresi faktor seperti *E2A*, *Early B-Cell Factor 1* (EBF1), dan *Paired Box 5* (Pax5). Faktor-faktor ini memulai proses rekombinasi V(D)J (15).

### **2. Diferensiasi Limfosit T**

Diferensiasi limfosit T dipicu oleh sinyal *Notch* saat sel progenitor bermigrasi ke timus, dibantu oleh faktor transkripsi penting seperti *GATA3* dan *TCF1* (11).

### **3. Perkembangan Sel NK (Natural Killer)**

Sel NK merupakan limfosit sitotoksik khusus yang melindungi dan sebagai pertahanan melawan patogen (infeksi virus) dan keganasan. Faktor transkripsi *Notch family* berperan sebagai tahap awal *CLP* dan memfasilitasi perkembangan limfosit. *Notch ligands* spesifik diekspresikan oleh sel stromal pada perkembangan limfosit, yang akan mempengaruhi limfosit *innate* atau adaptif. *Notch ligands Jagged1/2* dan *Delta-like protein-1* (DLL-1) memicu perkembangan sel NK dan limfosit T. *Signal transducer and activator of transcription 5* (STAT5) yang mengatur sinyal reseptor IL-15 (IL-15R) pada sel NK, secara langsung mengatur ekspresi berbagai gen yang terlibat dalam diferensiasi, *survival*, dan fungsi sel NK (16). Perkembangan sel NK juga sangat dipengaruhi oleh ekspresi faktor transkripsi *Id2*, yang menekan jalur perkembangan limfoid lainnya namun mengendalikan perkembangan *lineage* sel NK (17).

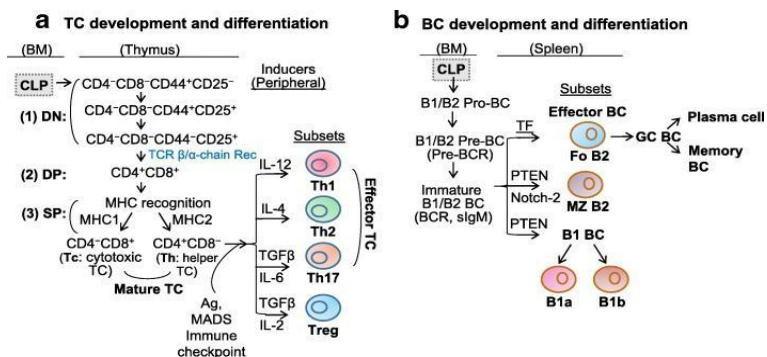
Transisi dari *pluripotential HSC* menjadi *common lymphoid progenitor* (CLP) tergantung pada regulasi atau pengaturan molekuler, yaitu *epigenetic remodeling* dan pensinyalan sitokin. Regulator kromatin (yaitu *Satb1*) berperan dalam menginduksi program spesifikasi *lineage* limfoid. *Satb1* berperan penting dalam proses limfopoiesis, dimana transduksi *Satb1* pada HSC dan sel punca embrio akan memicu diferensiasi limfosit (18).

*Soluble factors* dan sitokin dalam *microenvironment* sumsum tulang, seperti *interleukin-7* (IL-7) dan *Flt3-ligand*, terikat pada reseptor permukaan pada *multipotent progenitors*. Rangkaian jalur pensinyalan ini meneruskan sinyal ke efektor hilir (misalnya, protein *STAT*) yang akan mengaktifkan faktor transkripsi yang spesifik terhadap *lineage* limfoid (18).

#### D. Diferensiasi Limfosit T dan Limfosit B dari Sel Punca Hematopoietik (*Hematopoietic Stem Cell*)

Pada manusia, limfosit B berkembang terutama di sumsum tulang, sedangkan limfosit T mengalami maturasi di timus. Setelah mencapai tahap matur, kedua populasi sel ini akan bermigrasi menuju organ limfoid sekunder dan dapat mengalami diferensiasi lebih lanjut menjadi berbagai subset efektor dan memori sebagai respons terhadap stimulasi antigen (6).

Perkembangan limfosit B dimulai dari HSC di sumsum tulang yang berdiferensiasi menjadi CLP. Diferensiasi menuju *lineage* limfosit B dipengaruhi oleh faktor transkripsi penting seperti *Ikaros*, *PU.1*, *E2A*, *Early B-cell Factor-1* (EBF-1), dan *Paired Box Protein-5* (PAX5). PAX5 merupakan regulator utama sel B karena menghambat diferensiasi menuju garis keturunan lain sekaligus mengaktifkan ekspresi gen spesifik limfosit B. Pada tahap ini, *IL-7* yang diproduksi oleh sel stromal sumsum tulang berperan penting dalam mendukung proliferasi dan kelangsungan hidup progenitor limfoid (14).

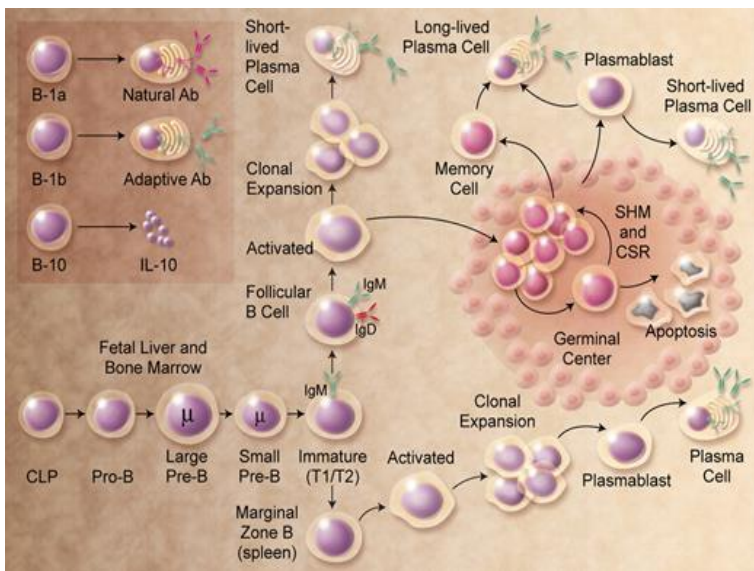


**Gambar 8.4** Limfoid Genesis dan Diferensiasi Subset (19).

### Keterangan Gambar:

- (a.) Diferensiasi sel T (TC). *Common lymphoid progenitor* (CLP) bermigrasi dari sumsum tulang (BM) ke timus memasuki tahap *double-negative* (DN, CD4-CD8-) (1). Sel tersebut awalnya mengekspresikan molekul adesi CD44 dan kemudian rantai  $\alpha$  dari reseptor *interleukin* (IL)-2 (CD25), akhirnya kehilangan CD44 dan mempertahankan CD25, pengaturan ulang *T-cell receptor* (TCR) rantai  $\beta$ , kemudian memasuki tahap *double-positive* (DP, CD4+CD8+); (2) Suatu tahap transisi pematangan TC. TC DP kemudian kehilangan ekspresi membran CD25, pengaturan ulang rantai  $\alpha$ , menghasilkan TCR  $\alpha\beta$  lengkap, yang memiliki kapasitas untuk mengenali molekul *major histocompatibility complex* (MHC) *host* (seleksi positif) yang utama, selanjutnya proses *survive* dan memasuki tahap *single positive* (SP, CD4+, atau CD8+) (3). Setelah TC berikatan dengan MHC1, mereka menjadi TC CD8+ dan disebut sebagai sel T sitotoksik (Tc), sedangkan yang berikatan dengan peptida MHC2 menjadi TC CD4+ dan disebut sebagai sel T Naïve (T0). TC SP ini kemudian menjalani “seleksi negatif” untuk menghilangkan pengenalan MHC yang terikat pada peptida, sehingga dapat menyelesaikan proses pematangan TC. Sel T0 dapat berdiferensiasi menjadi sel T efektor (sel T helper Th1, Th2, Th17) dan sel T regulator (Treg) di bawah pengaturan *antigen* (Ag) *presenting*, *immune checkpoint*, *cytokine inducers*, dan *metabolite-associated danger signal* (MADS), dan menghasilkan sitokin fungsional (19).
- (b.) Diferensiasi sel B (BC). *B1/B2-specific CLP* pertama kali berdiferensiasi menjadi sel progenitor BC B1/B2 (pro-BC), sel prekursor BC B1/B2 (pre-BC) dengan reseptor sel pre-B (BCR), dan kemudian menjadi BC B1/B2 imatur yang mengekspresikan BCR dan mensekresikan IgM. BC B1/B2 yang belum matang kemudian bermigrasi ke limpa dan berdiferensiasi menjadi BC B2 folikular (Fo), BC B2 zona marginal (MZ), BC B1 matur, yang tergantung pada faktor transkripsi yang diinduksi oleh sinyal yang berbeda, di

sumsum tulang. *BC Fo* dapat menghasilkan *germinal center B-cell* (*BC GC*) dengan sel dendritik atau *DC folikular* (sel stroma) dengan bantuan *T follicular helper* (*Tfh*) cells. Respons antibodi dengan afinitas yang matur kemudian menghasilkan sel B memori yang dengan afinitas tinggi terhadap antigen asing, serta sel plasma yang berumur panjang, yang dapat mensekresikan antibodi. *BC B2* merupakan mayoritas sel B limpa. Sel *B1 BC* yang matur selanjutnya berdiferensiasi menjadi *B1a* yang mensekresikan *IgM* dan *IL-10*, dan *B1b* yang memproduksi *IgM* (19).



**Gambar 8.5** Perkembangan sel B pada tahap yang saling berkaitan dimulai dari organ limfoid primer (liver fetus dan sumsum tulang dewasa) dengan fungsi maturasi yang terjadi pada organ limfoid sekunder (*lymph node* dan limpa) (20).

Keterangan: CLP, *common lymphoid progenitor*; SHM, *somatic hypermutation*; dan CSR, *class switch recombination*. Ilustrasi gambar oleh A. Y. Chen.

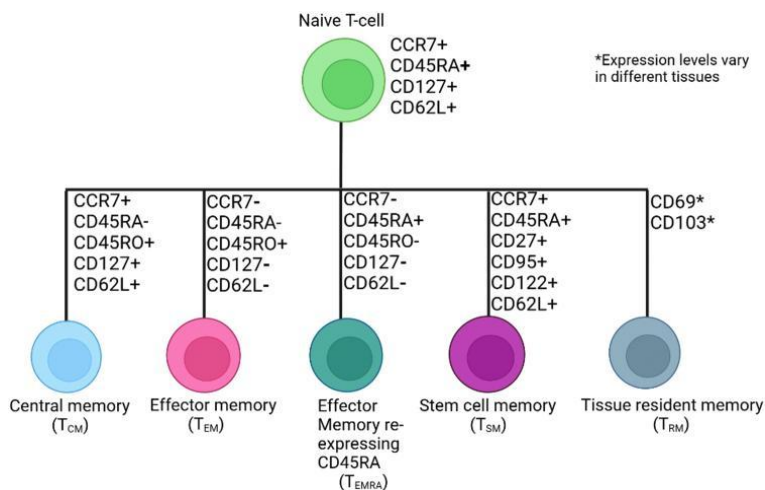
Gambar 8.5 tersebut menunjukkan garis besar tahapan perkembangan sel B pada tikus dan manusia. Populasi *B-1a*, *B-1b*, dan *B10* kurang terkarakterisasi dengan baik pada manusia (20). Selama 25 tahun terakhir, sekitar 10 molekul permukaan sel spesifik sel B telah diidentifikasi oleh antibodi monoclonal (mAb), dengan *non-B-cell expression* diidentifikasi setelah karakterisasi awal (**Tabel 8.1**). Nomenklatur umum ini meliputi *mAb* yang telah disetujui WHO sebagai "*cluster of differentiation*" (CD) melalui serangkaian lokakarya internasional tentang antigen diferensiasi leukosit manusia (20).

**Tabel 8.1** Molekul CD Permukaan Sel yang Diekspresikan Secara Preferensial (Khusus) oleh Sel B

| Name    | Original names | Cellular reactivity                        | Structure                  |
|---------|----------------|--------------------------------------------|----------------------------|
| CD19    | B4             | Pan-B cell, FDCs?                          | Ig superfamily             |
| CD20    | B1             | Mature B cells                             | MS4A family                |
| CD21    | B2, HB-5       | Mature B cells, FDCs                       | Complement receptor family |
| CD22    | BL-CAM, Lyb-8  | Mature B cells                             | Ig superfamily             |
| CD23    | FcεRII         | Activated B cells, FDCs, others            | C-type lectin              |
| CD24    | BA-1, HB6      | Pan-B cell, granulocytes, epithelial cells | GPI anchored               |
| CD40    | Bp50           | B cells, epithelial cells, FDCs, others    | TNF receptor               |
| CD72    | Lyb-2          | Pan-B cell                                 | C-type lectin              |
| CD79a,b | Igα,β          | Surface Ig <sup>+</sup> B cells            | Ig superfamily             |

FDCs indicates follicular dendritic cells.

Sel T diaktifkan ketika dipersiapkan oleh sel penyaji antigen (APC), yaitu suatu proses yang melibatkan presentasi antigen oleh APC dan presentasi selanjutnya ke sel T. Sel T yang teraktivasi akan bermigrasi ke jaringan tempat sel T *CD8+* dan *CD4+* menjalankan fungsi efektor dengan secara langsung melisiskan sel target melalui aksi granzim dan perforin, serta mensekresikan sitokin proinflamasi dan antiinflamasi.



**Gambar 8.6** Tahap Diferensiasi Sel T (21).

Sel T naif mengalami berbagai tingkat diferensiasi setelah aktivasi dan klirens n antigen. Tingkat diferensiasi ini disertai dengan profil fenotipik karakteristik, yang dapat digunakan untuk identifikasi sel T.

Sel T yang diaktifkan akan berdiferensiasi menjadi berbagai subset sel T, termasuk sel memori yang memungkinkan berespons cepat saat bertemu kembali dengan antigen. Sel T telah terbukti sangat penting bagi respons sistem imun terhadap kanker, sehingga penelitian *T cell-based cancer immunotherapies* berkembang secara signifikan. Contoh tipikal adalah *chimeric antigen receptor (CAR) T cells*, dimana *polyclonal T cells* yang dimodifikasi secara genetik dapat mengenali sel tumor secara spesifik (21).

## DAFTAR PUSTAKA

- Adu-Berchie K, Obuseh FO, Mooney DJ. T Cell Development and Function. *Rejuvenation Res* [Internet]. 2023 Aug;26(4):126–38. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10460695/pdf/rej.2023.0015.pdf>
- Anonym. Creative Diagnostics. 2025 [cited 2026 May 10]. p. 1–5 Innate and Adaptive Immunity. Available from: <https://www.creative-diagnostics.com/innate-and-adaptive-immunity.htm>
- Brillantes M, Beaulieu AM. Transcriptional control of natural killer cell differentiation. *Immunology* [Internet]. 2019 Feb;156(2):111–9. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6329199/>
- C. Marti L, S. Bacal N, C. Bento L, P. Correia R, A. Rocha F. Lymphoid Hematopoiesis and Lymphocytes Differentiation and Maturation. In: Pemac D, editor. *Lymphocyte Updates - Cancer, Autoimmunity and Infection* [Internet]. Lond: IntechOpen; 2017. p. 1–33. Available from: [https://www.researchgate.net/publication/318363220\\_Lymphoid\\_Hematopoiesis\\_and\\_Lymphocytes\\_Differentiation\\_and\\_Maturation/citations#fullTextFileContent](https://www.researchgate.net/publication/318363220_Lymphoid_Hematopoiesis_and_Lymphocytes_Differentiation_and_Maturation/citations#fullTextFileContent)
- Chang S, Pai LM, Lee CK. In Vitro Generation of Murine Plasmacytoid Dendritic Cells from Common Lymphoid Progenitors using the AC-6 Feeder System. *JoVE* [Internet]. 2015;(105):e53211. Available from: <https://app.jove.com/53211>
- Fang P, Li X, Dai J, Cole L, Camacho JA, Zhang Y, et al. Immune cell subset differentiation and tissue inflammation. *J Hematol Oncol* [Internet]. 2018 Jul;11(1):97. Available from: [https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6069866/pdf/13045\\_2018\\_Article\\_637.pdf](https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6069866/pdf/13045_2018_Article_637.pdf)

- Izon D, Rudd K, DeMuth W, Pear WS, Clendenin C, Lindsley RC, et al. A Common Pathway for Dendritic Cell and Early B Cell Development. *J Immunol* [Internet]. 2001 Aug 1;167(3):1387–92. Available from: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.167.3.1387>
- Kondo M. Lymphoid and myeloid lineage commitment in multipotent hematopoietic progenitors. In: *Immunological reviews* [Internet]. England; 2010. p. 37–46. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC2975965/pdf/nihms243208.pdf>
- Lai AY, Kondo M. T and B lymphocyte differentiation from hematopoietic stem cell. *Semin Immunol* [Internet]. 2008 Aug;20(4):207–12. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC2570370/pdf/nihms70838.pdf>
- LeBien TW, Tedder TF. B lymphocytes: how they develop and function. *Blood* [Internet]. 2008 Sep;112(5):1570–80. Available from: <https://ashpublications.org/blood/article/112/5/1570/25424/B-lymphocytes-how-they-develop-and-function>
- Melo-Silva CR, Sigal LJ. Innate and adaptive immune responses that control lymph-borne viruses in the draining lymph node. *Cell Mol Immunol* [Internet]. 2024;21(9):999–1007. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41423-024-01188-0>
- Melo-silva CR. Innate and adaptive immune responses that control lymph- borne viruses in the draining lymph node. *Cell Mol Immunol* [Internet]. 2024;21(May):999–1007. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41423-024-01188-0>
- Oh SKW, Choo ABH. Lymphoid Progenitor Cell. In: Moo-Young MBTCB (Second E, editor. *Comprehensive Biotechnology* (Second Edition) [Internet]. 2nd editio. Burlington: Academic Press; 2011. p. 341–65. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780080885049000386>

- Ramírez J, Lukin K, Hagman J. From hematopoietic progenitors to B cells: mechanisms of lineage restriction and commitment. *Curr Opin Immunol* [Internet]. 2010 Apr;22(2):177–84. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC2854230/pdf/nihms-185586.pdf>
- Ryan RJH, Wilcox RA. Ontogeny, Genetics, Molecular Biology, and Classification of B- and T-Cell Non-Hodgkin Lymphoma. *Hematol Oncol Clin North Am* [Internet]. 2019 Aug;33(4):553–74. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7216062/>
- Sanjuan-Pla A, Macaulay IC, Jensen CT, Woll PS, Luis TC, Mead A, et al. Platelet-biased stem cells reside at the apex of the haematopoietic stem-cell hierarchy. *Nature* [Internet]. 2013;502(7470):232–6. Available from: <https://doi.org/10.1038/nature12495>
- Satoh Y, Yokota T, Sudo T, Kondo M, Lai A, Kincade PW, et al. The Satb1 protein directs hematopoietic stem cell differentiation toward lymphoid lineages. *Immunity* [Internet]. 2013 Jun;38(6):1105–15. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3777575/pdf/nihms498778.pdf>
- Sonnenberg GF, Hepworth MR. Functional interactions between innate lymphoid cells and adaptive immunity. *Nat Rev Immunol* [Internet]. 2019 Oct;19(10):599–613. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6982279/>
- Swerdlow SH, Campo E, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J, et al. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Revised 4th. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, et al., editors. Lyon: International Agency for Research on Cancer (IARC); 2017. 16–21 p.

- Tian Z, Yu T, Liu J, Wang T, Higuchi A. Introduction to Stem Cells. In: Higuchi A, Zhou Y, Chiou SHBTP in MB and TS, editors. Principles of Regenerative Medicine [Internet]. London: Academic Press; 2023. p. 3–32. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1877117323000571>
- Zehentmeier S, Pereira JP. Cell circuits and niches controlling B cell development. Immunol Rev [Internet]. 2019 May 1;289(1):142–57. Available from: <https://doi.org/10.1111/imr.12749>

# BAB 9

## MORFOLOGI TROMBOSIT DAN MEKANISME TROMBOPOIESIS

dr. Esa Indah Ayudia, M.Biomed

### A. Pendahuluan

Trombosit (platelet) adalah fragmen sel anukleata terkecil dalam darah manusia, berdiameter 1–3 mikrometer ( $\mu\text{m}$ ) dengan volume 7–11 femtoliter (fL). Meskipun tidak berinti, trombosit merupakan komponen esensial dalam hemostasis primer, koagulasi sekunder, respons imun, dan repair vaskular. Tubuh manusia dewasa menghasilkan sekitar  $10^{11}$  trombosit per hari, dengan masa hidup sirkulasi sekitar 7–10 hari (Kaushansky et al., 2021; Hoffbrand & Steensma, 2020).

Proses pembentukan trombosit disebut *trombopoiesis*, yaitu serangkaian proses dua tahap yang meliputi: (1) diferensiasi sel induk hematopoietik (HSC) menjadi megakariosit matang yang dikenal sebagai *megakaryopoiesis*, dan (2) pelepasan trombosit dari megakariosit ke dalam sirkulasi darah. Pemahaman mendalam tentang morfologi trombosit dan mekanisme trombopoiesis sangat penting secara klinis, khususnya dalam diagnosis dan penatalaksanaan trombositopenia, kelainan trombosit herediter, serta pengembangan terapi berbasis sel (Kaushansky et al., 2021; Greer et al., 2018).

Bab ini membahas secara sistematis morfologi dan ultrastruktur trombosit normal, tahapan megakaryopoiesis, mekanisme molekular trombopoiesis, serta regulasi hormonal dan faktor transkripsi yang mengendalikan proses tersebut.

Seluruh uraian berpijak pada referensi buku teks hematologi standar internasional dan jurnal kedokteran terakreditasi.

## **B. Morfologi dan Ultrastruktur Trombosit**

### **1. Karakteristik Umum Trombosit Normal**

Dalam keadaan istirahat (*resting state*), trombosit berbentuk diskoid pipih berukuran  $1-3\ \mu\text{m} \times 0,5\ \mu\text{m}$ . Bentuk diskoid ini dipertahankan secara aktif oleh sistem sitoskeleton internal yang kompleks dan akan berubah menjadi sferis saat trombosit diaktivasi. Pada apusan darah tepi dengan pewarnaan May-Grünwald Giemsa, trombosit tampak sebagai granula kecil berwarna ungu kebiruan yang tersebar di antara eritrosit. Tidak adanya inti sel merupakan ciri khas yang membedakan trombosit dari leukosit dan megakariosit (Hoffbrand & Steensma, 2020; Greer et al., 2018).

Nilai rujukan jumlah trombosit pada orang dewasa sehat adalah  $150.000-400.000/\mu\text{L}$  darah. Kondisi dengan jumlah trombosit di bawah  $150.000/\mu\text{L}$  disebut *trombositopenia*, sedangkan jumlah di atas  $400.000/\mu\text{L}$  disebut *trombositosis* atau *trombositemia*. Nilai *mean platelet volume* (MPV) normal berkisar 7–11 femtoliter (fL); peningkatan MPV mengindikasikan trombopoiesis yang aktif (Kaushansky et al., 2021; Hoffbrand & Steensma, 2020).

### **2. Zona Ultrastruktur Trombosit**

Berdasarkan analisis menggunakan *transmission electron microscopy* (TEM) dan teknik tomografi elektron, ultrastruktur trombosit dibagi menjadi empat zona fungsional yang masing-masing berperan dalam aspek berbeda dari aktivitas trombosit (Italiano Jr. et al., 2021 dalam Kaushansky et al., 2021; Greer et al., 2018):

#### **a. Zona Perifer (Peripheral Zone)**

Zona perifer merupakan antarmuka antara trombosit dan lingkungan ekstraseluler, bertanggung jawab atas adhesi dan agregasi. Zona ini terdiri dari tiga lapisan. Pertama, *glikokaliks* – mantel karbohidrat eksterior setebal 15–20 nm yang mengandung

glikoprotein permukaan kunci, yaitu: kompleks GPIIb-IX-V (reseptor utama faktor von Willebrand/vWF), integrin  $\alpha$ IIb $\beta$ 3 (GPIIb/IIIa, reseptor fibrinogen), dan GPVI (reseptor kolagen). Kedua, membran plasma bilayer fosfolipid yang memuat reseptor untuk ADP (P2Y1, P2Y12), trombin (PAR-1, PAR-4), tromboxan A<sub>2</sub> (TP), dan prostaglandin. Ketiga, *subsurface area* yang merupakan zona membran bawah permukaan. Glikoprotein pada zona ini berperan kritis dalam pengenalan subendotel setelah cedera vaskular (Italiano Jr. et al., 2021 dalam Kaushansky et al., 2021; Greer et al., 2018).

**b. Zona Membran Intraselular (Membrane Zone)**

Zona membran intraselular berperan dalam kontraksi dan dukungan struktural trombosit, mencakup dua sistem membran utama. Pertama, *Open Canalicular System* (OCS) – jaringan saluran terbuka yang merupakan invaginasi membran plasma ke dalam sitoplasma. OCS berfungsi sebagai reservoir membran (menyediakan cadangan lipid untuk perubahan bentuk saat aktivasi) dan sebagai jalur sekresi cepat isi granula ke eksterior sel. Kedua, *Dense Tubular System* (DTS) – jaringan saluran tertutup yang homolog dengan retikulum endoplasma halus (smooth ER). DTS berfungsi sebagai depot kalsium intraseluler utama dan sebagai lokasi sintesis prostaglandin/tromboxan A<sub>2</sub>. Interaksi fungsional antara OCS dan DTS sangat penting dalam sinyal kalsium trombosit yang mengendalikan sekresi granula (Kaushansky et al., 2021; Greer et al., 2018).

**c. Zona Organela (Organelle Zone)**

Zona organela mengandung berbagai granula dan organel metabolik yang merupakan ciri khas trombosit:

- 1) Granula alfa ( $\alpha$ -granules):** merupakan granula terbesar (diameter 200–500 nm) dan terbanyak, berjumlah 40–80 per trombosit. Mengandung protein adhesif (fibrinogen, vWF, fibronektin, vitronektin, trombospondin), faktor koagulasi (Faktor V, VIII, XI,

XIII, protrombin), faktor pertumbuhan (PDGF, EGF, TGF- $\beta$ , VEGF), kemokin (PF4/CXCL4,  $\beta$ -tromboglobulin/CXCL7), dan P-selektin (CD62P) yang berpindah ke permukaan trombosit saat aktivasi sebagai penanda aktivasi (Kaushansky et al., 2021).

- 2) **Granula padat/delta ( $\delta$ -granules, dense bodies):** granula lebih kecil (diameter 150–300 nm) berjumlah 3–8 per trombosit, tampak sangat elektron-padat pada TEM. Mengandung ADP, ATP, serotonin (5-HT), kalsium ionik terkonsentrasi, dan polifosfat. Konten granula padat dilepaskan setelah aktivasi dan berfungsi merekrut serta mengamplifikasi aktivasi trombosit sekitar melalui jalur ADP-P2Y<sub>12</sub> (Greer et al., 2018; Hoffbrand & Steensma, 2020).
- 3) **Granula lisosomal ( $\lambda$ -granules):** mengandung enzim hidrolitik asam (katepsin D dan E,  $\beta$ -glukuronidase, N-asetil- $\beta$ -D-heksosaminidase, elastase) yang berperan dalam degradasi matriks ekstraseluler dan proses inflamasi lokal (Kaushansky et al., 2021).
- 4) **Mitokondria:** berjumlah 5–8 per trombosit, berperan dalam sintesis ATP melalui fosforilasi oksidatif, regulasi kalsium, dan pengendalian apoptosis trombosit melalui jalur mitokondrial (Greer et al., 2018).

#### d. Zona Sitoskeleton

Sitoskeleton trombosit mempertahankan bentuk diskoid dan memediasi semua perubahan morfologi saat aktivasi. Terdiri dari tiga komponen utama yang terorganisasi secara hierarkis: (1) *pita mikrotubulus perifer (marginal band)* – terdiri dari 8–12 gulungan tubulin- $\beta$ 1 yang melingkari tepi ekuatorial trombosit; mikrotubulus inilah yang secara mekanis mempertahankan bentuk diskoid dan bertanggung jawab atas perubahan bentuk saat aktivasi; (2) *jaringan aktin* – filamen aktin bercabang yang dihubungkan oleh protein linker (filamin-A,  $\alpha$ -aktinin, talin) ke membran plasma melalui integrin dan kompleks spektrin; (3) *skeleton membran berbasis spektrin* –

lapisan submembran yang menstabilkan membran plasma dan mengatur distribusi lateral reseptor permukaan. Mutasi pada komponen sitoskeleton ini mendasari berbagai kelainan trombosit herediter (Kaushansky et al., 2021; Greer et al., 2018).

**Tabel 9.1** Karakteristik Utama Zona Ultrastruktur Trombosit

| Zona                      | Komponen Utama                                                                     | Fungsi Utama                                                         |
|---------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|
| Zona Perifer              | Glikokaliks, GPIb-IX-V, GPIIb/IIIa ( $\alpha$ IIb $\beta$ 3), GPVI, membran plasma | Adhesi, agregasi, pengenalan ligan                                   |
| Zona Membran Intraselular | Open Canalicular System (OCS), Dense Tubular System (DTS)                          | Sekresi granula, depot $\text{Ca}^{2+}$ , sintesis prostaglandin     |
| Zona Organela             | $\alpha$ -granula, $\delta$ -granula, $\lambda$ -granula, mitokondria              | Penyimpanan dan sekresi mediator hemostasis                          |
| Zona Sitoskeleton         | Pita mikrotubulus (tubulin- $\beta$ 1), jaringan aktin, skeleton spektrin          | Mempertahankan bentuk diskoid, kontraksi, reorganisasi saat aktivasi |

Sumber: Italiano Jr. et al. (2021) dalam Williams Hematology edisi 10; Greer et al. (2018)

**C. Megakaryopoiesis: Diferensiasi Sel Induk Menjadi Megakariosit**

**1. Hierarki Sel Progenitor**

Trombopoiesis dimulai dari *hematopoietic stem cells* (HSC) multipoten di sumsum tulang. Jalur komitmen megakariositik mengikuti hierarki yang telah dipetakan secara mendetail sebagai berikut: HSC → *common myeloid progenitor* (CMP) → *megakaryocyte-erythroid progenitor* (MEP) → progenitor megakariositik terkomitasi (MkP) → megakarioblas → promegakariosit basofil → promegakariosit

granular → megakariosit matur (*platelet-shedding stage*). Waktu transit dari sel progenitor hingga pelepasan trombosit ke sirkulasi berkisar 4–7 hari pada manusia. Studi *single-cell RNA sequencing* terkini juga mengidentifikasi populasi HSC yang memiliki *bias megakariositik* (MK-biased HSC) yang secara preferensial berdiferensiasi ke lini megakariosit, terutama dalam kondisi respons darurat seperti perdarahan akut (Kaushansky, 2021 dalam Kaushansky et al., 2021; Hoffbrand & Steensma, 2020).

## **2. Endomitosis dan Poliploidisasi**

Ciri paling khas megakaryopoiesis adalah proses *endomitosis* — replikasi DNA berulang tanpa sitokinesis (pembelahan sel) — yang menghasilkan megakariosit poliploid dengan kandungan DNA 4N hingga 128N (modus 16N–32N pada manusia). Poliploidisasi ini memungkinkan akumulasi pool protein, granula, dan membran dalam jumlah yang sangat besar untuk menghasilkan ribuan trombosit dari satu sel. Secara mekanis, endomitosis terjadi akibat aberasi sitokinesis: alur pembelahan (*cleavage furrow*) terbentuk tetapi kemudian mengalami regresi karena penurunan aktivitas RhoA dan defisiensi aktin di zona ekuatorial, serta aktivasi Aurora-B kinase yang tidak lengkap. Faktor transkripsi GATA-1 dan NF-E2 berperan penting dalam mengatur program endomitosis ini (Kaushansky, 2021 dalam Kaushansky et al., 2021; Miyawaki et al., 2021).

## **3. Pematangan Megakariosit dan Sistem Membran Demarkasi**

Selama pematangan, megakariosit mengembangkan *Demarcation Membrane System* (DMS) — jaringan membran internal yang berasal dari invaginasi membran plasma secara progresif. DMS berfungsi sebagai reservoir membran yang diperlukan untuk pembentukan ribuan trombosit sekaligus dan sebagai kerangka yang menentukan 'wilayah' masing-masing trombosit sebelum pelepasan. Volume DMS meningkat secara dramatis seiring pematangan dan diperkirakan menyediakan sekitar 7 kali lipat luas

permukaan membran yang dibutuhkan. Megakariosit matang kemudian bermigrasi menuju sinusoid vaskular sumsum tulang, dipacu oleh gradien kemokin SDF-1/CXCL12 yang diproduksi sel endotel sinusoidal, sebelum mengekstendikan proplatelet ke dalam lumen vaskular (Kaushansky, 2021 dalam Kaushansky et al., 2021; Greer et al., 2018; Schulze et al., 2006).

#### **D. Mekanisme Trombopoiesis: Pelepasan Trombosit dari Megakariosit**

Penelitian menggunakan teknik pencitraan intravital dua-foton (*two-photon intravital microscopy*) dan mikroskopi fluoresensi resolusi tinggi mengungkapkan bahwa trombopoiesis terjadi melalui tiga mekanisme utama yang dapat berlangsung secara bersamaan sesuai kondisi fisiologis dan patologis (Kaushansky et al., 2021; Becker et al., 2023):

##### **1. Pembentukan Proplatelet (Proplatelet Formation/PPF)**

Pembentukan proplatelet merupakan jalur utama trombopoiesis fisiologis dalam kondisi homeostasis normal. Megakariosit matang mengekstendikan protrusi membran yang panjang dan ramping disebut *proplatelet* ke dalam lumen sinusoid vaskular. Proses ini berlangsung melalui tahapan terurut: (a) pseudopodi awal terbentuk di kutub vaskular megakariosit yang berada di dinding sinusoid; (b) elongasi proplatelet ditenagai oleh gaya geser (*shear force*) aliran darah sinusoid dan pergeseran aktif tubulus mikrotubulus; (c) tubulus mikrotubulus dalam batang proplatelet saling terjalin (*zippering*) membentuk loop di ujung-ujung proplatelet; (d) granula alfa, granula padat, dan organel ditransportasikan secara aktif sepanjang rel mikrotubulus menuju ujung proplatelet menggunakan motor molekular dynein (retrograde) dan kinesin (anterograde); (e) ujung proplatelet terpisah menghasilkan *preplatelets* (diameter ~2–10  $\mu\text{m}$ ) yang selanjutnya mengalami konversi menjadi pasangan trombosit berbentuk *barbell* yang membelah menjadi dua trombosit individu. Satu

megakariosit mengekstendikan puluhan hingga ratusan cabang proplatelet; setiap ujung cabang melepaskan satu trombosit, menghasilkan total sekitar 2.000–3.000 trombosit per megakariosit (Kaushansky et al., 2021; Italiano et al., 1999; Thon et al., 2011).

## **2. Fragmentasi Sitoplasma Eksplosif (MK Rupture)**

Mekanisme kedua, disebut juga *MK rupture* atau fragmentasi eksplosif, bersifat cepat dan masif. Mekanisme ini diaktifkan terutama sebagai respons terhadap kebutuhan trombosit yang mendesak, seperti setelah perdarahan akut atau dalam kondisi inflamasi sistemik. Interleukin-1 $\alpha$  (IL-1 $\alpha$ ) yang dilepaskan setelah deplesi trombosit akut mengaktifkan jalur sinyal IL-1R1  $\rightarrow$  kaspase-3 pada megakariosit, memicu ruptur membran dan pelepasan simultan ribuan trombosit ke sinusoid dalam waktu singkat. Trombosit yang dihasilkan melalui mekanisme ini umumnya sedikit lebih besar dan kurang matur dibanding trombosit yang dihasilkan melalui PPF, namun secara fungsional tetap aktif (Nishimura et al., 2015; Greer et al., 2018).

## **3. Budding Membran (Membrane Budding)**

Mekanisme ketiga, yaitu *membrane budding*, melibatkan pembentukan dan pelepasan trombosit langsung dari membran plasma megakariosit tanpa pembentukan proplatelet yang panjang. Mekanisme ini tampaknya berperan sebagai jalur komplementer PPF dan telah diobservasi terutama dalam kondisi tertentu serta di lokasi spesifik seperti kapiler paru (Becker et al., 2023).

## **4. Peran Paru-Paru dalam Trombopoiesis**

Penelitian terobosan oleh Lefrançois et al. (2017) menggunakan teknik pencitraan intravital dua-foton pada model murin mengungkapkan bahwa paru-paru bukan sekadar organ pernapasan, melainkan juga lokasi produksi trombosit yang signifikan. Megakariosit matang yang bermigrasi dari sumsum tulang melalui sirkulasi dapat masuk ke kapiler paru, di mana kondisi aliran darah dan lingkungan mikro setempat mendukung pelepasan trombosit

dalam jumlah besar. Pada model murin tersebut, estimasi menunjukkan bahwa sekitar separuh produksi trombosit total terjadi di vaskulatur paru. Relevansi proporsi ini secara langsung pada manusia masih memerlukan studi lebih lanjut, namun prinsip keterlibatan paru dalam trombopoiesis telah diterima secara luas (Lefrançois et al., 2017; Kaushansky et al., 2021).

**Tabel 9.2** Perbandingan Tiga Mekanisme Trombopoiesis

| Aspek                | Pembentukan Proplatelet      | Fragmentasi Ektoploisif    | Budding Membran            |
|----------------------|------------------------------|----------------------------|----------------------------|
| Kondisi aktif        | Homeostasis normal           | Inflamasi, perdarahan akut | Kondisi tertentu / paru    |
| Kecepatan            | Lambat (jam)                 | Cepat (menit)              | Moderat                    |
| Jumlah trombosit     | ~2.000–3.000/MK              | Sangat banyak/MK           | Bervariasi                 |
| Kematangan trombosit | Matur, fungsional penuh      | Sedikit lebih besar        | Fungsional                 |
| Mediator utama       | Mikrotubulus, dynein/kinesin | IL-1α, kaspase-3           | Belum sepenuhnya diketahui |

Sumber: Kaushansky et al. (2021); Greer et al. (2018); Nishimura et al. (2015); Becker et al. (2023)

### E. Regulasi Trombopoiesis

#### 1. Trombopoietin (TPO) dan Reseptor c-MPL

Trombopoietin (TPO) adalah glikoprotein sitokin dengan berat molekul 60–70 kDa yang merupakan regulator utama seluruh tahap trombopoiesis — dari pemeliharaan HSC, proliferasi progenitor megakariositik, poliploidisasi, hingga pematangan megakariosit dan pelepasan trombosit. TPO disintesis secara konstitutif terutama di hepatosit hati dan sel tubular ginjal, kemudian dilepaskan ke sirkulasi. Kadar TPO bebas dalam plasma diatur secara tidak langsung

melalui mekanisme *clearance*: trombosit dan megakariosit mengikat TPO melalui reseptor c-MPL dan menginternalisasinya, sehingga semakin tinggi massa trombosit dan megakariosit, semakin rendah kadar TPO plasma bebas. Mekanisme umpan balik negatif ini memastikan regulasi produksi trombosit yang tepat (Kaushansky, 2021 dalam Kaushansky et al., 2021; Hoffbrand & Steensma, 2020).

Selain mekanisme klirens klasik, penelitian terkini menunjukkan bahwa *desialilasi* trombosit yang menua dikenali oleh reseptor Ashwell-Morell di hepatosit, yang kemudian memicu peningkatan transkripsi gen TPO melalui jalur JAK/STAT3 – menyediakan jalur regulasi TPO yang independen dari jumlah trombosit (Hoffbrand & Steensma, 2020; Bussel et al., 2021).

TPO berikatan dengan reseptor c-MPL (CD110) yang diekspresikan pada HSC, semua tahap progenitor megakariositik, megakariosit matur, dan trombosit. Pengikatan TPO-c-MPL mengaktifkan tiga kaskade sinyal utama secara bersamaan: JAK2/STAT5 (proliferasi dan diferensiasi), PI3K/Akt (kelangsungan hidup sel), dan MAPK/ERK (diferensiasi dan maturasi) (Kaushansky et al., 2021).

## **2. Faktor Transkripsi Kunci dalam Megakaryopoiesis**

Program genetik diferensiasi megakariositik dikendalikan oleh jaringan faktor transkripsi yang saling berinteraksi dan beregulasi. Pemahaman tentang faktor-faktor ini sangat penting karena mutasi pada gen yang mengkodennya menyebabkan berbagai kelainan trombosit hereditas (Kaushansky et al., 2021; Miyawaki et al., 2021):

- a. **GATA-1**: faktor transkripsi zinc-finger yang berinteraksi dengan kofaktor FOG-1 (Friend of GATA-1). Kompleks GATA-1/FOG-1 esensial untuk maturasi megakariosit normal dan produksi trombosit. Mutasi GATA-1 menyebabkan trombositopenia kongenital berat dengan megakariosit yang besar tetapi tidak matur dan

bervakuola. Hilangnya GATA-1 pada megakariosit menyebabkan hiperproliferasi progenitor tanpa maturasi (Miyawaki et al., 2021).

- b. **FLI-1 (Friend Leukemia Virus Integration 1):** anggota keluarga faktor transkripsi ETS yang mengatur ekspresi gen glikoprotein permukaan trombosit (GPIb, GPIIb/IIIa) dan gen granula alfa. Bekerja sinergis dengan GATA-1 (Kaushansky et al., 2021).
- c. **RUNX1 (AML1):** esensial untuk komitmen sel ke lini megakariositik dan proses poliploidisasi. Mutasi RUNX1 germline menyebabkan *Familial Platelet Disorder with Myeloid Malignancy* (FPDMM) — trombositopenia hereditas dengan risiko leukemia tinggi (Miyawaki et al., 2021).
- d. **NF-E2 (Nuclear Factor Erythroid 2):** faktor transkripsi heterodimer yang merupakan regulator kunci pembentukan proplatelet. Tikus dengan *knockout* NF-E2 mengalami trombositopenia berat meskipun megakariosit terbentuk secara normal, membuktikan peran spesifiknya dalam tahap akhir pelepasan trombosit (Kaushansky et al., 2021).
- e. **ETV6 (TEL):** mutasi ETV6 germline menyebabkan trombositopenia hereditas yang belakangan diidentifikasi sebagai *ETV6-related thrombocytopenia*, juga dengan predisposisi leukemia limfoblastik akut (Miyawaki et al., 2021).

### 3. Mikro Lingkungan Sumsum Tulang (Bone Marrow Niche)

Megakariosit tidak berdiferensiasi secara terisolasi, melainkan sangat bergantung pada interaksi dengan komponen *niche* sumsum tulang. Komponen matriks ekstraseluler (fibronektin, kolagen tipe I dan IV, laminin, vitronektin) mengatur adhesi, polarisasi, dan survival megakariosit melalui integrin. Sel endotel sinusoidal memproduksi SDF-1/CXCL12 yang menarik megakariosit ke dinding sinusoid, serta faktor von Willebrand dan laminasi-411 yang mendukung PPF. Osteoblas, adiposit retikuler, dan

sel stroma menghasilkan faktor tambahan (SCF/Kit Ligand, IL-6, IL-11, FGF-4) yang bersinergi dengan TPO. Megakariosit yang berada dekat dengan sinusoid mengekstendikan proplatelet melalui gap junction endotel ke dalam lumen sinusoid (Kaushansky et al., 2021; Greer et al., 2018).

## **F. Relevansi Klinis**

### **1. Trombositopenia Imun (Immune Thrombocytopenia/ITP)**

ITP adalah gangguan autoimun didapat yang ditandai jumlah trombosit  $<100.000/\mu\text{L}$ . Patofisiologinya melibatkan dua mekanisme utama: (1) destruksi trombosit yang dipercepat – autoantibodi anti-GPIb (kompleks GPIb-IX-V) dan anti-GPIIb/IIIa mengoopsonisasi trombosit untuk difagositosis oleh makrofag lien dan hati, serta limfosit T sitotoksik (CTL) secara langsung menghancurkan trombosit; (2) gangguan produksi – autoantibodi dan CTL yang sama juga menyerang megakariosit yang mengekspresikan glikoprotein identik, menyebabkan gangguan pembentukan proplatelet. Kadar TPO yang relatif rendah pada ITP (dibanding aplasia sumsum tulang dengan derajat trombositopenia setara) mencerminkan masih adanya megakariosit yang berikatan dan menginternalisasi TPO. Pemahaman patofisiologi berlapis inilah yang menjadi landasan terapi agonis reseptor TPO (TPO-RA) seperti romiplostim, eltrombopag, dan avatrombopag (Hoffbrand & Steensma, 2020; Provan et al., 2019; Neunert et al., 2019).

### **2. Kelainan Trombosit Hereditas**

Mutasi pada gen yang mengkode komponen sitoskeleton, granula, atau reseptor permukaan trombosit menyebabkan kelainan trombosit hereditas yang dapat diklasifikasikan berdasarkan tahap trombopoiesis yang terganggu: (a) defek komitmen lini megakariositik – mutasi RUNX1, ETV6; (b) defek pematangan megakariosit – mutasi GATA1, MYH9 (sindrom May-Hegglin, Fechtner, Sebastian); (c) defek pembentukan proplatelet – mutasi GPIb (sindrom Bernard-Soulier), filamin-A, tubulin- $\beta 1$ ; dan (d) defek fungsi

trombosit tanpa trombositopenia bermakna – trombastenia Glanzmann (mutasi GPIIb/IIIa), defisiensi granula padat (sindrom Hermansky-Pudlak, Chediak-Higashi) (Kaushansky et al., 2021; Greer et al., 2018).

### 3. Perspektif Terapi: Produksi Trombosit In Vitro

Kemajuan dalam memahami mekanisme trombopoiesis telah mendorong pengembangan sistem produksi trombosit *in vitro* dari sel induk pluripoten terinduksi (*induced Pluripotent Stem Cells/iPSC*) untuk keperluan transfusi dan terapi. Tantangan utama yang masih dihadapi mencakup rendahnya efisiensi PPF *in vitro*, fungsionalitas trombosit yang dihasilkan, dan skalabilitas produksi. Penggunaan bioreaktor yang meniru kondisi aliran sinusoidal sumsum tulang dan teknik rekayasa niche telah menunjukkan peningkatan yang menjanjikan. Pada tahun 2022, Ito et al. melaporkan transfusi pertama trombosit yang diturunkan dari hiPSC pada manusia, yang meskipun menunjukkan sedikit peningkatan D-dimer transien, dinilai aman oleh komite evaluasi independen (Ito et al., 2022; Becker et al., 2023; Kaushansky et al., 2021).

## G. Rangkuman

Trombosit adalah fragmen sel anukleata berbentuk diskoid yang dihasilkan melalui proses trombopoiesis dua tahap dari sel induk hematopoietik di sumsum tulang. Ultrastrukturnya yang kompleks – mencakup zona perifer dengan glikoprotein reseptor kunci, zona membran intraselular dengan sistem OCS dan DTS, zona organela yang kaya granula alfa, granula padat, granula lisosomal dan mitokondria, serta zona sitoskeleton berbasis mikrotubulus-aktin-spektrin – mencerminkan kesiapan multifungsional trombosit dalam hemostasis, trombosis, dan respons imun.

Megakaryopoiesis berlangsung melalui diferensiasi HSC yang diikuti proses endomitosis khas menghasilkan megakariosit poliploid (16N–32N), pengembangan sistem membran demarkasi, dan migrasi ke dinding sinusoid.

Pelepasan trombosit terjadi melalui tiga mekanisme: pembentukan proplatelet sebagai jalur utama fisiologis, fragmentasi eksplosif (MK rupture) sebagai respons cepat terhadap kebutuhan mendesak, dan budding membran sebagai jalur pelengkap. Paru-paru juga berperan sebagai lokasi trombopoiesis yang bermakna pada model murin. Sumbu hormonal TPO/c-MPL mengatur seluruh proses melalui kaskade JAK2/STAT5, PI3K/Akt, dan MAPK/ERK, sementara faktor transkripsi GATA-1, FLI-1, RUNX1, dan NF-E2 mengendalikan program genetik diferensiasi. Pemahaman mekanisme ini terus menjadi fondasi untuk diagnosis kelainan trombosit dan pengembangan terapi inovatif.

## DAFTAR PUSTAKA

### A. Buku Teks

- Greer, J. P., Arber, D. A., Glader, B., List, A. F., Means, R. T., & Rodgers, G. M. (Eds.). (2018). *Wintrobe's Clinical Hematology* (14th ed.). Wolters Kluwer.
- Hoffbrand, A. V., & Steensma, D. P. (2020). *Hoffbrand's Essential Haematology* (8th ed.). Wiley Blackwell.
- Italiano Jr., J. E., Whiteheart, S. W., Bray, P. F., Li, Z., Coller, B. S., & Smyth, S. S. (2021). Platelet morphology, biochemistry, and function. Dalam K. Kaushansky, J. T. Prchal, L. J. Burns, M. A. Lichtman, M. Levi, & D. C. Linch (Eds.), *Williams Hematology* (10th ed., Bab 112). McGraw-Hill Education.
- Kaushansky, K. (2021). Megakaryopoiesis and thrombopoiesis. Dalam K. Kaushansky, J. T. Prchal, L. J. Burns, M. A. Lichtman, M. Levi, & D. C. Linch (Eds.), *Williams Hematology* (10th ed., Bab 111). McGraw-Hill Education.
- Kaushansky, K., Prchal, J. T., Burns, L. J., Lichtman, M. A., Levi, M., & Linch, D. C. (Eds.). (2021). *Williams Hematology* (10th ed.). McGraw-Hill Education.

### B. Jurnal

- Becker, I. C., Tilburg, J., & Italiano, J. E. (2023). Platelet generation in vivo and in vitro. *Blood*, 144(22), 2283–2294. <https://doi.org/10.1182/blood.2023022407>
- Bussel, J. B., Soff, G., Balduzzi, A., Cooper, N., Lawrence, T., & Semple, J. W. (2021). A review of romiplostim mechanism of action and clinical applicability. *Drug Design, Development and Therapy*, 15, 2243–2268. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S299591>

- Eto, K., & Kunishima, S. (2016). Linkage between the mechanisms of thrombocytopenia and thrombopoiesis. *Blood*, 127(10), 1234–1241. <https://doi.org/10.1182/blood-2015-07-607903>
- Italiano, J. E., Lecine, P., Shivdasani, R., & Hartwig, J. (1999). Blood platelets are assembled principally at the ends of proplatelet processes produced by differentiated megakaryocytes. *Journal of Cell Biology*, 147(6), 1299–1312. <https://doi.org/10.1083/jcb.147.6.1299>
- Ito, Y., Nakamura, S., Sugimoto, N., Shigemori, T., Kato, Y., Ohno, M., Sakuma, S., Ohnuki, K., Nakauchi, H., Hirano, T., Nagasawa, T., Shima, N., & Eto, K. (2022). Turbulence activates platelet biogenesis to enable clinical scale ex vivo production. *Cell*, 174(3), 636–648.e18. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.06.011>
- Lefrançois, E., Ortiz-Muñoz, G., Caudrillier, A., Mallavia, B., Liu, F., Cleary, S. J., Hamlington, K. L., Ito, K., Bhatt, D. L., & Bhatt, D. V. (2017). The lung is a site of platelet biogenesis and a reservoir for haematopoietic progenitors. *Nature*, 544(7648), 105–109. <https://doi.org/10.1038/nature21706>
- Miyawaki, K., Kato, K., & Iwasaki, H. (2021). Megakaryopoiesis and platelet biology: Roles of transcription factors and emerging clinical implications. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(17), 9615. <https://doi.org/10.3390/ijms22179615>
- Neunert, C., Terrell, D. R., Arnold, D. M., Buchanan, G., Cines, D. B., Cooper, N., ... & Vesely, S. K. (2019). American Society of Hematology 2019 guidelines for immune thrombocytopenia. *Blood Advances*, 3(23), 3829–3866. <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2019000966>
- Nishimura, S., Nagasaki, M., Kunishima, S., Sawaguchi, A., Sakata, A., Sakaguchi, H., ... & Eto, K. (2015). IL-1 $\alpha$  induces thrombopoiesis through megakaryocyte rupture in

- response to platelet depletion. *Journal of Cell Biology*, 209(3), 453–466. <https://doi.org/10.1083/jcb.201410052>
- Patel, S. R., Hartwig, J. H., & Italiano, J. E. (2005). The biogenesis of platelets from megakaryocyte proplatelets. *Journal of Clinical Investigation*, 115(12), 3348–3354. <https://doi.org/10.1172/JCI26252>
- Provan, D., Arnold, D. M., Bussel, J. B., Chong, B. H., Cooper, N., Gernsheimer, T., ... & Zwaginga, J. J. (2019). Updated international consensus report on the investigation and management of primary immune thrombocytopenia. *Blood Advances*, 3(22), 3780–3817. <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2019000812>
- Schulze, H., Korpai, M., Hurov, J., Kim, S. W., Zhang, J., Cantley, L., ... & Shivdasani, R. A. (2006). Characterization of the megakaryocyte demarcation membrane system and its role in thrombopoiesis. *Blood*, 107(10), 3868–3875. <https://doi.org/10.1182/blood-2005-07-2755>
- Thon, J. N., Montalvo, A., Patel-Hett, S., Devine, M. T., Richardson, J. L., Ehrlicher, A., ... & Italiano, J. E. (2011). Cytoskeletal mechanics of proplatelet maturation and platelet release. *Journal of Cell Biology*, 191(4), 861–874. <https://doi.org/10.1083/jcb.201006102>
- Yang, S., Wang, L., Wu, Y., Wu, A., Huang, F., Tang, X., ... & Wang, J. (2023). Apoptosis in megakaryocytes: Safeguard and threat for thrombopoiesis. *Frontiers in Immunology*, 13, 1025945. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.1025945>

# BAB 10

## TEKNIK PEMBUATAN DAN PEWARNAAN SEDIAAN APUS DARAH

**Zulfikar Husni Faruq, M.Si**

### **A. Pendahuluan**

Kemajuan teknologi dibidang kedokteran berfungsi untuk memudahkan proses pengujian serta mempercepat hasil laboratorium. Namun kemajuan teknologi tidak selalu memberikan hasil yang akurat dalam beberapa kasus. Seperti pada hasil hasil yang terlalu tinggi atau sel sel yang bersifat anomaly.

Sediaan apusan darah saat ini memiliki 3 tujuan utama yaitu Pertama, sebagai alat kontrol kualitas, pemeriksaan ini memberikan verifikasi visual terhadap akurasi hasil dari penganalisis hematologi otomatis, seperti mengonfirmasi hasil yang memicu alarm, memvalidasi hitung sel, serta mendeteksi masalah pra-analitis maupun analitis seperti gumpalan trombosit, aglutinin dingin, atau artefak sampel. Kedua, pemeriksaan PBS memungkinkan identifikasi langsung sel-sel abnormal yang mungkin dicurigai tetapi tidak dapat dipastikan oleh mesin, misalnya sel blast, bentuk displastik, limfosit reaktif, sel plasma, atau populasi sel abnormal lainnya. Ketiga, pemeriksaan ini memfasilitasi pengenalan kelainan morfologi yang signifikan secara klinis namun berada di luar kemampuan deteksi penganalisis hematologi, seperti perubahan halus pada bentuk sel darah merah (skistosit, sferosit, sel target), ukuran dan granularitas trombosit, serta fitur sel darah putih yang dapat memberikan petunjuk diagnostik penting untuk berbagai kondisi, termasuk anemia hemolitik mikroangiopatik, kelainan

sel darah merah hereditier, infeksi, atau proses keganasan hematologi. Oleh karena itu, pemeriksaan PBS disarankan untuk berbagai indikasi, seperti adanya tanda peringatan sistem, tanda peringatan mencurigakan, tanda peringatan numerik/definitif, delta check, serta dalam keadaan khusus lainnya (Pozdnyakova et al., 2026).

Pada beberapa kasus pemeriksaan ini merupakan salah satu pemeriksaan yang baik tidak hanya untuk mengevaluasi alat otomatis tetapi juga merupakan bagian dari tahap diagnostic penyakit yang berkaitan dengan darah (Ford, 2013).

## **B. Sumber Spesimen**

Pembuatan Sediaan Apusan Darah berasal dari darah manusia yang dikumpulkan pada tabung EDTA (tabung berwarna ungu). Tabung EDTA mengandung disodium atau tripotassium ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), yang berfungsi sebagai antikoagulan darah dengan mengikat kalsium yang penting dalam proses koagulasi. EDTA tripotassium cair sering lebih dipilih dibandingkan bentuk bubuk karena lebih mudah bercampur dengan darah.

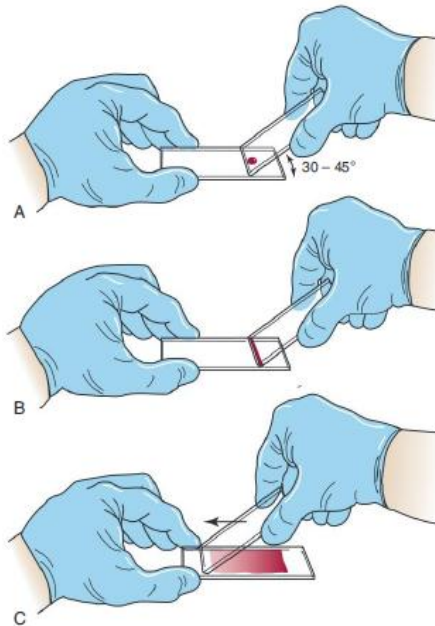
Pembuatan Sediaan Apusan Darah yang terbaik dilakukan menggunakan darah tidak lebih dari 2 sampai 3 jam. Pembuatan Apusan Darah yang menggunakan darah lebih dari itu dapat menyebabkan perubahan morfologi terutama pada eritrosit. Pada morfologi monosit tampak bervakuola pada Apusan Darah. Hal tersebut terjadi disebabkan karena terjadinya kontak antara monosit dan EDTA. Sediaan Apusan Darah yang sudah dibuat dan didiamkan lebih dari 5 jam tanpa fiksasi dapat menyebabkan pembentukan artefak (eritrosit echonosit, sferosit, leukosit nekrotik dan neutrophil bervakuola).

Beberapa orang meyakini bahwa pembuatan Sediaan Apusan Darah tanpa antikoagulan memberikan gambaran lebih baik tanpa artefak. Penggunaan antikoagulan pada beberapa kasus seperti EDTA dapat menyebabkan *platelet satellitosis*. Kelainan tersebut disebabkan karena trombosit mengelilingi

neutrophil yang dapat menyebabkan trombosit rendah palsu (Keohane et al., 2016).

### C. Pembuatan Sediaan Apusan Darah

Pembuatan sediaan apus dibagi menjadi 2 bagian yaitu pembuatan secara manual (metode *coverslip* dan metode *wedge*) dan pembuatan secara otomatis. Pembuatan secara manual pada bab ini hanya fokus dengan metode *wedge* dikarenakan pembuatan manual yang paling mudah untuk digunakan dan paling sering ditemui di Indonesia. Pembuatan manual dilakukan dengan menggunakan 2 jenis slide. 1 slide berfungsi sebagai pendorong dan 1 slide berfungsi sebagai objek yang akan dibuat sediaan apusan. Cara dapat dilihat pada gambar:



**Gambar 10.1** Ilustrasi Pembuatan Apusan Darah  
(Keohane et al., 2016)

Teknik pembuatan Sediaan Apusan Darah:

1. Ditetaskan darah dengan diameter 2-3 mm pada ujung kaca objek glas

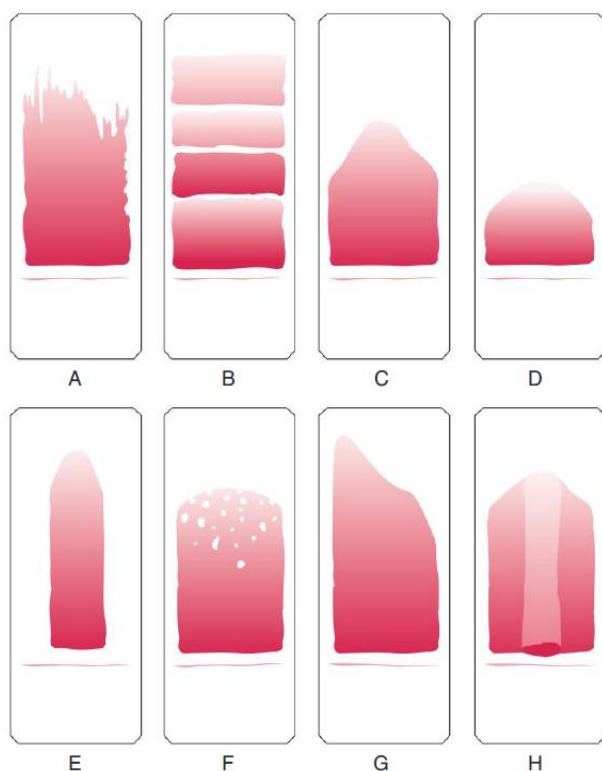
2. Disiapkan objek glass pendorong dengan kisaran sudut 30°-45°
3. Kaca Pendorong dimundurkan hingga mengenai darah dan dorong objek glas dengan kecepatan yang sedang.
4. Dikeringkan apusan darah sebelum dilakukan pewarnaan.

**Tabel 10.1** Indikator Pembuatan Sediaan Apusan Darah dengan Benar

|                    |                                                                                                       |
|--------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Ukuran             | Pembuatan panjang sediaan berkisar antara 2/3 atau $\frac{3}{4}$ dari slide                           |
|                    | Sediaan tidak terlalu penuh/tidak menutupi keseluruhan pada objek glass.                              |
| Bentuk             | Pembuatan sediaan berbentuk seperti lidah dan membentuk bulatan pada ujung sediaan dan semakin tipis. |
| Gambaran Permukaan | Sediaan objek glass tidak berlubang lubang dan rata.                                                  |
|                    | Bagian yang akan dibaca jika dilihat di cahaya akan membentuk pelangi                                 |
|                    | Seluruh tetesan tersebar merata .                                                                     |



**Gambar 10.2** Gambaran Slide yang Baik  
(Keohane et al., 2016)



**Gambar 10.3** Sediaan yang Tidak Dapat Diterima  
(Keohane et al., 2016)

Keterangan:

|   |                                                               |
|---|---------------------------------------------------------------|
| A | Pada bagian pinggir slide tidak rata                          |
| B | Ada keraguan saat melakukan apusan                            |
| C | Pembuatan apusan terlalu cepat                                |
| D | Volume darah yang terlalu sedikit                             |
| E | Darah belum menyebar seluruhnya ke slide pendorong.           |
| F | Terdapat kotoran atau lemak pada slide                        |
| G | Tekanan slide tidak rata                                      |
| H | Menunda tetesan darah, sehingga ketika didorong sudah kering. |

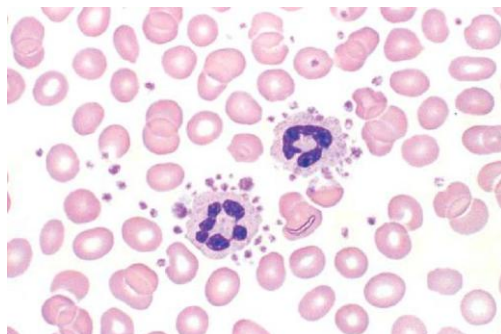
Pada proses pengeringan segera dilakukan setelah pembuatan sediaan apus darah sebelum dilakukan pewarnaan. Hal ini sangat penting untuk mencegah timbulnya kerusakan struktur sel akibat proses pengeringan yang lambat (*drying artifact*). Guna mempercepat proses ini, beberapa laboratorium biasanya memanfaatkan bantuan kipas angin berukuran kecil. Sebaliknya, tindakan mengembuskan atau meniupkan napas langsung ke arah kaca objek sangat tidak dianjurkan. Uap air dan kelembapan dari napas dapat merusak sel darah merah, sehingga sel tersebut mengerut dan berduri (*krenasi/ekinosit*) atau memicu terbentuknya bercak air (*water artifact*) (Keohane et al., 2016).

#### **D. Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Teknik Pembuatan Slide**

Hal hal yang dapat mempengaruhi slide tidak lepas dari bahan sampel yang akan dibuat Apusan. Pada darah yang memiliki nilai hematokrit tinggi atau lebih dari 60% dimana darah semakin mengental seperti pada bayi baru lahir dan polistemia vera diperlukan proses pembuatan darah yang berbeda. Pada darah tersebut penting untuk memperhatikan sudah pendorong yaitu sebesar 25 derajat agar sediaan tidak terlalu pendek dan tebal. Pada kadar hematokrit yang sangat rendah diperlukan menaikkan sudut pada slide pendorong.

Volume tetesan darah bisa sangat mempengaruhi hasil pembuatan sediaan apusan darah. Volume tetesan yang terlalu besar dapat mempengaruhi ketebalan pembacaan dan terlalu Panjang. Jika sediaan terlalu tipis akan menyebabkan terlalu pendek dan tipis.

Pada proses pendorongan jika terlalu pelan akan mengakibatkan sel sel dengan volume besar (monosit dan granulosit) menyebabkan sel tersebut menumpuk di ujung slide.



**Gambar 10.4** *Platelet Satellitosis*  
(Keohane et al., 2016)

Antikoagulan EDTA juga dapat berpotensi untuk mengakibatkan hasil rendah palsu dan meningkatkan tingginya hasil leukosit (*pseudoleukositosis*). Hal tersebut disebabkan trombosit menggumpal atau beragregasi sehingga ukuran menyerupai leukosit. Alat hematologi analyzer umumnya menggunakan ukuran untuk mendeferensiasi sel (Keohane et al., 2016).

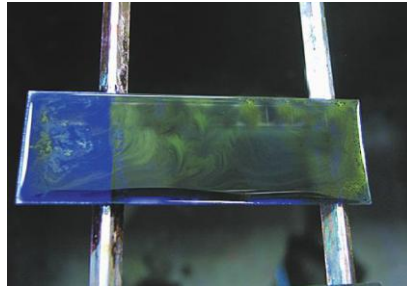
#### **E. Pewarnaan Sediaan Apusan Darah**

Pewarnaan pada sediaan apusan darah bertujuan untuk membuat sel terlihat jelas bentuk dan morfologinya sehingga mudah diamati. Pewarnaan sediaan apusan darah khususnya darah rutin mayoritas menggunakan pewarna wright atau Giemsa atau jenis pewarnaan Romanowsky. Pewarnaan Romanowsky (termasuk Giemsa dan Wright) adalah fenomena Polikromasia. Polikromasia adalah pewarnaan yang hanya dengan menggunakan satu wadah larutan zat warna (*single dye bath*), kita bisa menghasilkan berbagai macam spektrum warna (merah, biru, merah muda, dan ungu) pada sel. komponen sel darah yang bersifat asam (seperti DNA/RNA di inti sel) akan menarik molekul zat warna basa yang bermuatan positif (Azure B kationik). Sebaliknya, komponen sel yang bersifat basa (seperti hemoglobin di sitoplasma sel darah merah) akan menarik zat warna asam yang bermuatan negatif (Eosin Y anionic) (Horobin, 2011).

Pewarnaan Giemsa umumnya dijadikan pewarnaan utama untuk mendeteksi parasite seperti malaria walau dinilai cukup baik untuk mewarnai sel darah (Rogers et al., 2022). Pewarnaan Giemsa jika tidak ada kombinasi cenderung menyulitkan proses identifikasi morfologi eritrosit dan menunjukkan kepekatan warna pada leukosit. Pada pewarnaan wright detail morfologi leukosit dapat diidentifikasi dengan detail yang lebih baik, sehingga pewarnaan wright lebih banyak digunakan untuk perhitungan jenis leukosit (Gistover & Randolph, 2020).

Proses pewarnaan tersebut tidak akan berjalan dengan baik jika tidak ada methanol. Methanol pada pewarnaan berfungsi untuk memfiksasi sel sel pada slide. Fiksasi adalah proses pengawetan untuk menjaga struktur dari sel tersebut. Selain itu proses fiksasi bertujuan untuk melekatkan sel sel darah pada objek glass supaya pada proses pencucian tidak terbawa oleh aliran air (McKenzie et al., 2020). Proses pewarnaan tersebut terjadi ketika buffer ditambahkan. Tujuan dari buffer untuk menjaga pH tetap stabil pada kisaran 6,4. Pembuatan buffer digunakan menggunakan 2 larutan utama yang bersifat basa yaitu Dinatrium Fosfat ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) bersifat basa lemah dan larutan asam yaitu kalium dihydrogen fosfat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) yang bersifat asam.

Proses Pewarnaan Wright secara manual dilakukan dengan menempatkan kaca sediaan menghadap ke atas di atas rak pewarnaan. Sediaan digenangi zat warna selama 1–3 menit untuk memfiksasi sel, kemudian ditambahkan *buffer* dalam jumlah seimbang hingga membentuk lapisan metalik kehijauan (lihat gambar 10.5). Campuran ini didiamkan selama minimal 3 menit – atau lebih lama untuk sampel sumsum tulang. Terakhir, sediaan dibilas lembut dengan air netral, dibersihkan bagian belakang kacanya, dan dikeringkan dalam posisi tegak.



**Gambar 10.5** Proses Pewarnaan *Wright*  
(Keohane et al., 2016)

Pewarnaan *Wright* manual sangat efektif untuk sediaan darah tepi pasien leukemia karena durasinya bisa diperpanjang secara fleksibel demi mengimbangi tingginya jumlah sel darah putih. Hal ini menjadi keunggulan dibandingkan alat otomatis yang sering memicu *under-staining* pada sampel padat sel. Sisi negatifnya, metode manual membutuhkan waktu lebih lama dan rentan tumpah, sehingga penerapannya lebih cocok untuk laboratorium berskala kecil dengan volume sampel harian yang sedikit (Keohane et al., 2016).

*Automated slide stainer* adalah alat pewarna sediaan otomatis yang penting untuk laboratorium dengan volume pemeriksaan tinggi karena dapat bekerja tanpa pengawasan operator dan menyelesaikan pewarnaan dalam 5–10 menit. Proses pewarnaannya mirip metode manual, dengan hasil kualitas preparat dan konsistensi warna yang baik. Namun, alat otomatis memiliki kelemahan, seperti tidak dapat menambahkan slide ketika proses berjalan dan larutan pewarna hanya stabil selama 3–6 jam.

**Tabel 10.2** Karakteristik SAD yang Diwarnai dengan Benar

| Jenis       | Indikator                                                       |
|-------------|-----------------------------------------------------------------|
| Makroskopis | Sediaan apus berwarna ungu kemerahan ( <i>pinkish purple</i> ). |
| Mikroskopis | Sel-sel darah terdistribusi secara merata.                      |
|             | Area di antara sel-sel terlihat bersih/jernih                   |
|             | Eritrosit berwarna merah-oranye                                 |

| Jenis | Indikator                                                     |
|-------|---------------------------------------------------------------|
|       | Granula neutrofil berwarna ungu pucat.                        |
|       | Granula eosinofil berwarna oranye-merah.                      |
|       | Granula basofil berwarna hitam keunguan.                      |
|       | Sitoplasma limfosit berwarna biru                             |
|       | Inti sel (nukleus) leukosit berwarna ungu                     |
|       | Kromatin terlihat jelas di dalam inti sel.                    |
|       | Presipitasi (endapan) zat warna sangat minimal atau tidak ada |

Slide yang disimpan lebih dari satu minggu cenderung menghasilkan warna terlalu biru, terutama pada spesimen dengan kadar protein tinggi seperti globulin.

**Tabel 10.3** Masalah pada Pewarnaan Apusan Darah

| Masalah                                | Penyebab                                                                        |
|----------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------|
| Pewarna Terlalu biru atau gelap        | Pewarna Terlalu Lama (terlalu lama perendaman)                                  |
|                                        | Pembilasan tidak maksimal                                                       |
|                                        | Penggunaan pewarnaan atau larutan buffer terlalu basa                           |
|                                        | Sediaan Apus terlalu tebal                                                      |
| Pewarna terlalu merah muda atau tipis  | Pewarnaan kurang lama                                                           |
|                                        | Pembilasan terlalu lama                                                         |
|                                        | Penggunaan zat warna dan/atau larutan penyangga ( <i>buffer</i> ) terlalu asam. |
| Adanya presipitasi (endapan zat warna) | Kaca sediaan ( <i>slide</i> ) kotor/tidak bersih                                |
|                                        | Sediaan mengering selama proses pewarnaan berlangsung                           |
|                                        | Penyaringan zat warna kurang adekuat/tidak disaring dengan baik                 |

## F. Pengujian Apusan Darah

Proses pengujian apusan darah setelah pewarnaan dilakukan dengan pendekatan makroskopis dan mikroskopis. Pendekatan makroskopis melihat visual dengan mata pada sediaan slide. Penilaian makroskopis dapat dilihat meliputi warna dan gambaran fisik dari sediaan apusan darah. Pada gambaran mikroskopis dapat diamati secara bertahap pada perbesaran lensa objektif 10x, 40x dan 100x.

### 1. Perbesaran 10x

Proses Mikroskopis sediaan apusan darah dibaca menggunakan mikroskop Cahaya. Pembacaan dimulai dengan menggunakan perbesaran lensa objektif 10x. Pada perbesaran ini untuk melihat kualitas apusan, warna dan distribusi sel.

Tahap perbesaran 10x melihat kualitas apusan dengan mengamati distribusi sel darah putih/leukosit. Pengamatan distribusi dilihat pada bagian zona baca (*monolayer*) dibandingkan dengan bagian tipis ditepi (*Fathered Edge*) dan 2 bagian tipis pada pinggir sediaan apus. Jika pada bagian tipis di tepi atau salah satu bagian tipis pada pinggir sediaan apus ditemukan lebih banyak 4 kali/lapangan pandang dari zona baca (*monolayer*) maka sediaan apusan tersebut tidak dapat diterima (Keohane et al., 2016). Misalnya jika pada zona tepi dipinggir dalam 1 lapangan pandang ditemukan 15 sel darah putih sedangkan pada bagian *monolayer* ditemukan 3 sel darah putih maka sediaan apusan tersebut memiliki distribusi yang tidak baik.

Pada pemeriksaan dengan perbesaran rendah 10x, berbagai jenis sel dapat ditemukan di area ujung ekor (*tail end*) apusan darah. Sel-sel tersebut antara lain: gumpalan trombosit, kumpulan leukosit (*leuko-agglutinates*), bekuan darah, kumpulan neutrofil, sel-sel pelapis pembuluh darah (*sel endotel*), megakariosit atau pecahannya, parasit (seperti *mikrofilaria*), spora jamur, histiosit, serta sel-sel yang tidak lazim (*atipikal*) (Garg et al., 2021; Mundi et al., 2017).

**Tabel 10.4** Sel yang Ditemukan pada Bagian Ekor Apusan Darah

| Sel                            | Penyebab                                                                                                                                                                                                                                                        | Signifikansi                                                                                                                           |
|--------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Gumpalan trombosit             | Antikoagulan EDTA                                                                                                                                                                                                                                               | Pseudo-trombositopenia                                                                                                                 |
| Agregat leukosit/ Bekuan darah |                                                                                                                                                                                                                                                                 | Pseudo-leukopenia                                                                                                                      |
| Ekor leukosit /neutrofil       | Tepi kaca penghapus (spreader) yang kasar/bergerigi                                                                                                                                                                                                             | Hitung jenis leukosit yang salah.                                                                                                      |
| Sel endotel                    | <p>✓ Normal &lt;10 sel endotel bersirkulasi/mL akibat penggunaan jarum berduri atau jarum pakai ulang.</p> <p>✓ Meningkat pada kondisi dengan cedera pembuluh darah atau pembentukan pembuluh darah baru, misalnya angioplasti koroner dan anemia sel sabit</p> | Dapat disalahartikan sebagai sel atipikal yang ditemukan pada mononukleosis infeksiosa atau sel ganas yang bersirkulasi akibat sarkoma |
| Megakariosit                   | Normalnya bersirkulasi dalam darah tepi, Peningkatan diferensiasi MK                                                                                                                                                                                            | Sangat jarang, belum sepenuhnya diketahui maknanya;                                                                                    |

| Sel                 | Penyebab                                                                                                            | Signifikansi                                                                                                                                                                            |
|---------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                     |                                                                                                                     | Gangguan sumsum tulang yang serius                                                                                                                                                      |
| Mikrofilaria        | Infeksi mikrofilaria                                                                                                | Deteksi kasus asimtomatik dengan hitung eosinofil normal                                                                                                                                |
| Spora jamur         | Imunosupresi                                                                                                        | Angka kematian tinggi, sehingga apusan darah dapat mempercepat diagnosis fungemia bahkan sebelum biakan darah positif, sehingga pasien mendapat manfaat dari pengobatan dini yang tepat |
| Histiosit /makrofag | Leukemia monositik, agranulositosis, endokarditis subakut kronis, demam reumatik, tuberkulosis, demensia paralitika | Terkait dengan monositosis, mengindikasikan iritasi berat atau proliferasi leukemia pada sistem retikulo-endotel                                                                        |
| Sel atipikal        | Sel blast, aurer road, sel plasma                                                                                   | Leukopenia, leukemia subleukemik, leukemia sel plasma                                                                                                                                   |

(Garg et al., 2021)

## 2. Perbesaran 40x

Pada perbesaran ini untuk melihat morfologi sel dan untuk melakukan estimasi/perkiraan sel leukosit. Untuk melakukan estimasi jumlah leukosit dapat melakukan identifikasi tempat yang akan dihitung dengan indikator eritrosit. Eritrosit tidak boleh menumpuk tidak lebih dari 3 eritrosit dalam 1 lapangan pandang. Hitung jumlah WBC perlapangan pandang kemudian dikalikan 2000 maka dihasilkan jumlah estimasi leukosit. Jika menggunakan perbesaran 50x maka dikalikan 3000.

Misalnya pada saat memindai 10 lapangan pandang menggunakan lensa objektif 40x didapatkan sekitar 6-7 sel leukosit maka perkiraan jumlah leukositnya Adalah sekitar 12.000-14.000 sel/mm<sup>3</sup>. Penggunaan metode estimasi ini masih memiliki beberapa kelemahan diantaranya distribusi, zona baca serta variasi diameter lensa mikroskop (Keohane et al., 2016).

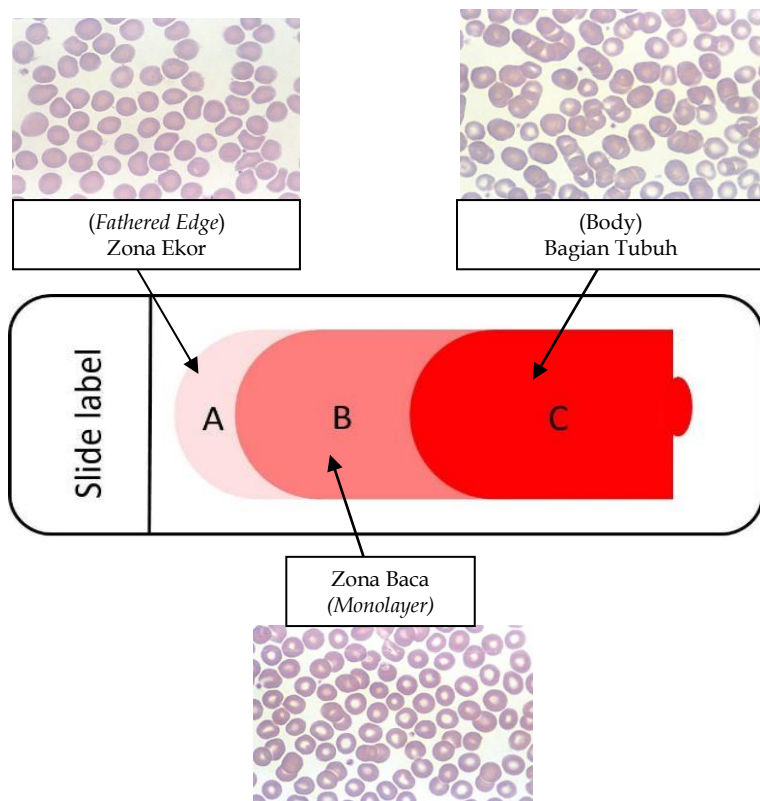
## 3. Perbesaran 100x

Pada perbesaran lensa objektif 100x atau perbesaran 1000x menggunakan minyak imersi. Tujuan perbesaran ini Adalah untuk mulai mengklasifikasikan leukosit atau menghitung hitung jenis leukosit, mengamati morfologi eritrosit dan mengamati trombosit atau menghitung estimasi jumlah trombosit. Pada pengamatan di mikroskop pada area yang benar eritrosit pada lapangan pandang biasanya menunjukkan 200-250 sel per lapangan pandang.



**Gambar 10.6** Gambaran Perbesaran 100x  
(K.T. et al., 2022)

Jika pada pada pengamatan perbesaran 10x dan 40x tampak terlihat kemudian ketika dilakukan perbesaran 100x tidak tampak namun pada posisi yang sama bisa dipastikan objek glass terbalik.



**Gambar 10.7** Zona pada Apusan Darah Tepi pada Perbesaran 100x

Sumber: wvs.academy dan (Keohane et al., 2016))

Pada zona baca tepi tipis (*feather Edge*) adalah zona yang sering dilewati pada saat pembacaan apusan darah. Zona biasanya dapat dilihat kelainan seperti adanya gumpalan trombosit yang mengakibatkan zona baca (monolayer) memiliki trombosit yang sangat kecil (trombositopenia) (Gulati et al., 2014). Beberapa sel dapat ditemukan pada perbesaran rendah .

## 1. Hitung Jenis Leukosit (HJL)

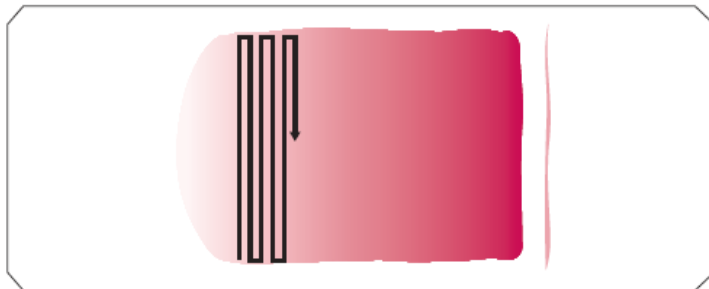
Proses perhitungan pada perbesaran ini adalah Hitung Jenis Leukosit. Setelah area monolayer yang ideal ditemukan, pola gerakan yang dianjurkan adalah pola berkelok bolak-balik menyerupai huruf "S" atau pola "battlement" (seperti benteng). Pola ini berguna untuk mengurangi kesalahan akibat distribusi sel yang tidak merata serta memastikan setiap sel hanya masuk hitungan satu kali.

Sebanyak 100 sel leukosit kemudian dihitung dan diklasifikasikan. Petugas dapat menggunakan penghitung manual (tombol tekan) atau papan tombol yang terhubung ke komputer untuk memudahkan pencatatan (Gambar 10.7, A & B).

Untuk meningkatkan ketepatan hasil, ada beberapa penyesuaian jumlah hitungan yang disarankan berdasarkan nilai hitung leukosit total:

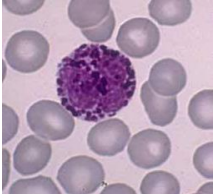
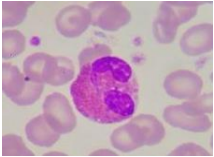
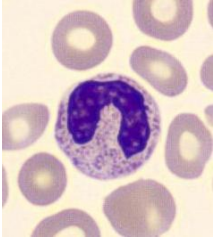
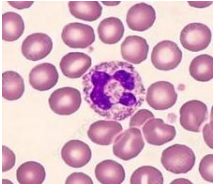
- a. **Jika hitung leukosit  $> 40 \times 10^9/L$** , disarankan untuk menghitung setidaknya **200 sel**.
- b. **Jika hitung leukosit mencapai  $\geq 100 \times 10^9/L$** , sebaiknya menghitung **300 hingga 400 sel** untuk hasil yang lebih presisi (Keohane et al., 2016).

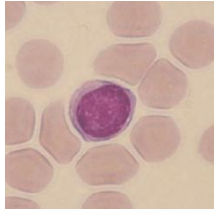
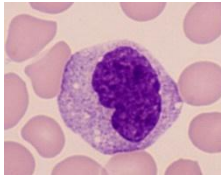
Hasil akhir dilaporkan dalam bentuk persentase (contoh: neutrofil segmentasi 54%, neutrofil batang 6%, limfosit 28%, monosit 9%, eosinofil 3%, Basiofil 0-1%). Petugas pemeriksa wajib memastikan bahwa total penjumlahan seluruh persentase tersebut mencapai 100%.



**Gambar 10.8** Alur Perhitungan Hitung Jumlah Leukosit  
(Keohane et al., 2016)

**Tabel 10.5 Jenis Leukosit dengan Cirinya**

| Jenis Leukosit   | Ciri Ciri                                                                                                                                                                                       | Gambar                                                                              |
|------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| Basofil          | Inti berlobus kaku dan tidak beraturan; sitoplasma dipenuhi granula kasar berwarna ungu tua hingga hitam-kebiruan yang tersebar di atas inti, sehingga menutupi batas-batas nukleus di bawahnya |    |
| Eosinofil        | Inti umumnya memiliki 2 lobus (bilobatus); sitoplasma dipenuhi granula besar, bulat, seragam, dan refraktif berwarna jingga kemerahan ( <i>red-orange</i> ) yang cerah.                         |    |
| Neutrofil Batang | Inti berbentuk huruf C atau S dan ramping; sitoplasma berwarna merah muda pucat ( <i>salmon-pink</i> ) dengan granula yang sangat halus.                                                        |   |
| Neutrofil Segmen | Inti memiliki 2-5 lobus yang dihubungkan oleh filamen tipis; sitoplasma berwarna merah muda pucat ( <i>salmon-pink</i> ) dengan granula yang sangat halus.                                      |  |

| Jenis Leukosit | Ciri Ciri                                                                                                                                                                                                                                 | Gambar                                                                            |
|----------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|
| Limfosit       | Inti berbentuk bulat/sedikit melekok dengan kromatin ungu tua yang sangat padat; sitoplasma sangat sedikit (rasio inti-sitoplasma tinggi) berwarna biru langit jernih ( <i>clear sky-blue</i> ).                                          |  |
| Monosit        | Sel terbesar dengan inti melipat atau berbentuk seperti ginjal/tapal kuda serta memiliki kromatin longgar seperti jala ( <i>lacy</i> ); sitoplasma luas berwarna biru keabu-abuan ( <i>opaque gray-blue</i> ) dan sering memiliki vakuola |  |

(Palmer et al., 2015).

## 2. Morfologi Eritrosit

Pada pemeriksaan morfologi eritrosit dilakukan dilihat dengan menggunakan indikator yaitu ukuran sel (makrosit atau mikrosit), Variasi Ukuran (anisositosis), warna sel (Hipokrom; sferosit), Bentuk sel (poikilositosis) dan benda inklusi. Morfologi detail dapat dilihat pada Gambar 10.9.

## 3. Estimasi Jumlah Trombosit

Pada perhitungan hanya bisa dilakukan pada perbesaran 100x. Proses hitungnya pada posisi apusan darah monolayer yang menunjukkan eritrosit terpisah dengan yang lainnya. Perhitungan eritrosit dilakukan dengan menghitung trombosit per lapangan pandang hingga mendapatkan 10 lapangan pandang. Hasil tersebut di rata ratakan kemudian dikalikan 20.000. Misalnya didapatkan rata rata 10 lapangan

pandang sebanyak 14. Maka 14 sel x 20.000 didapatkan estimasi perkiraan 280.000 sel/mm<sup>3</sup>.

| Size variation        | Hemoglobin distribution      | Shape variation |                               |
|-----------------------|------------------------------|-----------------|-------------------------------|
| Normal                | Hypochromia 1 <sup>+</sup>   | Target cell     | Acanthocyte                   |
| Microcyte             | 2 <sup>+</sup>               | Spherocyte      | Helmet cell (fragmented cell) |
| Macrocyte             | 3 <sup>+</sup>               | Ovalocyte       | Schistocyte (fragmented cell) |
| Oval macrocyte        | 4 <sup>+</sup>               | Stomatocyte     | Tear drop                     |
| Hypochromic macrocyte | Polychromasia (Reticulocyte) | Sickle cell     | Burr cell                     |

**Gambar 10.9** Morfologi Eritrosit pada Apusan Darah (K.T. et al., 2022)

Metode estimasi diatas tidak berlaku ketika pasien kondisi dalam keadaan anemia atau eristosis. Kondisi tersebut menyebabkan proporsi eritrosit dan trombosit tidak proporsional sehingga perhitungan estimasi trombosit harus melibatkan nilai eritrosit. Rumus yang digunakan adalah:

$$Est\ Trombosit = \frac{(trombosit \times jumlah\ SDM)}{200}$$

Keterangan:

- Trombosit = Rata rata trombosit/lapangan pandang
- Jumlah SDM = Jumlah total sel darah merah

200 = jumlah rata-rata RBC yang seharusnya terlihat per lapangan pandang pada apusan normal (dengan hitung RBC normal)  
(Keohane et al., 2016).

## DAFTAR PUSTAKA

- Ford, J. (2013). Red blood cell morphology. *International Journal of Laboratory Hematology*, 35(3), 351–357. <https://doi.org/10.1111/ijlh.12082>
- Garg, N., More, S., Chopra, P., Gupta, R., & Kotru, M. (2021). Screening peripheral blood smear: A tale of the “TAIL.” *Tropical Doctor*, 51(2), 276–278. <https://doi.org/10.1177/0049475520986386>
- Gistover, N., & Randolph, T. (2020). Comparison of Giemsa and Wright’s Stain For Differential Analysis. *The FASEB Journal*, 34(S1), 1–1. <https://doi.org/10.1096/fasebj.2020.34.s1.06459>
- Gulati, G., Uppal, G., Florea, A. D., & Gong, J. (2014). Detection of Platelet Clumps on Peripheral Blood Smears by CellaVision DM96 System and Microscopic Review. *Laboratory Medicine*, 45(4), 368–371. <https://doi.org/10.1309/LM604RQVKVLRFXOR>
- Horobin, R. (2011). How Romanowsky stains work and why they remain valuable—Including a proposed universal Romanowsky staining mechanism and a rational troubleshooting scheme. *Biotechnic & Histochemistry*, 86(1), 36–51. <https://doi.org/10.3109/10520295.2010.515491>
- K.T., N., Prasad, K., & Singh, B. M. K. (2022). Analysis of red blood cells from peripheral blood smear images for anemia detection: A methodological review. *Medical & Biological Engineering & Computing*, 60(9), 2445–2462. <https://doi.org/10.1007/s11517-022-02614-z>
- Keohane, E. M., Walenga, J. M., & Otto, C. N. (2016). *Rodak’s Hematology Clinical Principles and Applications* (4th ed.). Elsevier Saunders.
- McKenzie, S. B., Landis-Piwowar, K., & Williams, J. L. (2020). *Clinical laboratory hematology* (4th ed.). Pearson.

- Mundi, I., Pankaj, R., Bedi, R., Sharma, A., & Malhotra, M. (2017). Peripheral blood smear: Beyond routine morphology. *Tropical Doctor*, 47(4), 382–384. <https://doi.org/10.1177/0049475517701877>
- Palmer, L., Briggs, C., McFadden, S., Zini, G., Burthem, J., Rozenberg, G., Proytcheva, M., & Machin, S. J. (2015). ICSH recommendations for the standardization of nomenclature and grading of peripheral blood cell morphological features. *International Journal of Laboratory Hematology*, 37(3), 287–303. <https://doi.org/10.1111/ijlh.12327>
- Pozdnyakova, O., Yaeger, L. H., Shirai, C. L., McFadden, S., Chen, X., Obstfeld, A., Mason, E. F., Ouseph, M. M., Han, J., Zini, G., Hedley, B., Grant, M., D’Onofrio, G., Frater, J. L., & Courville, E. L. (2026). Practical Considerations in the Implementation of Peripheral Smear Review in the Clinical Laboratory. *International Journal of Laboratory Hematology*, ijlh.70131. <https://doi.org/10.1111/ijlh.70131>
- Rogers, C. L., Bain, B. J., Garg, M., Fernandes, S., Mooney, C., Chiodini, P. L., & British Society for Haematology. (2022). British Society for Haematology guidelines for the laboratory diagnosis of malaria. *British Journal of Haematology*, 197(3), 271–282. <https://doi.org/10.1111/bjh.18092>

# BAB 11

## EVALUASI MORFOLOGI SEL DARAH PADA SEDIAAN APUS DARAH

Prof. Dr. dr. Pusparini, Sp.PK, Subsp. K.V.(K)

### A. Pendahuluan

Dalam praktek klinis, terdapat formulasi diagnostik yang digunakan, meliputi anamnesis, pemeriksaan fisik dan pemeriksaan laboratorium. Sebesar 70% diagnosis dan keputusan klinik didukung oleh pemeriksaan laboratorium. Pemeriksaan sediaan apus darah (SAD) merupakan pemeriksaan dasar, alat penapisan, diagnosis, pemantauan perjalanan penyakit dan respons terapi. Pengertian terhadap interpretasi SAD sangat penting untuk praktek klinis yang berhasil. Kegunaan SAD sangat besar meliputi pembacaan mengenai morfologi sel darah perifer, memastikan diagnosis morfologi dari penyakit darah baik primer maupun sekunder serta penyakit yang berhubungan dengan darah. Sampai saat ini, relevansi diagnostiknya tidak berkurang walaupun terdapat kemajuan dalam otomatisasi bidang hematologi dan teknik molekular. Pemeriksaan SAD memerlukan apusan darah yang berkualitas sehingga apusan dapat dibaca dengan baik dan dapat diinterpretasikan (Adewoyin and Nwogoh, 2014).

Sediaan apus darah merupakan salah satu pemeriksaan yang tertua dan paling informatif pada pemeriksaan hematologi. Hasil pemeriksaan SAD masih sangat relevan dengan kondisi saat ini dimana banyak *analyzer* otomatis dalam bidang hematologi. Hal ini disebabkan pemeriksaan SAD memberi kita pemeriksaan mikroskopis langsung terkait eritrosit, leukosit dan trombosit yang detailnya tidak dapat kita peroleh bahkan

dengan teknologi otomatis terbaik saat ini. Dalam praktek rutin, SAD berfungsi sebagai pelengkap, konfirmasi pengujian hematologi otomatis, memberikan klarifikasi terkait adanya indikator *flag* pada instrumen hematologi, menyediakan konteks morfologi yang penting terkait angka hasil darah lengkap (DL) dan mengubahnya menjadi informasi klinis yang relevan. Pada kondisi dimana hasil dari *analyzer* hematologi dan histogramnya tidak berkorelasi, terdapat *flag* seperti adanya sel blas atau fragmen atau adanya kondisi preanalitik yang mengganggu hasil pemeriksaan, maka pemeriksaan SAD menjadi penentu untuk menginterpretasikan apa yang sebenarnya terjadi pada sediaan (Ali, 2025).

## B. Indikasi Pemeriksaan Sediaan Apus Darah

Permintaan SAD sering datang dari klinisi yang merawat pasien berdasarkan kecurigaan klinis, namun yang diprakarsai oleh tenaga laboratorium lebih jarang dilakukan. Pihak laboratorium akan memprakarsai pemeriksaan SAD berdasarkan adanya temuan abnormal atau *flag* yang dihasilkan oleh *analyzer* hematologi atau adanya informasi klinis yang diagnosis nya mungkin didukung oleh pemeriksaan SAD (Adewoyin and Nwogoh, 2014).

Secara garis besar, indikasi dilakukannya evaluasi SAD dapat dibedakan menjadi dua yaitu indikasi klinis dan indikasi laboratoris seperti tampak pada Tabel 11.1 (PDSPatkin, 2018).

**Tabel 11.1** Indikasi Klinis dan Indikasi Laboratoris Evaluasi Sediaan Apus Darah

| No. | Indikasi Klinis                                                                                                                                   |
|-----|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| a.  | Penyelidikan lebih lanjut bila didapatkan adanya kondisi peningkatan jumlah sel/sitosis atau penurunan jumlah sel/sitopenia                       |
| b.  | Menentukan diagnosis dan/pemantauan suatu penyakit                                                                                                |
| c.  | Adanya gejala klinis yang mengarah pada kondisi anemia, leukositopenia atau penurunan jumlah trombosit/trombositopenia seperti pucat, perdarahan, |

| No.        | Indikasi Klinis                                                                                                                                                                                                                                                                       |
|------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|            | ekimosis dan kekuningan/ikterik yang penyebabnya tidak diketahui/tidak jelas                                                                                                                                                                                                          |
| d.         | Pembesaran limpa/splenomegali, limfadenopati, adanya gejala sistemik, penurunan berat badan atau gejala klinis lainnya yang mencurigakan adanya kelainan dalam bidang hematologi                                                                                                      |
| e.         | Dugaan adanya infeksi yang dapat dibantu dengan evaluasi SAD                                                                                                                                                                                                                          |
| f.         | Penyakit umum, namun dicurigai adanya infeksi, keganasan atau peradangan                                                                                                                                                                                                              |
| g.         | Dicurigai adanya <i>disseminated intravascular coagulation</i> (DIC)                                                                                                                                                                                                                  |
| h.         | Dicurigai adanya anemia sel sabit                                                                                                                                                                                                                                                     |
| i.         | Dicurigai adanya gangguan fungsi hati dan/atau gangguan fungsi organ seperti gagal ginjal akut (GGA) atau pembesaran ginjal yang tidak diketahui sebabnya, biasanya pada anak-anak.                                                                                                   |
| <b>No.</b> | <b>Indikasi laboratoris :</b>                                                                                                                                                                                                                                                         |
| a.         | Mengonfirmasi kelainan jumlah pada <i>analyzer</i> hematologi. Contoh: hemoglobin < 8g/dL atau >16,5 g/dL; hitung leukosit <2000/ $\mu$ L atau >15.000/ $\mu$ L; hitung platelet < 50.000/ $\mu$ L atau > 500.000/ $\mu$ L                                                            |
| b.         | Terdapat perbedaan yang besar antara hasil sekarang dengan hasil pemeriksaan laboratorium yang lalu/sebelumnya ( <i>delta check</i> )                                                                                                                                                 |
| c.         | Melakukan tindak lanjut terhadap adanya <i>flag</i> dari <i>analyzer</i> hematologi. Contoh : adanya blas, <i>platelet clump</i> , <i>immature granulocyte</i> , <i>large unstained cells</i> (LUC) yang meningkat, adanya eritrosit berinti ( <i>nucleated red blood cell</i> /NRBC) |
| d.         | Melakukan hitung jenis leukosit bila ditemukan populasi abnormal/ <i>flag</i> dari <i>analyzer</i> hematologi. Contoh : pada <i>analyzer</i> hematologi dengan jenis 3 <i>differential count</i> atau terdapat <i>flag</i> bahwa hitung jenis tidak akurat/biasanya                   |

| No. | Indikasi Klinis                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|-----|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|     | diberi tanda asterik (*) ataupun adanya kecurigaan terdapat sel muda/sel abnormal                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| e.  | Terpenuhinya kriteria evaluasi SAD di laboratorium tersebut. Tiap laboratorium harus menentukan kriteria yang akan digunakan dengan mempertimbangkan kondisi laboratorium, <i>analyzer</i> hematologi yang digunakan dan populasi pasien. Panduan untuk menyusun kriteria tersebut dapat dilihat pada publikasi <i>International Society of Laboratory Hematology (ISLH)</i> . |

Dikutib dari (PDSPatklin, 2018)

Indikasi klinis yang sering dijumpai terkait evaluasi SAD antara lain ditemukannya sitopenia yang tidak diketahui sebabnya: anemia, leukopenia atau trombositopenia; leukositosis yang tidak diketahui sebabnya, limfositosis, monositosis; *jaundice* yang tidak diketahui sebabnya atau hemolitik; ditemukannya ciri-ciri anemia hemolitik kongenital seperti splenomegali, kuning atau nyeri tulang; dicurigai penyakit mieloproliferatif akut atau kronik seperti leukemia mieloid kronik; dicurigai gangguan organ seperti penyakit ginjal, penyakit hati, ciri-ciri sindrom hiperviskositas seperti paraproteinemia, leukemia hiperleukositosis, polisitemia; sepsis bakterial berat, infeksi parasit; keganasan dengan kemungkinan keterlibatan sumsum tulang; dicurigai anemia zat gizi; dicurigai penyakit limfoproliferatif kronik seperti leukemia limfositik kronik; *lymphoma with leukemic spills*; evaluasi respons terapeutik hemopati (Adewoyin and Nwogoh, 2014).

### C. Tahapan Pemeriksaan Sediaan Apus Darah

Ada beberapa tahapan yang harus dilakukan saat akan melakukan evaluasi SAD yaitu pemeriksaan identitas pasien yang akan diperiksa, evaluasi data penunjang atau data klinis dari pasien, penilaian secara makroskopis, pemeriksaan sediaan secara mikroskopis yang diawali dengan pembesaran rendah/lapang pandang kecil (LPK), pemeriksaan dengan pembesaran tinggi/lapang pandang besar (LPB), dan apabila diperlukan

dapat dilanjutkan dengan pemeriksaan lapang pandang imersi (Bain, 2017; PDSPatklin, 2018).

### **1. Identifikasi dan Data Penunjang**

Sebelum melakukan pemeriksaan SAD perlu diperiksa kesesuaian nama pasien, usia, jenis kelamin serta nomor identifikasi atau kode pada SAD dengan formulir permintaan pemeriksaan atau perintah kerja. Bila telah sesuai maka dapat dilanjutkan dengan melakukan evaluasi hasil pemeriksaan darah perifer dengan hasil dari hematologi *analyzer*. Selain itu juga diperlukan evaluasi data klinis dan atau data laboratorium lain yang tersedia (PDSPatklin, 2018).

### **2. Pemeriksaan Makroskopis Sediaan Apus Darah**

Sediaan apus darah perlu diteliti terlebih dahulu secara makroskopik untuk memastikan kualitas sediaan, kelainan pada pewarnaan dan adanya partikel abnormal. Penilaian kualitas sediaan meliputi : adanya identitas pada SAD; teknik apusan yang digunakan sudah baik dan memuaskan; ukuran apusan darah meliputi 2/3-3/4 panjang kaca objek; tepi sisi lateral SAD tidak menyentuh tepi kaca objek dan sisi tipis/bagian ujung sedikit membulat, halus dan teratur; dan permukaan SAD halus, regular dan tidak berlubang-lubang serta seluruh tetesan darah terpakai habis dalam apusan. Penilaian pengecatan dilakukan dengan melihat warna latar dari sediaan, bila warna latar lebih kebiruan kemungkinan disebabkan adanya paraprotein atau peningkatan reaktif imunoglobulin (sirosis, rematoid arthritis) sedangkan warna yang lebih merah muda disebabkan adanya heparin atau zat pembawa obat intravena. Selain kedua hal tersebut perlu dievaluasi ada tidaknya partikel abnormal yang mewakili agregat trombosit besar, endapan krioglobulin atau gumpalan sel tumor (Bain BJ, 2015; PDSPatklin, 2018).

### 3. Pemeriksaan SAD pada Pembesaran Rendah (Lensa Objektif 10x atau 20x)

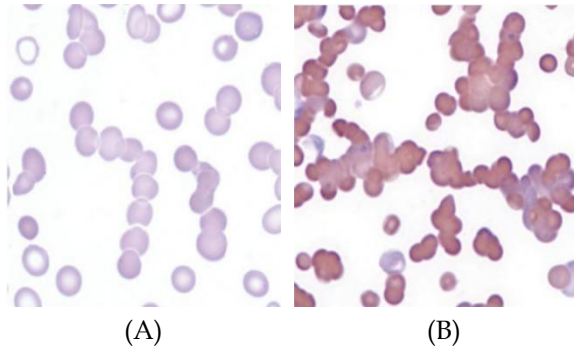
Pemeriksaan SAD dengan pembesaran rendah digunakan untuk menilai kualitas sediaan, sebaran sel sel darah seperti eritrosit, leukosit dan trombosit, adanya aglutinasi eritrosit, adanya pembentukan *roleaux* yang berlebihan atau agregasi trombosit, menilai jumlah, distribusi dan pewarnaan leukosit, menilai adanya sel abnormal seperti granulosit muda atau eritrosit berinti, sekaligus mencari area yang ideal untuk melakukan evaluasi SAD (Bain BJ, 2015; PDSPatklin, 2018; Keohana et al., 2025).

#### a. Penilaian Kualitas Sediaan

- 1) Bila terdapat benang fibrin, hal itu menandakan terdapatnya bekuan. Sediaan harus dibuat ulang.
- 2) Penilaian terhadap proses fiksasi dan pengecatan seperti : adanya artefak air kemungkinan disebabkan kandungan air dalam cairan fiksasi atau zat warna > 3%; intensitas warna, pengecatan yang terlalu asam atau terlalu basa; terdapat sisa zat warna kemungkinan disebabkan masalah pada proses pengecatan; terdapat artefak lainnya seperti krenasi *ethylene diamine tetra acetic acid* (EDTA) berlebih; perubahan degeneratif akibat penundaan pembuatan sediaan; eritrosit *budding* akibat penundaan pembuatan sediaan; fragementasi berat yang biasanya disebabkan karena pemanasan.

**Harap diperhatikan :** melakukan pemeriksaan SAD menggunakan sediaan yang tidak memenuhi standar mutu akan menghasilkan kesimpulan yang tidak tepat.

b. Distribusi Eritrosit atau Rouleaux



**Gambar 11.1** (A) *Rouleaux* (B) Aglutinasi  
Dikutip dari (Carr, 2019)

Pada formasi *rouleaux*, eritrosit tersusun dalam barisan seperti tumpukan koin. Peningkatan protein pada pasien dengan *rouleaux* dapat membuat latar belakang sediaan menjadi biru. Kondisi *rouleaux* terkait dengan kondisi inflamasi akut atau kronis, mieloma sel plasma, limfoplasmatik limfoma. Formasi *rouleaux* dapat dihilangkan dengan penambahan salin. Pada keadaan aglutinasi terjadi penggumpalan eritrosit sehingga garis luar dari eritrosit tidak tampak dengan jelas. Kondisi aglutinasi sering dikaitkan dengan reaksi antigen antibodi. Keadaan aglutinasi tidak dapat dihilangkan dengan penambahan salin (Carr, 2019).

c. Distribusi Leukosit

Perkiraan Sebaran Leukosit, monoton, atau heterogen, adanya dominasi sel tertentu. Distribusi leukosit harus diperhatikan pada ujung sediaan dan tepi lateral sediaan. Bila dijumpai leukosit 4 kali lebih banyak di bagian ujung dan lateral sediaan dibandingkan area monolayer lainnya maka sediaan tersebut tidak dapat digunakan dan sediaan harus dibuat ulang.

d. Distribusi trombosit : agregasi/*clumping*, satelitisme.

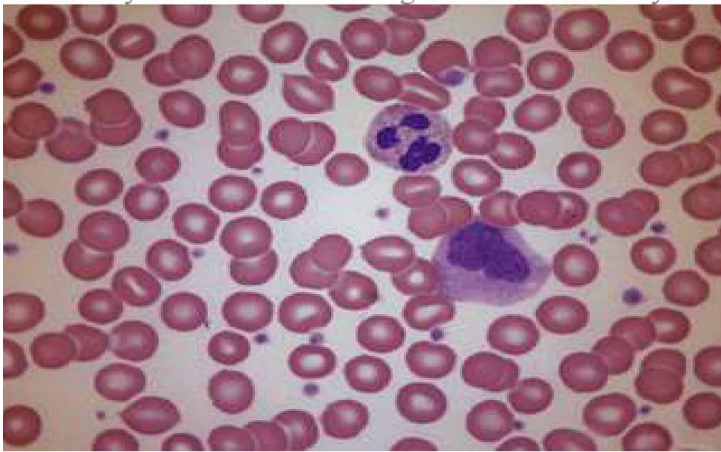
e. Deteksi adanya sel abnormal

f. Mendapatkan area ideal untuk evaluasi SAD :

- 1) Eritrosit terlihat seperti cakram bikonkaf dengan area pucat di tengah.
- 2) Eritrosit terdistribusi tunggal atau seragam, dekat satu dengan yang lain, dengan sedikit bersentuhan atau bertumpuk.

#### 4. Pemeriksaan SAD pada Pembesaran Tinggi (Lensa Objektif 40x atau 50x)

Pada pembesaran 40x/50x pertama-tama dicari area untuk pembacaan yang ideal yaitu area dimana eritrosit berdekatan satu dengan yang lain namun tidak saling menumpuk, mungkin hanya dua atau tiga eritrosit yang menumpuk. Dilakukan penilaian terhadap eritrosit, leukosit dan trombosit. Interpretasi SAD dilakukan dengan mempertimbangkan nilai rujukan sesuai dengan usia, jenis kelamin dan kondisi klinis pasien (Bain, 2017; PDSPatkin, 2018; Keohana et al., 2025).



**Gambar 11.2** Sediaan yang Ideal Ketebalan untuk SAD  
Dikutip dari (Bain, 2017)

##### a. Evaluasi Morfologi Eritrosit

Penilaian terhadap morfologi eritrosit dilakukan minimal pada 1000 eritrosit dengan melihat juga hasil indeks eritrosit dari *analyzer* hematologi seperti *mean*

*corpuscular volume* (MCV), *mean concentration hemoglobin* (MCH) dan *red cell distribution width* (RDW). Evaluasi morfologi eritrosit secara mikroskopik meliputi 3 S yaitu *size* (ukuran), *staining* (warna) dan *shape* (bentuk) dan ada tidaknya badan inklusi eritrosit (Bain, 2017; PDSPatklin, 2018; Keohana et al., 2025).

### **Size (Ukuran)**

- 1) Normositik: diameter eritrosit berkisar 7,5  $\mu\text{m}$ , dan pada evaluasi mikroskopik ukuran eritrosit sama dengan inti limfosit kecil.
- 2) Mikrositik : diameter eritrosit lebih kecil dari ukuran normal (diameter kurang dari 7  $\mu\text{m}$ ), hal ini dapat terlihat pada ukuran MCV yang lebih kecil dari ukuran normal ( $< 80 \text{ fL}$ ), kecuali bila terdapat kondisi anisositosis yang bermakna.
- 3) Makrositik : diameter eritrosit lebih besar dari ukuran normal (diameter lebih dari 8,4  $\mu\text{m}$ ), hal ini juga terlihat dari MCV yang lebih besar dari normal ( $> 100 \text{ fL}$ ). Jika didapatkan ukuran eritrosit makrositik maka perlu dilaporkan apakah bentuknya oval atau bulat. Makrositik dengan bentuk oval terdapat pada anemia megaloblastik, mielodisplasi sindrom (MDS) dan penggunaan obat-obatan tertentu (contoh : hidroksikarbamid), sedangkan makrosit bulat dapat dijumpai pada penyakit hati dan alkoholisme.
- 4) Anisositosis : istilah ini merupakan kondisi dimana ukuran eritrosit bervariasi, dapat dilihat dari hasil RDW yang tinggi pada pemeriksaan *analyzer* hematologi. Nilai rujukan RDW adalah 11-15%. Secara mikroskopik anisositosis didapatkan  $>10\%$  eritrosit dengan ukuran yang berbeda.
- 5) Dimorfik : pada SAD terlihat dua populasi eritrosit dengan ukuran yang berbeda, disebutkan ukuran eritrosit yang ditemukan. Kondisi dimorfik bisa ditemukan pada keadaan anemia defisiensi besi yang

berespons terhadap terapi besi, pasca transfusi dan anemia sideroblastik.

### **Staining (Warna)**

- 1) Normokrom : bagian yang pucat dari eritrosit berkisar 1/3 dari bagian tengah eritrosit.
- 2) Hipokrom : bagian yang pucat dari eritrosit melebihi 1/3 dari bagian tengah eritrosit.
- 3) Polikromasi : terdapat eritrosit muda yang berukuran lebih besar dan berwarna lebih kebiruan (*pinkish blue gray*) dibandingkan eritrosit matang.

### **Shape (Bentuk)**

- 1) Normal : sebagian besar eritrosit berbentuk cakram bikonkaf dengan variasi sangat sedikit.
- 2) Abnormal : pada evaluasi SAD disebutkan bentuk yang ditemukan dan nyatakan gradingnya sesuai *International Council for Standarization in Haematology* (ICSH) (Tabel 11.2).

### **Badan Inklusi**

Dilaporkan adanya badan inklusi bila dijumpai. Macam-macam badan inklusi eritrosit adalah *basophilic stippling*, *badan Howell-Jolly*, *badan Pappenheimer* atau adanya organisme intra eritrosit seperti malaria (disebutkan jenis spesies dan stadium pada pembesaran imersi).

**Tabel 11.2** Tabel Grading Morfologi

| Nama Sel         | Sistem Grading |           |           |
|------------------|----------------|-----------|-----------|
|                  | Sedikit/1+     | Sedang/2+ | Banyak/3+ |
| <b>Eritrosit</b> |                |           |           |
| Anisositosis     | N/A            | 11-20     | >20       |
| Makrosit         | N/A            | 11-20     | >20       |
| Makrosit oval    | N/A            | 2-5       | >5        |
| Mikrosit         | N/A            | 11-20     | >20       |
| Sel hipokrom     | N/A            | 11-20     | >20       |
| Polikromasi      | N/A            | 5-20      | >20       |

|                             | <b>Sistem Grading</b> |                  |                  |
|-----------------------------|-----------------------|------------------|------------------|
| <b>Nama Sel</b>             | <b>Sedikit/1+</b>     | <b>Sedang/2+</b> | <b>Banyak/3+</b> |
| Akantosit                   | N/A                   | 5-20             | >20              |
| <i>Bite cells</i>           | N/A                   | 1-2              | >2               |
| <i>Blister cells</i>        | N/A                   | 1-2              | >2               |
| <i>Echinocytes</i>          | N/A                   | 5-20             | >20              |
| <i>Elliptocytes</i>         | N/A                   | 5-20             | >20              |
| <i>Irregular</i>            | N/A                   | 1-2              | >2               |
| <i>Contracted cells</i>     |                       |                  |                  |
| Ovalosit                    | N/A                   | 5-20             | >20              |
| <i>Schistocytes</i>         | <1%                   | 1-2              | >2               |
| <i>Sickle cells</i>         | N/A                   | 1-2              | >2               |
| Sferosit                    | N/A                   | 5-20             | >20              |
| Stomatosit                  | N/A                   | 5=20             | >20              |
| Sel target                  | N/A                   | 5-20             | >20              |
| <i>Tear drop cells</i>      | N/A                   | 5-20             | >20              |
| <i>Basophilic stippling</i> | N/A                   | 5-20             | >20              |
| <i>Howell-Jolly bodies</i>  | N/A                   | 2-3              | >3               |
| <i>Pappenheimer bodies</i>  | N/A                   | 2-3              | >3               |
| <b>Leukosit</b>             |                       |                  |                  |
| Badan Dohle                 | N/A                   | 2-4              | >4               |
| Vakuolisasi                 | N/A                   | 4-8              | >8               |
| (neutrofil)                 | N/A                   | 4-8              | >8               |
| Hipergranulasi              |                       |                  |                  |
| (neutrofil)                 | N/A                   | 4-8              | >8               |
| Hipogranulasi               |                       |                  |                  |
| (neutrofil)                 |                       |                  |                  |
| <b>Trombosit</b>            |                       |                  |                  |
| <i>Giant platelet</i>       | N/A                   | 11-20            | >20              |

Catatan : Pemeriksaan dilakukan pada minimal 1000 eritrosit.

Dikutip dari Palmer *et al.*, 2015

## **b. Evaluasi Leukosit**

### **1) Estimasi Jumlah**

Estimasi jumlah leukosit dapat dilakukan dengan cepat baik dengan atau tanpa perhitungan yang lebih detail. Pada SAD yang normal ditemukan 2-5 leukosit per lapang pandang besar (LPB). Bila ditemukan  $>5$  leukosit per LPB maka dicurigai adanya leukositosis, sedangkan bila  $< 2$  leukosit/LPB menandakan adanya kondisi leukopenia (Bain, 2017; PDSPatkin, 2018; Keohana et al., 2025).

Selain cara tersebut di atas perkiraan jumlah leukosit dapat dilakukan dengan cara sebagai berikut :

- a) Hitung jumlah leukosit pada 10 lapang pandang dengan lensa objektif 40x/50x, hitung rerata per lapang pandang.
- b) Dilakukan perkalian rerata jumlah leukosit per lapang pandang dengan 200 (lensa objektif 40x) atau 3000 (lensa objektif 50x) untuk mendapatkan jumlah leukosit dalam  $\mu\text{L}$ .
- c) Bandingkan estimasi jumlah leukosit pada SAD dengan hasil pemeriksaan *analyzer* hematologi. Perbedaan yang jauh menandakan kemungkinan adanya kesalahan seperti sampel tertukar atau masalah pada distribusi sediaan leukosit dalam apusan.

### **2) Hitung Jenis**

Hitung jenis leukosit dilakukan dengan menggunakan minimal 100 leukosit menggunakan metode Batllement. Bila didapatkan jumlah leukosit  $>40.000/\mu\text{L}$ , maka hitung jenis dilakukan pada 200 leukosit sedangkan bila jumlah leukosit sangat rendah,  $< 1500/\mu\text{L}$ , maka dibuatlah sediaan *buffy coat*. Laporkan hasil dalam bentuk persen.

Bila dijumpai eritrosit berinti (NRBC) dalam SAD maka hitung jumlah eritrosit berinti dalam 100 leukosit. Terdapatnya NRBC dapat menyebabkan

jumlah leukosit pada pemeriksaan dengan *analyzer* hematologi tinggi palsu, sehingga perlu dilakukan koreksi kecuali bila *analyzer* hematologi yang digunakan telah dapat menghitung NRBC dan melakukan koreksi secara otomatis. Rumus untuk menghitung koreksi jumlah leukosit adalah sebagai berikut :

$$\text{Jumlah leukosit terkoreksi} = \frac{\text{Jumlah leukosit} \times 100}{100 + \left( \frac{\text{jumlah NRBC}}{100 \text{ leukosit}} \right)}$$

- 3) Morfologi leukosit : normal/abnormal. Disebutkan kelainan yang ditemukan.

#### c. Trombosit

##### 1) Jumlah Trombosit

Pada keadaan normal ditemukan 3-8 trombosit/100 eritrosit pada tiap LPB. Bila didapatkan ketidaksesuaian antara hasil SAD dengan hasil *analyzer* hematologi, maka harus dicari penyebabnya dan dilakukan perkiraan jumlah trombosit pada lapang pandang imersi (Bain, 2017; PDSPatkin, 2018; Keohana et al., 2025).

##### 2) Morfologi Trombosit

- a) Ukuran normal trombosit berkisar 1,5-3  $\mu\text{m}$ , trombosit besar (3-7  $\mu\text{m}$ ), trombosit raksasa/*giant* (ukuran trombosit lebih besar dari eritrosit normal). Trombosit besar dapat ditemukan hingga <5% pada kondisi normal
- b) Granularitas : normal, hipogranular/agranular.

#### 5. Pemeriksaan pada Lapang Pandang Imersi (Bila Diperlukan)

Pemeriksaan dengan lensa imersi (lensa objektif 100x dilakukan untuk : a). mengonfirmasi adanya sel abnormal seperti sel muda; b). memeriksa lebih teliti adanya kelainan sel seperti *basophilic stippling*, *auer rods* atau badan inklusi

lainnya); c). mengidentifikasi malaria atau mikroorganisme lain; d). melakukan perkiraan jumlah trombosit.

Pemeriksaan pada lapang pandang imersi dilakukan bila terdapat *flag* dari hasil *analyzer* hematologi yang menandakan hitung trombosit tidak tepat, terjadi perbedaan hasil pemeriksaan dengan menggunakan *analyzer* hematologi dan estimasi jumlah trombosit pada LPB atau ditemukan fragmentosit > 20% pada SAD. Cara melakukan estimasi jumlah trombosit yaitu dilakukan hitung jumlah trombosit pada 10 lapang pandang imersi, dilakukan perhitungan rerata per lapang pandang kemudian kalikan rerata jumlah trombosit dengan 20.000 untuk mendapatkan jumlah trombosit dalam  $\mu\text{L}$  (Bain, 2017; PDSPatkin, 2018; Keohana et al., 2025).

#### **D. Pelaporan Evaluasi Sediaan Apus Darah**

Pelaporan SAD meliputi kondisi eritrosit, leukosit dan trombosit, kesan dan saran (PDSPatkin, 2018). Berikut adalah pelaporannya :

##### **Eritrosit :**

- Ukuran (*size*) : normositik, makrositik, mikrositik, kondisi anisositosis, dimorfik. Dilaporkan variasi ukuran yang ditemukan.
- Pewarnaan (*staining*) : normokrom, hipokrom.
- Bentuk (*shape*) : dilaporkan kelainan bentuk eritrosit yang dijumpai dengan menyebutkan secara semi kuantitatif menggunakan sistem grading ICSH (tabel 11.2). Bila terdapat beberapa bentuk abnormal, maka disebutkan secara berurutan dimulai dari yang terbanyak ditemukan.
- Adanya eritrosit berinti : dilaporkan bila ditemukan dalam 100 leukosit.
- Distribusi : laporkan bila ditemukan adanya *rouleaux*/aglutinasi.

**Leukosit :**

- Laporkan perkiraan jumlah : normal/kurang/meningkat.
- Laporkan hitung jenis dalam persentase. Laporkan bila terdapat sel yang dominan atau sel yang sangat tertekan.
- Morfologi : normal/abnormal. Laporkan kelainan yang ditemukan.

**Trombosit :**

- Perkiraan jumlahnya : normal/kurang/meningkat.
- Morfologi (ukuran, bentuk, granulasi) : normal/abnormal, laporkan kelainan yang ditemukan.
- Distribusi : laporkan bila terdapat distribusi abnormal seperti *clump*, *satelitism*.

Kelainan lain (laporkan bila ada)

- Presipitasi protein : *background staining*, parasit, badan inklusi.

**Kesan :**

- Ringkasan dari hasil pemeriksaan SAD dan kelainan yang dijumpai beserta interpretasinya.
- Kemungkinan diagnosis dan diagnosis banding bila memungkinkan/beri jawaban yang spesifik.

**Saran :**

- Diberikan saran tentang pemeriksaan lanjutan yang dibutuhkan untuk menegaskan diagnosis atau menyingkirkan diagnosis banding dan menjawab pertanyaan spesifik/ pemantauan terapi.

**Catatan :**

- Ditemukan atau tidak ditemukannya sel blas perlu dicari dan disebutkan pada kondisi leukositosis, pansitopenia dan pemantauan pasien dengan keganasan hematologi.
- Pada leukositosis, bila terdapat dominasi sel tertentu maka perlu disebutkan dalam laporan. Demikian juga pada leukopenia bila terdapat populasi sel tertentu yang sangat tertekan.
- Ada atau tidaknya trombosit abnormal dan trombosit raksasa perlu dicari dan disebutkan pada kondisi trombositosis.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adewoyin, A and Nwogoh, B. (2014) Peripheral Blood Film - A Review. *Ann. Ibd. Pg. Med.*, 12(2), pp. 71-79.
- Ali, N. (2025) Role of Peripheral Blood Smear Examination in Modern Diagnostics. *Asian Hematol Res J.*, 8(4), pp. 273-281.
- Bain B.J. (2015) Blood sampling and blood film preparation. Morphology of blood cells. In: *Blood cells: a practical guide*. 5<sup>th</sup> ed. West Sussex: Willey Blackwell, pp 1-16, 67-85.
- Bain, B. J. (2017) Blood cell morphology in health and disease. In: Bain B.J., Bates I., Laffan M.A., editors. *Dacie and lewis Practical Hematology* 12<sup>th</sup> ed. Elsevier pp. 34-40.
- Carr, J. H. (2022) *Clinical Hematology Atlas*. 6<sup>th</sup> ed. Canada: Elsevier.
- Kelompok Kerja Hematologi PDSPatklin (2018) *Panduan Evaluasi dan Standarisasi Pelaporan Sediaan Apus Darah Tepi*. Edited By Lidya Utami dan Agus Susanto Kosasih. Jakarta: Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Klinik dan Kedokteran laboratorium Indonesia.
- Keohana EM, Butina MM, Mirza KM, Walanga J.M. (2025) *Rodak's Hematology. Clinical principles and applications*. 7<sup>th</sup> ed. India: Elsevier, pp. 231-243.
- Palmer, L. et al. (2015) ICSH recommendations for the standardization of nomenclature and grading of peripheral blood cell morphological features. *Int Jnl Lab Hem*, 37, pp. 287-303. doi: 10.1111/ijlh.12327.

# BAB 12

## ANEMIA: KLASIFIKASI MORFOLOGIS DAN PENDEKATAN DIAGNOSTIK LABORATORIUM

dr. Budiono Raharjo, Sp.PK, Subsp H.K(K)

### A. Pendahuluan

Sel darah merah (eritrosit) memiliki peran fisiologis yang sangat penting, yaitu mengangkut oksigen ke seluruh jaringan tubuh. Hemoglobin yang terdapat di dalam eritrosit memiliki kemampuan khusus untuk mengikat oksigen di paru-paru dan melepaskannya secara tepat di jaringan. Istilah anemia berasal dari bahasa Yunani *anaimia* (ἀναιμία), yang berarti “kekurangan darah.”

Penurunan jumlah eritrosit, baik disertai maupun tidak dengan penurunan kadar hemoglobin, akan mengakibatkan berkurangnya suplai oksigen ke jaringan sehingga memicu kondisi hipoksia jaringan. Anemia merupakan kondisi yang cukup sering dijumpai dan diperkirakan memengaruhi sekitar 1,93 miliar orang di seluruh dunia.

Anemia sebaiknya tidak dianggap sebagai suatu penyakit tersendiri. Secara klinis, anemia ditegakkan melalui kombinasi anamnesis, pemeriksaan fisik, identifikasi tanda dan gejala, serta hasil pemeriksaan laboratorium hematologi. Kondisi ini merupakan gangguan hematologi yang paling sering dijumpai, baik di tingkat nasional maupun global.

Anemia memiliki berbagai tipe dan etiologi. Dalam banyak kasus, anemia bukanlah penyakit utama, melainkan manifestasi dari kondisi patologis lain yang lebih serius. Oleh karena itu, penentuan penyebab spesifik pada setiap individu menjadi krusial untuk menentukan terapi yang tepat sekaligus

memperkirakan prognosis pasien. Dari sudut pandang laboratorium, anemia umumnya diidentifikasi berdasarkan penurunan kadar hemoglobin (Hb), hematokrit, atau jumlah eritrosit.

Kadar hemoglobin normal pada laki-laki dewasa 14.0-16.5g/dL, perempuan dewasa 12.0-16.0 g/dL. Jumlah massa eritrosit normal pada laki-laki dewasa  $4,5-5,9 \times 10^6/\mu\text{L}$ , perempuan dewasa  $4,1-5,1 \times 10^6/\mu\text{L}$ . Kadar hematokrit normal pada laki-laki dewasa 40-54%, pada perempuan dewasa 37-47%. Kondisi anemia didefinisikan sebagai Hb <12 g/dL pada perempuan dan <14 g/dL pada laki-laki. Berdasarkan derajat keparahannya, anemia dapat diklasifikasikan secara praktis menjadi anemia sedang (Hb 7-10 g/dL) dan anemia berat (Hb <7 g/dL). Pada anemia derajat sedang, gejala klinis sering kali tidak tampak jelas, terutama bila terjadi secara bertahap. Namun demikian, pada pasien dengan usia lanjut atau gangguan kardiovaskular, anemia sedang dapat menimbulkan keluhan seperti sesak napas saat aktivitas, pusing, vertigo, kelemahan otot, sakit kepala, maupun kelelahan umum.

Anemia dengan onset cepat misalnya akibat perdarahan saluran cerna, dapat menimbulkan manifestasi klinis yang lebih berat, seperti hipotensi, takikardia, dan dispnea. Gejala-gejala ini berkaitan dengan penurunan mendadak volume intravaskular serta berkurangnya kapasitas pengangkutan oksigen oleh eritrosit. Kehilangan darah akut dalam jumlah besar juga dapat terjadi pada trauma berat atau prosedur pembedahan mayor.

Pasien dengan anemia umumnya mencari pertolongan medis karena mengalami penurunan toleransi terhadap aktivitas fisik atau kerja, disertai keluhan seperti sesak napas, palpitasi, maupun tanda lain yang mencerminkan adaptasi sistem kardiovaskular dan respirasi terhadap kondisi tersebut. Dalam beberapa kasus, pasien tidak merasakan keluhan yang berarti, namun orang di sekitarnya seperti keluarga atau teman yang dapat mengamati adanya pucat. Pada anak-anak, anemia jarang terdeteksi karena dapat dipikir anak yang memiliki kulit yang putih, padahal anak tersebut dalam kondisi pucat.

Manifestasi klinis anemia tergantung dari derajat Manifestasi klinis anemia dipengaruhi oleh derajat penurunan serta kecepatan berkurangnya kemampuan darah dalam mengangkut oksigen. Manifestasi klinis dapat menyebabkan beberapa keluhan (Means RT dan Glader B, 2024)

### **1. Keluhan Paru dan Kardiovaskular**

Apabila anemia berkembang secara perlahan dan tidak disertai gangguan kardiopulmoner, tubuh dapat beradaptasi dengan cukup baik sehingga kadar Hb dapat turun hingga sekitar 8 g/dL atau bahkan lebih rendah sebelum pasien menyadari adanya keluhan. Pada anemia defisiensi besi, anemia perniosa, maupun jenis anemia lain yang progresnya lambat, kadar Hb bahkan dapat mencapai 6 g/dL atau kurang sebelum penderita terdorong untuk mencari pertolongan medis. Kondisi ini sering dijumpai pada anak-anak, yang tetap dapat beraktivitas tanpa hambatan berarti meskipun mengalami anemia berat. Adaptasi fisiologis terhadap penurunan massa eritrosit yang berlangsung bertahap terutama melibatkan sistem kardiovaskular serta perubahan pada kurva disosiasi oksigen-hemoglobin.

Pada banyak kasus, gejala terkait sistem pernapasan dan sirkulasi baru terasa saat aktivitas fisik. Namun, pada anemia yang berat, keluhan seperti sesak napas dan sensasi denyut jantung yang cepat atau kuat dapat muncul bahkan saat istirahat. Jika anemia terjadi secara akut, gejala yang sering muncul meliputi dispnea, takikardia, pusing atau hampir pingsan (terutama saat perubahan posisi), serta kelelahan berat. Sebaliknya, pada anemia kronis, keluhan biasanya lebih ringan, seperti sesak napas ringan atau palpitasi. Meski demikian, pada sebagian pasien, kondisi seperti gagal jantung kongestif, angina pektoris, atau klaudikasio intermiten dapat menjadi manifestasi awal.

Pada anemia kronis berat, takikardia dan hipotensi ortostatik tidak selalu ditemukan karena volume darah total dapat meningkat akibat ekspansi volume plasma. Khususnya

pada kelompok lanjut usia, kompensasi kardiovaskular terhadap anemia lebih banyak dilakukan melalui peningkatan volume sekuncup dibandingkan peningkatan frekuensi denyut jantung. Dalam kondisi ini, pemberian transfusi darah secara cepat berpotensi memicu gagal jantung kongestif akibat penambahan volume sirkulasi yang sudah meningkat. Meskipun demikian, kebutuhan untuk meningkatkan kapasitas angkut oksigen tetap harus dipertimbangkan, dengan penggunaan diuretik secara hati-hati pada periode sekitar transfusi, terutama pada pasien dengan tanda kelebihan volume cairan.

Bising jantung merupakan temuan kardiovaskular yang cukup sering pada anemia. Umumnya bersifat sistolik dan paling jelas terdengar di area pulmonal. Intensitasnya biasanya sedang, namun terkadang dapat terdengar kasar sehingga menimbulkan kecurigaan terhadap kelainan katup jantung organik. Dalam beberapa penelitian, sekitar seperempat kasus bising jantung pada klinik kardiologi anak berkaitan dengan anemia dan menghilang setelah kondisi tersebut ditangani.

## **2. Keluhan Neurologis**

Berbagai gejala neurologis dan sistemik sering muncul pada anemia berat, di antaranya sakit kepala, vertigo, tinnitus, rasa melayang atau hampir pingsan, gangguan lapang pandang (skotoma), penurunan konsentrasi, mengantuk, kegelisahan, serta kelemahan otot.

Pada anemia perniosa, parestesia merupakan keluhan yang cukup sering ditemukan. Gejala ini dapat disertai manifestasi lain yang mengarah pada neuropati perifer, dan dalam beberapa kasus berkaitan dengan gangguan neurologis yang lebih luas, terutama yang melibatkan sistem saraf secara kombinasi

## **3. Keluhan Pucat**

Pucat merupakan salah satu tanda yang sering dikaitkan dengan anemia, namun warna kulit tidak semata-mata ditentukan oleh kadar hemoglobin (Hb). Berbagai

faktor lain turut berperan, seperti derajat dilatasi pembuluh darah perifer, tingkat pigmentasi kulit, serta kandungan cairan pada jaringan subkutan. Beberapa individu secara alami memiliki kulit yang tampak pucat meskipun tidak mengalami anemia. Selain itu, kondisi seperti miksedema juga dapat menimbulkan kesan pucat tanpa disertai penurunan Hb. Pada sinkop vasovagal sederhana, pucat terjadi akibat vasokonstriksi kulit dan bukan merupakan indikator anemia. Di sisi lain, kondisi seperti ikterus, sianosis, pigmentasi kulit rasial, maupun vasodilatasi perifer dapat menyamarkan pucat yang disebabkan oleh anemia.

Tanda pucat akibat anemia umumnya lebih mudah dikenali pada area mukosa, seperti rongga mulut dan faring, konjungtiva, bibir, serta dasar kuku. Pada tangan, perubahan awal biasanya terlihat pada telapak yang menjadi lebih pucat, sementara garis lipatan telapak masih mempertahankan warna kemerahan normal hingga kadar Hb turun di bawah sekitar 7 g/dL.

Warna kulit yang tampak kekuningan kusam (*sallow*) sering mengindikasikan anemia kronis. Pucat dengan nuansa kuning lemon merupakan ciri khas anemia pernisiiosa, meskipun biasanya hanya terlihat pada stadium lanjut. Sementara itu, pucat yang disertai ikterus ringan pada sklera dan kulit mengarah pada anemia hemolitik. Jika pucat tampak jelas bersamaan dengan adanya petekie atau ekimosis, hal tersebut dapat mengindikasikan gangguan yang lebih luas yang dapat mengenai sumsum tulang atau terjadinya penurunan trombosit (trombositopenia), seperti leukemia akut, aplasia sumsum tulang, atau sindrom mielodisplastik.

#### **4. Keluhan Kulit dan Mukosa**

Anemia dapat memengaruhi kulit dan mukosa. Rambut dapat mengalami penipisan, kehilangan kilau, serta muncul uban lebih awal. Perubahan warna rambut ini terutama sering dijumpai pada anemia pernisiiosa, bahkan dapat terjadi sebelum kondisi anemia terdeteksi.

Kuku juga menunjukkan perubahan, seperti tampak kusam, rapuh, dan mudah patah. Pada anemia defisiensi besi yang berlangsung kronis, kuku dapat mengalami deformitas khas berupa bentuk cekung (*koilonychia*), berbeda dari bentuk normal yang cembung. Ulkus kronis pada tungkai dapat ditemukan, khususnya pada penderita anemia sel sabit, meskipun kondisi ini jarang terjadi pada jenis anemia hemolitik lainnya. Selain itu, peradangan lidah (*glositis*) sering berkaitan dengan anemia pernisiiosa. Apabila anemia disebabkan oleh kekurangan nutrisi, dapat muncul manifestasi kulit tambahan, seperti dermatitis simetris, adanya celah atau luka pada sudut mulut, serta lesi kemerahan pada wajah, leher, tangan, atau siku.

## **B. Eritrosit, Indeks Eritrosit dan Retikulosit**

Eritrosit harus dilihat dari tiga hal yaitu ukuran (*size*), warna (*stain*) dan bentuk (*shape*). Pada pemeriksaan laboratorium bila didapatkan anemia (penurunan kadar hemoglobin, jumlah eritrosit, dan hematokrit) maka kita harus melihat indeks eritrosit. Indeks eritrosit antara lain yaitu *Mean Corpuscular Volume* (MCV), *Mean Corpuscular Hemoglobin* (MCH) dan *Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration* (MCHC), *Red Distribution Width* (RDW). Indeks eritrosit MCV menggambarkan ukuran dari eritrosit, indeks MCH dan MCHC menggambarkan warna eritrosit dan kadar hemoglobin didalam eritrosit, sedangkan RDW menggambarkan variasi ukuran eritrosit.

Indeks eritrosit MCV, MCH dan MCHC didasarkan atas perhitungan. Rumus perhitungan  $MCV = \frac{\text{Hematokrit (Hct)}\% \times \text{jumlah sel darah merah/Red Blood Cell (RBC)} (10^6/\text{ml})}{100}$ ,  $MCH = \frac{\text{Hemoglobin (Hb)}\text{g/dl}}{\text{RBC}(10^6/\text{ml})} \times 10$ ,  $MCHC = \frac{\text{Hemoglobin (Hb)}\text{g/dl}}{\text{Hematokrit (Hct)}\%} \times 100$ . Nilai normal MCV adalah 80-100 femtoliter (fl). Nilai normal MCH adalah 26-32 pikogram (pg). Nilai normal MCHC adalah 32-36%

Retikulosit adalah eritrosit muda yang sudah tidak memiliki inti sel, tetapi masih mengandung sisa asam ribonukleat (RNA) yang diperlukan untuk menyelesaikan sintesis hemoglobin. Dalam kondisi normal, retikulosit beredar di sirkulasi perifer selama kurang lebih satu hari sebelum berkembang menjadi eritrosit matang. Jumlah retikulosit merupakan parameter penting untuk menilai kemampuan sumsum tulang dalam meningkatkan produksi eritrosit sebagai respons terhadap kondisi anemia.

Nilai rujukan jumlah retikulosit, baik pada anak maupun dewasa, biasanya disediakan dalam bagian referensi khusus tetapi secara umum nilai rujukan retikulosit adalah 0.8-1.5%. Perhitungan jumlah retikulosit absolut menggambarkan jumlah sebenarnya retikulosit dalam satuan volume darah (per liter atau mikroliter), yang diperoleh dari hasil perkalian persentase retikulosit dengan jumlah eritrosit total.

Pada kasus anemia berat, interpretasi berdasarkan persentase saja dapat menyesatkan. Sebagai contoh, pasien dewasa dengan jumlah eritrosit  $1,5 \times 10^{12}/L$  dan retikulosit 3% tampak mengalami peningkatan secara persentase. Namun, jika dihitung secara absolut, nilainya sekitar  $45 \times 10^9/L$  yang masih berada dalam batas normal. Meski demikian, untuk kondisi anemia berat, angka tersebut sebenarnya tidak mencerminkan respons produksi yang adekuat, karena tidak sebanding dengan penurunan jumlah eritrosit yang signifikan.

Bila ingin mendapatkan gambaran yang lebih akurat mengenai produksi eritrosit, dilakukan dua tahap koreksi terhadap jumlah retikulosit. Pertama, dihitung nilai retikulosit terkoreksi dengan menyesuaikan derajat anemia, yaitu dengan mengalikan persentase retikulosit dengan nilai hematokrit pasien, kemudian dibagi dengan nilai hematokrit normal rata-rata (sekitar 45%). Selanjutnya, jika retikulosit dilepaskan lebih awal dari sumsum tulang dan bertahan lebih lama di sirkulasi (sekitar 2-3 hari), maka hasil retikulosit terkoreksi perlu dibagi lagi dengan waktu maturasi untuk memperoleh indeks produksi retikulosit (*Reticulocyte Production Index/RPI*). Indeks ini

dianggap lebih representatif dalam menilai kecepatan produksi eritrosit dibandingkan nilai retikulosit terkoreksi saja. Nilai rujukan dari RPI adalah 2, bila RPI >2 dianggap respon sumsum tulang terhadap anemia itu baik (hiperproliferasi), tetapi bila RPI<2 maka respon sumsum tulang terhadap anemia tidak adekuat (hipoproliferasi).

**Tabel 12.1** Rumus Hitung Retikulosit dan Indeks Eritrosit

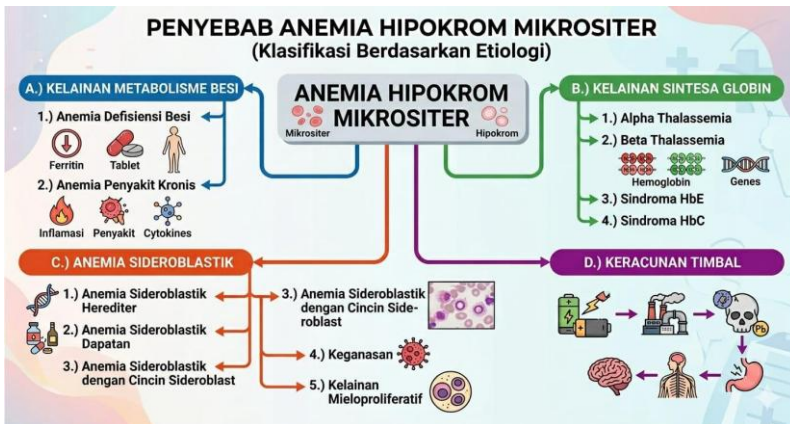
| <b>Pemeriksaan</b>                                             | <b>Rumus</b>                                                  |
|----------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|
| <b>Hitung retikulosit absolut (<math>\times 10^9/L</math>)</b> | = (retikulosit(%) x jumlah RBC( $\times 10^{12}/L$ ))/100     |
| <b>Hitung koreksi retikulosit (%)</b>                          | = (retikulosit(%) x Hct pasien(%))/45                         |
| <b>Indeks produksi retikulosit (RPI)</b>                       | = hitung koreksi retikulosit/waktu maturasi                   |
| <b>Mean Corpuscular Volume (MCV)</b>                           | = (Hct(%) / jumlah RBC ( $\times 10^{12}/L$ )) $\times 10$    |
| <b>Mean Corpuscular Hemoglobin (MCH) pq</b>                    | = (Hb (g/dL) / jumlah RBC ( $\times 10^{12}/L$ )) $\times 10$ |
| <b>Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration (MCHC) %</b>      | = (Hb (g/dL) / Hct (%)) $\times 100$                          |

Teknologi terbaru pada alat analisis darah otomatis memungkinkan pengukuran fraksi retikulosit imatur (Immature Reticulocyte Fraction/IRF), yaitu proporsi retikulosit muda dalam sirkulasi. Parameter ini berguna untuk mengevaluasi respons awal sumsum tulang setelah terapi anemia dimulai.

Penggolongan anemia berdasarkan morfologi eritrosit (indeks eritrosit) ini dibagi menjadi tiga yaitu anemia hipokrom mikrositer, anemia normokrom normositer dan anemia makrositer. Penggolongan anemia ini didasarkan atas penyebab anemia dan pendekatan diagnosa.

## 1. Anemia Hipokrom Mikrositer

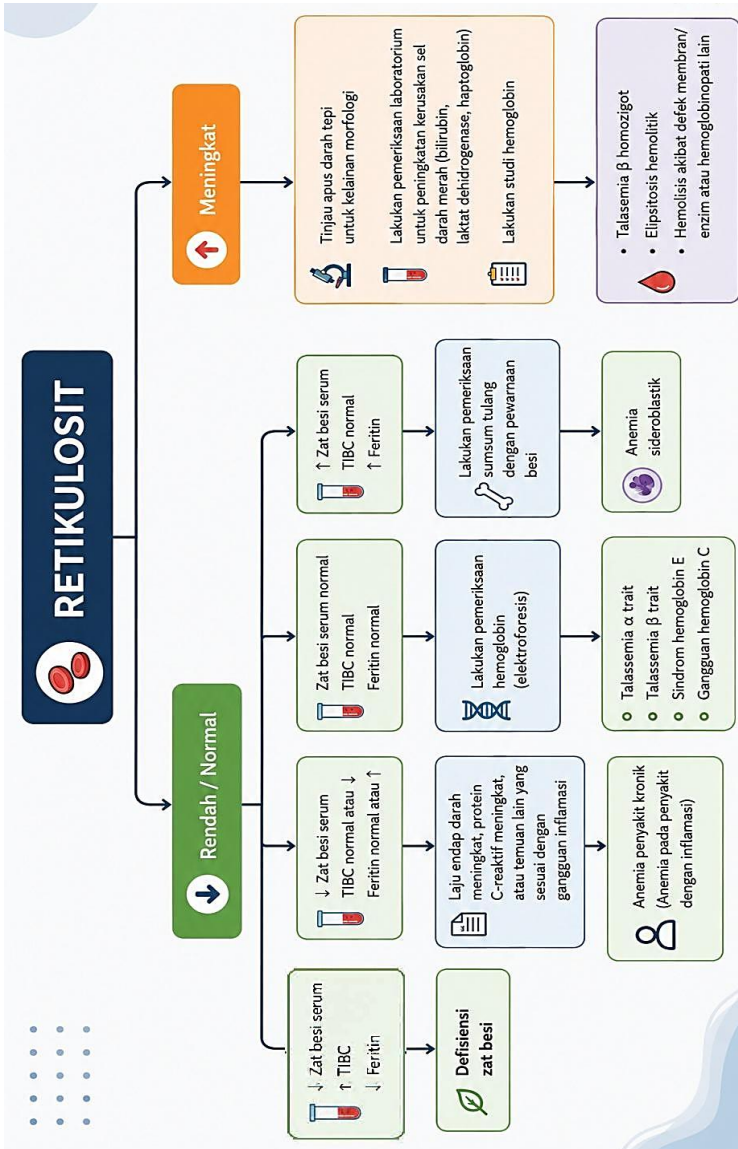
Pada anemia hipokrom mikrositer berdasarkan penyebabnya adalah a.) kelainan metabolisme besi (anemia defisiensi besi, anemia penyakit kronis); b.) kelainan sintesa globin (a dan b thalassemia, sindroma HbE, sindroma HbC); c.) anemia sideroblastic (anemia sideroblastik hereditas, anemia sideroblastik dapatan, anemia sideroblastik dengan cincin sideroblastik, keganasan, kelainan mieloproliferatif), d.) keracunan timbal.



**Gambar 12.1** Penyebab Anemia Hipokrom Mikrositer

Pada anemia hipokrom mikrositer dapat dilakukan perhitungan indeks *Mentzer* terlebih dahulu. Indeks *Mentzer* ini digunakan untuk membedakan antara anemia defisiensi besi dan hemoglobinopathi. Rumus indeks *Mentzer* =  $MCV (fl) / RBC(10^6/ml)$ , apabila hasil indeks kurang dari 12 dapat dipikirkan suatu hemoglobinopathi, bila hasil antara 12-14 dapat dipikirkan area tidak dapat ditentukan dengan pasti (*indeterminate*) dapat disebabkan defisiensi besi atau hemoglobinopathi, bila hasil lebih dari 14 dapat dipikirkan suatu defisiensi besi (Means dan Glader, 2019).

Penggolongan anemia hipokrom mikrositer dapat dilakukan pemeriksaan retikulosit untuk menentukan penyebab dari anemia.



**Gambar 12.2 Penyebab Anemia Hipokrom Mikrositer Berdasarkan Reticulosit**

Pemeriksaan serum iron, *Total Iron Binding Capacity* (TIBC) dan ferritin merupakan bagian penting dalam evaluasi status metabolisme besi di dalam tubuh. Ketiga parameter tersebut sering digunakan secara bersamaan untuk membantu menegakkan diagnosis berbagai gangguan hematologi, terutama anemia defisiensi besi, anemia akibat penyakit kronis, maupun kondisi kelebihan zat besi. Interpretasi hasil pemeriksaan harus dilakukan secara komprehensif karena masing-masing parameter memiliki fungsi dan makna klinis yang berbeda.

Serum iron merupakan pemeriksaan yang menggambarkan jumlah zat besi yang beredar di dalam plasma darah dan terikat pada protein transferrin. Pemeriksaan ini mencerminkan besi yang tersedia untuk proses fisiologis, terutama pembentukan hemoglobin dan produksi eritrosit. Nilai normal serum iron pada orang dewasa umumnya berkisar antara 60–170 µg/dL. Pemeriksaan ini biasanya tidak diinterpretasikan secara tunggal karena kadar serum iron dapat dipengaruhi oleh variasi harian, asupan makanan, serta kondisi fisiologis tertentu.

*Total Iron Binding Capacity* (TIBC) adalah parameter yang menunjukkan kemampuan total protein transferrin dalam mengikat zat besi di dalam sirkulasi darah. Pemeriksaan ini secara tidak langsung menggambarkan jumlah transferrin yang tersedia untuk membawa besi. Peningkatan nilai TIBC umumnya terjadi pada kondisi kekurangan besi. Pada keadaan tersebut, tubuh akan meningkatkan produksi transferrin guna memaksimalkan pengikatan dan transportasi zat besi yang jumlahnya terbatas. Sebaliknya, penurunan TIBC dapat ditemukan pada penyakit hati kronis, inflamasi kronik, malnutrisi, maupun keadaan kelebihan zat besi. Rentang normal TIBC pada dewasa berkisar antara 250–450 µg/dL. Dalam praktik klinis, pemeriksaan TIBC sering dikombinasikan dengan serum iron untuk menghitung saturasi transferrin.

Ferritin adalah protein intraseluler yang berperan sebagai tempat penyimpanan utama zat besi di dalam tubuh. Sebagian besar ferritin ditemukan di hati, limpa, sumsum tulang, dan jaringan otot. Dalam kondisi normal, sejumlah kecil ferritin juga dapat ditemukan di dalam serum darah sehingga kadar ferritin serum sering digunakan sebagai indikator cadangan besi tubuh. Kadar ferritin yang rendah umumnya menunjukkan berkurangnya simpanan zat besi dan sering dikaitkan dengan anemia defisiensi besi. Sebaliknya, peningkatan kadar ferritin dapat ditemukan pada keadaan inflamasi, infeksi kronis, gangguan hati, maupun beberapa jenis keganasan. Hal ini disebabkan ferritin termasuk protein fase akut yang dapat meningkat selama proses peradangan berlangsung. Nilai normal ferritin pada orang dewasa berbeda berdasarkan jenis kelamin. Pada laki-laki, kadar normal berkisar antara 30–400 ng/mL, sedangkan pada perempuan sekitar 13–150 ng/mL. Namun demikian, rentang nilai rujukan dapat bervariasi sesuai metode dan alat pemeriksaan laboratorium yang digunakan.

#### **a. Anemia Defisiensi Besi**

Anemia defisiensi besi merupakan anemia yang paling sering ditemukan. Anemia defisiensi besi disebabkan oleh karena kurangnya cadangan besi di dalam sumsum tulang, dimana besi sangat diperlukan untuk pembentukan eritrosit. Pada anemia defisiensi zat besi dapat disebabkan oleh berbagai faktor, antara lain asupan makanan yang tidak mencukupi, gangguan penyerapan besi di saluran cerna, peningkatan kebutuhan tubuh, maupun kehilangan darah secara kronis. Pada wanita usia reproduktif, menstruasi yang berlebihan menjadi salah satu penyebab utama. Selain itu, anemia defisiensi besi juga sering ditemukan pada ibu hamil, anak-anak, lansia, serta pasien dengan penyakit kronis tertentu. Pada anemia defisiensi besi pada pemeriksaan laboratorium dapat ditemukan anemia hipokrom mikrositer, kadar ferritin rendah (Iolascon et al, 2024).

Pada anemia hipokrom mikrositer bila ditemukan retikulosit yang rendah atau normal maka harus dilakukan pemeriksaan kadar zat besi serum (*Serum Iron*/SI), *Total Iron Binding Capacity* (TIBC) dan kadar ferritin untuk membedakan penyebabnya. Bila kadar SI menurun, TIBC meningkat, kadar saturasi transferrin rendah dan kadar ferritin menurun. Pada pemeriksaan apus darah tepi dapat ditemukan tanda yang khas dari anemia defisiensi besi yaitu sel pensil/sel cerutu(*cigar cell*). Standar baku emas diagnosa adalah pemeriksaan sumsum tulang dengan pewarnaan *prussian blue*, tetapi pemeriksaan ini sangat invasif sehingga dapat diganti dengan pemeriksaan kadar SI, TIBC dan ferritin. Parameter hematologi terbaru yang tidak invasif adalah *Reticulocyte Hemoglobin Equivalent* (Ret-He) untuk membedakan anemia defisiensi besi dan anemia penyakit kronis (Rao dan Mirji, 2024).

#### **b. Anemia Penyakit Kronis**

Anemia penyakit kronis merupakan anemia yang paling sering ditemukan setelah anemia defisiensi besi (ADB) dan menjadi anemia yang paling banyak dijumpai pada pasien rawat inap maupun individu dengan penyakit kronis. Kondisi ini lebih sering terjadi pada kelompok usia lanjut, meskipun dapat dialami oleh semua kelompok usia. Anemia penyakit kronis memiliki mekanisme yang kompleks dan berkaitan dengan berbagai kondisi seperti infeksi kronis, penyakit autoimun, gangguan ginjal kronis, keganasan, serta keadaan lain yang menimbulkan inflamasi berkepanjangan. Anemia penyakit kronis termasuk ke dalam kelompok anemia akibat gangguan metabolisme besi karena cadangan besi dalam tubuh sebenarnya cukup atau meningkat, namun proses pelepasan dan pemanfaatannya terganggu. Dalam beberapa dekade terakhir, pemahaman mengenai proses terjadinya anemia penyakit kronis semakin berkembang. Terdapat tiga mekanisme utama yang berperan dalam

pembentukan anemia ini melalui mediator yang dihasilkan oleh sistem imun yang teraktivasi.

Mekanisme pertama adalah terjadinya pembatasan ketersediaan besi sebagai respons terhadap berbagai sitokin inflamasi yang dilepaskan selama proses peradangan. Hepcidin, yaitu hormon yang diproduksi oleh hepatosit untuk mengatur kadar besi tubuh, juga berfungsi sebagai protein fase akut. Peningkatan kadar hepcidin menyebabkan inaktivasi ferroportin semakin meningkat. Dalam keadaan normal, ferroportin berperan mengekspor dan mendaur ulang besi ke dalam sirkulasi darah. Namun, pada inflamasi kronis, proses ini menghambat penyerapan besi di duodenum serta menghalangi pelepasan cadangan besi dari makrofag. Akibatnya, jumlah besi yang tersedia untuk sintesis hemoglobin menjadi berkurang. Mekanisme kedua dimana proses peradangan atau inflamasi memberikan dampak penghambatan terhadap proses eritropoiesis dengan menurunkan efektivitas kerja eritropoietin (EPO). Mekanisme ini terjadi melalui dua jalur utama. Pertama, sitokin inflamasi mengganggu fungsi sel ginjal penghasil EPO. Kedua, sitokin tersebut menurunkan jumlah serta sensitivitas reseptor EPO terhadap rangsangan hormon. Akibatnya, produksi sel darah merah berkurang dan proses apoptosis sel meningkat. Mekanisme ketiga adalah memendeknya usia eritrosit. Kondisi inflamasi meningkatkan ekspresi *divalent metal transporter 1* (DMT1) sehingga penyerapan besi ke dalam makrofag menjadi lebih tinggi. Selain itu, kadar TNF- $\alpha$  dan IL-6 juga diketahui mengalami peningkatan. Keadaan ini dapat menimbulkan kerusakan pada membran eritrosit dan merangsang terjadinya eritrofagositosis.

### c. Kelainan Sintesa Globin

Hemoglobinopati merupakan kelompok kelainan genetik yang terjadi akibat perubahan struktur atau gangguan sintesis rantai globin penyusun hemoglobin. Kelainan ini diturunkan secara hereditas dan dapat menyebabkan gangguan fungsi eritrosit.

Secara umum, hemoglobinopati dibagi menjadi dua kelompok utama, yaitu kelainan struktur hemoglobin dan kelainan sintesis globin. Kelainan struktur hemoglobin terjadi akibat mutasi yang mengubah susunan asam amino pada rantai globin, sedangkan kelainan sintesis globin terjadi akibat penurunan atau tidak terbentuknya salah satu rantai globin.

Kelainan struktur hemoglobin terjadi karena perubahan susunan asam amino pada rantai globin sehingga menghasilkan hemoglobin abnormal dengan fungsi atau sifat yang berbeda dari hemoglobin normal. Kelainan struktur hemoglobin meliputi beberapa yaitu *Hemoglobin E Disease* atau sindroma HbE, Penyakit sabit (*Sickle Cell Disease*), *Hemoglobin C disease* atau sindroma HbC, *Hemoglobin D disease* atau sindroma HbD.

Kelainan sintesa globin (*Thalassemia*) terjadi karena penurunan atau tidak terbentuknya salah satu rantai globin, baik rantai alfa maupun beta. *Thalassemia* alfa terjadi akibat delesi atau mutasi gen alfa globin pada kromosom 16. *Thalassemia* beta disebabkan oleh mutasi gen beta globin pada kromosom 11 sehingga produksi rantai beta menurun.

Pada pemeriksaan laboratorium untuk *thalassemia* dapat dilakukan pemeriksaan darah lengkap, dimana hasil akan ditemukan anemia hipokrom mikrositer dan kadar Red Cell Distribution Width (RDW) biasanya normal atau sedikit meningkat. Pemeriksaan indeks Mentzer ditemukan  $< 12$  dapat dicurigakan suatu *thalassemia*. Pemeriksaan apus darah tepi ditemukan hipokrom anisopoikilositosis dengan beberapa sel yang

kelas yaitu sel target, sel tear drop atau basophilic stippling. Pemeriksaan hb elektroforesis dapat digunakan untuk memisahkan jenis hemoglobin berdasarkan muatan listriknya. Pada thalassemia beta dapat ditemukan peningkatan kadar HbA<sub>2</sub>, peningkatan kadar HbF dan penurunan kadar HbA. Pemeriksaan molekuler dapat dilakukan untuk mendeteksi mutasi gen globin, dimana metode yang dapat digunakan antara lain: *Polymerase Chain Reaction (PCR)*, *DNA sequencing*, *Multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA)*

#### **d. Anemia Sideroblastik**

Anemia sideroblastik merupakan kelompok kelainan anemia yang ditandai oleh gangguan pemanfaatan besi dalam proses sintesis heme sehingga terjadi penumpukan besi di dalam sel eritroid. Keadaan ini menyebabkan anemia hipokromik, eritropoiesis yang tidak efektif, peningkatan kadar besi dalam serum maupun jaringan tubuh, serta ditemukannya sideroblas cincin (*ringed sideroblasts*) pada sumsum tulang.

Anemia sideroblastik termasuk kelompok anemia dengan penyebab yang sangat beragam dan dapat bersifat hereditas maupun didapat. Penyebab hereditas meliputi anemia sideroblastik kongenital terkait kromosom X (*X-linked congenital sideroblastic anemia*), anemia sideroblastik autosomal resesif. Penyebab primer umumnya berkaitan dengan sindrom mielodisplastik, terutama *myelodysplastic syndrome with ringed sideroblasts* (MDS-RS). Penyebab sekunder biasanya berhubungan dengan paparan toksin seperti timbal, penggunaan obat-obatan tertentu (kloramfenikol, hormon, atau kemoterapi) defisiensi tembaga, serta penyakit neoplastik kronis.

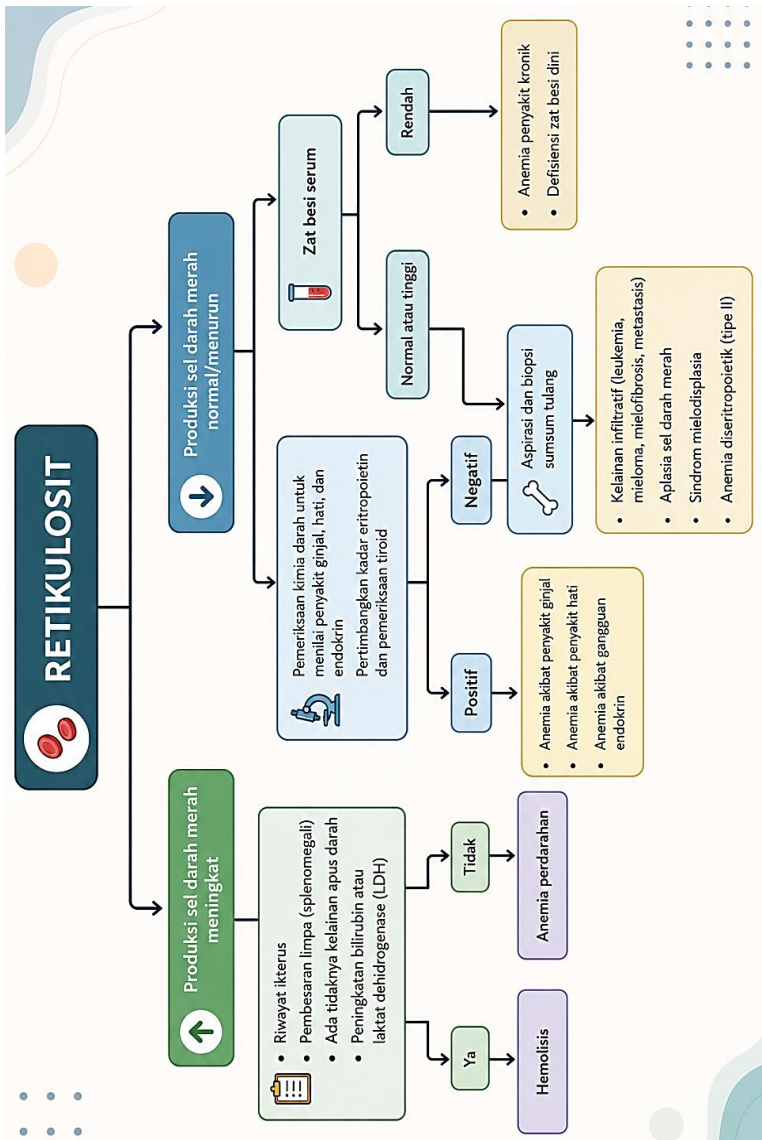
Derajat anemia pada kondisi ini dapat bervariasi, mulai dari ringan hingga berat. Eritrosit menunjukkan gambaran dimorfik, yaitu terdapat variasi ukuran sel mulai dari mikrosit hingga normosit, dan sebagian tampak hipokromik. Nilai mean corpuscular volume

- (MCV) dan mean corpuscular hemoglobin (MCH) umumnya mengalami penurunan. Sementara itu, red cell distribution width (RDW) meningkat karena adanya dua populasi eritrosit dengan ukuran yang berbeda. Pada beberapa kasus dapat ditemukan makrositosis, sehingga
- perlu dilakukan diagnosis banding dengan sindrom mielodisplastik yang juga disertai adanya sideroblas cincin (ringed sideroblasts).

Kelainan morfologi eritrosit yang dapat dijumpai pada anemia sideroblastik ini meliputi anisitosis, poikilositosis, sel target (target cells), badan Pappenheimer yang merupakan deposit besi dalam eritrosit, serta basophilic stippling. Jumlah leukosit dan trombosit umumnya tetap berada dalam batas normal.

## **2. Anemia Normokrom Normositer**

Pada anemia normokrom normositer dapat disebabkan oleh beberapa hal. Penggolongan anemia normokrom normositer bila ditemukan indeks eritrosit MCV, MCH dan MCHC dalam batas normal.



Gambar 12.3 Penyebab Anemia Normokrom Normositer Berdasarkan Reticulosit

Pada anemia normokrom normositer sebaiknya dilakukan pemeriksaan retikulosit. Apabila ditemukan hasil retikulosit yang tinggi (retikulositosis) maka hal ini dapat disebabkan oleh karena hemolisis, anemia karena perdarahan akut, terapi terhadap anemia.

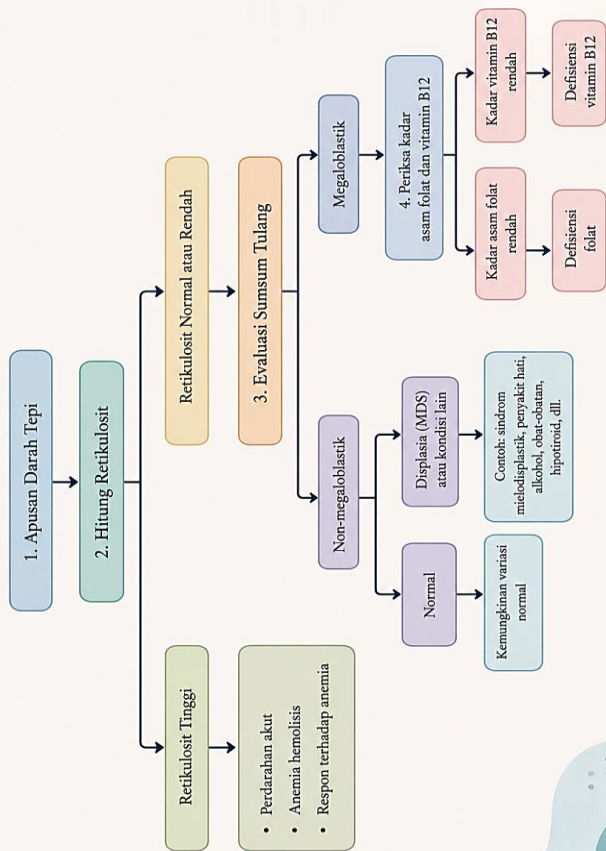
Pada anemia hemolisis dapat disebabkan oleh beberapa hal yaitu: a.) anemia hemolitik heredit (spherositosis heredit, defisiensi enzim glukosa-6-fosfat dehidrogenase (G6PD), thalassemia, anemia sel sabit), b.) anemia hemolitik didapat (anemia hemolitik autoimun, hemolisis akibat infeksi, hemolisis akibat obat, hemolisis mekanik). Pada pemeriksaan laboratorium anemia hemolitik dapat ditemukan penurunan kadar hemoglobin, massa eritrosit, dan kadar hematokrit. Pada anemia hemolisis dapat ditemukan peningkatan retikulosit (retikulositosis) sebagai respon kompensasi sumsum tulang, peningkatan kadar bilirubin indirek, peningkatan kadar laktat dehidrogenase (LDH), kadar haptoglobin menurun akibat berikatan dengan hemoglobin bebas.

### **3. Anemia Makrositer**

Anemia makrositer adalah jenis anemia yang ditandai oleh ukuran eritrosit yang lebih besar dari normal dengan nilai MCV lebih dari 100 fL. Pembesaran eritrosit terjadi akibat gangguan maturasi inti sel yang menyebabkan perkembangan inti dan sitoplasma menjadi tidak seimbang.

Pada anemia makrositer, sumsum tulang menghasilkan eritrosit berukuran besar yang sering kali tidak matang sempurna. Kondisi ini dapat menyebabkan penurunan efektivitas pengangkutan oksigen ke jaringan tubuh.

## ALGOITMA PENDEKATAN ANEMIA MAKROSITER (MCV MENINGKAT)



**Gambar 12.4** Penyebab Anemia Makrositer Berdasarkan Retikulosit

Secara umum, anemia makrositer dibedakan menjadi anemia megaloblastik dan non-megaloblastik. Perbedaan tersebut didasarkan pada mekanisme gangguan pembentukan eritrosit.

Anemia megaloblastik terjadi akibat gangguan sintesis DNA sehingga maturasi inti sel terganggu. Kondisi ini biasanya disebabkan oleh defisiensi vitamin B12 atau asam folat. Vitamin B12 berperan penting dalam pembentukan DNA dan fungsi sistem saraf. Kekurangan vitamin ini dapat menyebabkan pembentukan eritrosit abnormal dan gangguan neurologis. Penyebab defisiensi vitamin B12 meliputi malnutrisi, gangguan absorpsi di ileum, anemia pernisioma, penyakit saluran cerna, diet vegetarian ketat dalam jangka panjang. Asam folat diperlukan dalam sintesis nukleotida dan pembelahan sel. Kekurangan folat dapat menyebabkan pembentukan eritrosit yang abnormal. Defisiensi asam folat dapat terjadi akibat asupan nutrisi yang kurang, kehamilan, alkoholisme, penyakit malabsorpsi, penggunaan obat tertentu

Pada anemia makrositer megaloblastik, gangguan utama terjadi pada sintesis DNA. Defisiensi vitamin B12 atau asam folat menyebabkan pembelahan inti sel berjalan lebih lambat dibandingkan perkembangan sitoplasma. Akibatnya, eritrosit yang dihasilkan menjadi besar dan abnormal. Gangguan maturasi inti menyebabkan terbentuknya megaloblas di sumsum tulang. Sel-sel ini memiliki inti yang belum matang tetapi sitoplasma tampak berkembang normal. Sebagian besar sel abnormal mengalami destruksi di sumsum tulang sebelum masuk ke sirkulasi, sehingga terjadi eritropoiesis yang tidak efektif.

Pada defisiensi vitamin B12, gangguan juga terjadi pada metabolisme asam lemak yang memengaruhi mielin saraf. Oleh sebab itu, pasien dapat mengalami gangguan neurologis seperti kesemutan dan gangguan keseimbangan.

Pada anemia makrositer non-megaloblastik, pembesaran eritrosit tidak berkaitan langsung dengan gangguan sintesis DNA. Misalnya pada penyakit hati, perubahan komposisi lipid membran eritrosit menyebabkan ukuran sel membesar.

Pada pemeriksaan laboratorium anemia makrositer dapat ditemukan penurunan kadar hemoglobin, massa eritrosit, dan kadar hematokrit serta peningkatan indeks eritrosit MCV. Pada apus darah tepi dapat ditemukan eritrosit makrositer dan neutrofil hipersegmentasi. Pada anemia megaloblastik dapat dilakukan pemeriksaan kadar vitamin B12 dan asam folat untuk menentukan penyebab anemia.

Pada anemia makrositer dapat dilakukan pemeriksaan retikulosit. Apabila ditemukan hasil retikulosit yang tinggi (retikulositosis) maka hal ini dapat disebabkan oleh karena hemolisis, anemia karena perdarahan akut, terapi terhadap anemia. Apabila dicurigai non megaloblastik, maka dapat dilakukan pemeriksaan fungsi hati dan tiroid.

## DAFTAR PUSTAKA

- Iolascon, A. *et al.* (2024) 'Recommendations for diagnosis , treatment , and prevention of iron deficiency and iron deficiency anemia', (January), pp. 1-16. Available at: <https://doi.org/10.1002/hem3.108>.
- Manchanda, N. (2025) 'Anemias: Red Blood Cell Morphology and Approach to Diagnosis', in Keohane, E.M., Butina, M.M., Mirza, K.M. and Walenga, J.M. (eds.) *Rodak's Hematology: Clinical Principles and Applications*. 7th ed. St. Louis, Missouri: Elsevier, pp. 262-274.
- Means Jr., R.T. and Glader, B. (2019) 'Anemia: General Considerations', in Greer, J.P., Rodgers, G.M., Glader, B., Arber, D.A., Means Jr., R.T., List, A.F., Appelbaum, F.R., Dispenzieri, A. and Fehniger, T.A. (eds.) *Wintrobe's Clinical Hematology*. 14th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer, Chapter 24.
- Rao, H.R. and Mirji, S. (2024) 'Diagnostic utility of reticulocyte hemoglobin equivalent parameter in the evaluation of microcytic hypochromic anemia – Our experience from Northeast India', *Annals of African Medicine*, 23, pp. 222-228. [https://doi.org/10.4103/aam.aam\\_8\\_23](https://doi.org/10.4103/aam.aam_8_23).
- Stevens-Hernandez, C.J. and Bruce, L.J. (2022) 'Reticulocyte maturation', *Membranes*, 12(3), p. 311. <https://doi.org/10.3390/membranes12030311>.

# BAB 13

## LEUKOSITOSIS DAN LEUKOPENIA: PENDEKATAN INTERPRETATIF AWAL

Dr. apt. Ifora, M.Farm

### A. Pendahuluan

Pemeriksaan jumlah leukosit merupakan komponen esensial dalam evaluasi hematologi rutin yang memiliki nilai diagnostik awal yang tinggi dalam praktik klinis. Leukosit berperan sebagai elemen utama sistem imun yang terlibat dalam respons terhadap infeksi, inflamasi, stres fisiologis, serta berbagai kondisi patologis lainnya (He *et al.*, 2023). Oleh karena itu, perubahan kuantitatif leukosit, baik berupa peningkatan maupun penurunan, sering kali menjadi indikator awal adanya gangguan homeostasis tubuh yang memerlukan evaluasi lebih lanjut. Dalam konteks ini, interpretasi jumlah leukosit tidak hanya dipandang sebagai hasil numerik semata, tetapi sebagai representasi dinamis dari interaksi kompleks antara sistem imun dan berbagai faktor internal maupun eksternal (He *et al.*, 2023; Yu, 2024).

Dalam praktik klinis sehari-hari, hasil hitung leukosit biasanya diperoleh melalui pemeriksaan hitung darah lengkap (*complete blood count/CBC*), yang sering kali menjadi pemeriksaan skrining awal pada berbagai kondisi klinis. Nilai leukosit yang berada di luar rentang normal dapat memberikan petunjuk awal terhadap kemungkinan adanya infeksi bakteri atau virus, respons inflamasi non-infeksi, gangguan sumsum tulang, hingga efek samping obat-obatan tertentu (Seisoma, 2024). Namun demikian, interpretasi nilai ini tidak dapat dilakukan secara terpisah, melainkan harus dikaitkan dengan konteks

klinis pasien, termasuk kondisi fisiologis, riwayat penyakit, serta temuan laboratorium lainnya (Seisoma, 2024; Yu, 2024).

Lebih lanjut, penting untuk dipahami bahwa perubahan jumlah leukosit bersifat non-spesifik, sehingga memerlukan pendekatan interpretatif yang sistematis dan hati-hati. Leukositosis dan leukopenia bukanlah diagnosis akhir, melainkan suatu temuan laboratorium yang berfungsi sebagai titik awal dalam proses penalaran klinis. Pendekatan interpretatif awal bertujuan untuk mengidentifikasi pola perubahan yang bermakna, mengarahkan kemungkinan etiologi secara umum, serta menentukan kebutuhan pemeriksaan lanjutan secara rasional dan efisien (Seisoma, 2024).

## **B. Definisi dan Klasifikasi Leukositosis dan Leukopenia**

Dalam praktik hematologi klinik, leukositosis dan leukopenia didefinisikan secara operasional berdasarkan deviasi jumlah leukosit total terhadap nilai rujukan yang telah distandarkan. Pada individu dewasa sehat, kisaran normal leukosit umumnya berada pada rentang sekitar 4.000-10.000 sel/ $\mu$ L ( $4,0-10,0 \times 10^9/L$ ), meskipun variasi dapat terjadi tergantung metode pemeriksaan dan populasi referensi yang digunakan (Arpáš en Doubek, 2022). Leukositosis merujuk pada kondisi peningkatan jumlah leukosit di atas batas atas nilai normal, sedangkan leukopenia mengindikasikan penurunan jumlah leukosit di bawah batas bawah nilai tersebut. Definisi ini bersifat kuantitatif dan menjadi dasar awal dalam interpretasi hasil laboratorium (Hoffbrand en Steensma, 2020; Yu, 2024).

Namun demikian, nilai rujukan leukosit tidak bersifat absolut dan harus dipertimbangkan dalam konteks karakteristik individu. Variasi fisiologis dapat ditemukan berdasarkan usia, jenis kelamin, serta kondisi tertentu. Pada neonatus dan anak-anak, misalnya, jumlah leukosit normal cenderung lebih tinggi dibandingkan orang dewasa, terutama pada periode awal kehidupan (Parvez en Mathew, 2014; Riley en Rupert, 2015). Sebaliknya, pada usia lanjut dapat terjadi kecenderungan penurunan ringan jumlah leukosit. Selain itu, kondisi fisiologis

seperti kehamilan, aktivitas fisik intens, maupun stres akut juga dapat memengaruhi jumlah leukosit tanpa mencerminkan keadaan patologis. Oleh karena itu, interpretasi definisi leukositosis dan leukopenia harus selalu mempertimbangkan konteks populasi dan kondisi klinis yang menyertainya (Riley en Rupert, 2015).

Klasifikasi leukositosis dan leukopenia dalam pendekatan awal umumnya dilakukan secara sederhana, yaitu berdasarkan derajat perubahan jumlah leukosit dan distribusi relatif jenis sel leukosit dalam hitung diferensial. Secara kuantitatif, leukositosis dapat dikategorikan sebagai ringan, sedang, atau berat berdasarkan tingkat peningkatan nilai leukosit dari batas normal, sementara leukopenia dapat diklasifikasikan dengan pendekatan serupa berdasarkan derajat penurunannya. Pendekatan ini berguna sebagai kerangka awal dalam menentukan urgensi klinis dan kebutuhan evaluasi lanjutan (Riley en Rupert, 2015).

Selain itu, klasifikasi juga dapat didasarkan pada dominasi jenis leukosit tertentu dalam hitung jenis (*differential count*), seperti peningkatan atau penurunan proporsi neutrofil, limfosit, monosit, eosinofil, atau basofil. Pendekatan ini memberikan informasi tambahan yang lebih spesifik dibandingkan jumlah leukosit total, namun tetap berada dalam kerangka interpretasi awal dan belum mengarah pada penetapan diagnosis etiologis. Penjelasan lebih lanjut mengenai implikasi klinis dari pola distribusi ini akan dibahas pada subbab terkait interpretasi (Agnello *et al.*, 2021).

### **C. Fisiologi Leukosit dan Regulasi Hematopoiesis**

Leukosit merupakan komponen seluler utama sistem imun yang berasal dari proses hematopoiesis di sumsum tulang. Proses ini berawal dari sel punca hematopoietik (*hematopoietic stem cell*, HSC) yang bersifat pluripoten dan memiliki kemampuan *self-renewal*. Melalui diferensiasi bertahap, HSC berkembang menjadi progenitor mieloid dan limfoid, yang selanjutnya menghasilkan berbagai jenis leukosit, termasuk

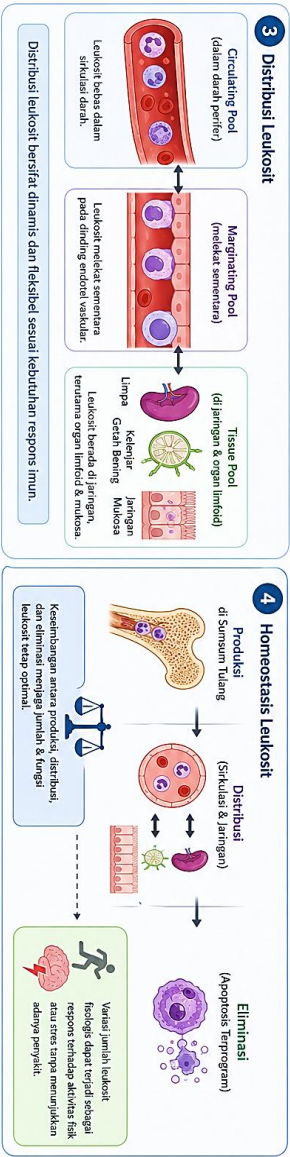
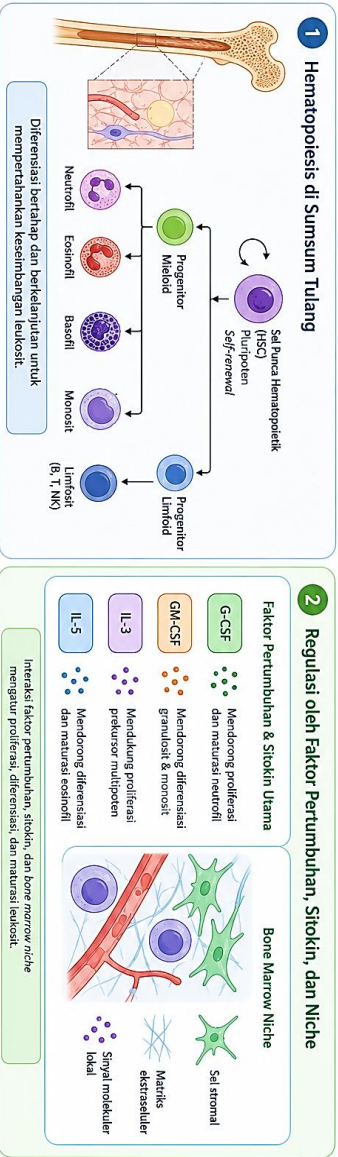
neutrofil, eosinofil, basofil, monosit, serta limfosit. Proses ini berlangsung secara terkoordinasi dan berkelanjutan untuk mempertahankan keseimbangan jumlah leukosit dalam sirkulasi, sesuai dengan kebutuhan fisiologis tubuh (Riether, Schürch en Ochsenbein, 2015; Scheiermann, Frenette en Hidalgo, 2015; Hoffbrand en Steensma, 2020).

Regulasi hematopoiesis leukosit dikendalikan oleh interaksi kompleks antara faktor pertumbuhan hematopoietik dan sitokin. Beberapa mediator utama yang berperan antara lain *granulocyte colony-stimulating factor* (G-CSF), *granulocyte-macrophage colony-stimulating factor* (GM-CSF), serta interleukin seperti IL-3 dan IL-5. Faktor-faktor ini berfungsi dalam mengatur proliferasi, diferensiasi, dan maturasi sel prekursor leukosit di sumsum tulang. Selain itu, lingkungan mikro sumsum tulang (*bone marrow niche*), yang terdiri atas sel stromal, matriks ekstraseluler, dan sinyal molekuler lokal, turut berperan penting dalam menjaga keseimbangan hematopoiesis secara fisiologis (Riether, Schürch en Ochsenbein, 2015; Scheiermann, Frenette en Hidalgo, 2015; Hoffbrand en Steensma, 2020).

Setelah mencapai maturitas, leukosit dilepaskan ke dalam sirkulasi perifer, di mana mereka menjalankan fungsi imunologisnya. Namun, distribusi leukosit tidak terbatas pada kompartemen intravaskular. Secara fisiologis, leukosit terbagi dalam beberapa *pool*, yaitu *circulating pool* (leukosit yang terdeteksi dalam darah perifer) dan *marginating pool* (leukosit yang melekat sementara pada dinding endotel vaskular). Selain itu, sejumlah besar leukosit juga berada di jaringan, terutama pada organ limfoid seperti limpa, kelenjar getah bening, dan jaringan mukosa. Dinamika distribusi ini bersifat fleksibel dan dapat berubah sesuai dengan kebutuhan respons imun tubuh (Riether, Schürch en Ochsenbein, 2015; Scheiermann, Frenette en Hidalgo, 2015).

Homeostasis leukosit dijaga melalui keseimbangan antara produksi di sumsum tulang, distribusi dalam sirkulasi dan jaringan, serta eliminasi melalui apoptosis yang terprogram. Dalam kondisi fisiologis, sistem ini bekerja secara dinamis untuk

memastikan bahwa jumlah dan fungsi leukosit tetap optimal. Variasi dalam jumlah leukosit dapat terjadi sebagai respons terhadap stimulus fisiologis, seperti aktivitas fisik atau stres, tanpa mencerminkan adanya gangguan patologis (Riether, Schürch en Ochsenbein, 2015; Scheiermann, Frenette en Hidalgo, 2015)



Gambar 13.1 Skema Hematopoiesis, Regulasi, Distribusi, dan Homeostasis Leukosit dalam Kondisi Fisiologis

#### D. Pendekatan Awal Interpretasi Hitung Leukosit

Interpretasi hasil hitung leukosit merupakan langkah fundamental dalam evaluasi laboratorium hematologi yang memerlukan pendekatan sistematis, terstruktur, dan kontekstual. Hasil pemeriksaan leukosit, yang umumnya diperoleh melalui hitung darah lengkap (*complete blood count/CBC*), tidak boleh ditafsirkan secara terpisah sebagai nilai numerik tunggal, melainkan harus dianalisis dalam kerangka integratif yang mencakup parameter hematologi lain, kondisi klinis pasien, serta aspek teknis pemeriksaan. Pendekatan awal ini bertujuan untuk mengidentifikasi pola perubahan yang bermakna sebagai dasar dalam proses penalaran klinis selanjutnya (Tefferi, Hanson en Inwards, 2005).

Langkah pertama dalam interpretasi adalah mengevaluasi jumlah leukosit total terhadap nilai rujukan yang sesuai dengan karakteristik pasien, seperti usia dan kondisi fisiologis. Penilaian ini memberikan gambaran awal apakah terdapat leukositosis, leukopenia, atau nilai dalam batas normal. Namun, interpretasi tidak berhenti pada jumlah total, karena informasi yang lebih bermakna sering kali diperoleh dari analisis hitung jenis leukosit (*differential count*), baik dalam bentuk persentase maupun nilai absolut. Perhitungan nilai absolut setiap jenis leukosit menjadi penting untuk menghindari kesalahan interpretasi akibat perubahan relatif proporsi sel (Overmann, 2017; El Brihi en Pathak, 2026).

Selanjutnya, evaluasi harus mencakup pola distribusi leukosit, dengan memperhatikan dominasi atau penurunan populasi sel tertentu, seperti neutrofil, limfosit, monosit, eosinofil, atau basofil. Pendekatan ini memungkinkan identifikasi pola respons imun yang bersifat umum tanpa langsung mengarah pada penetapan etiologi. Selain itu, korelasi dengan parameter hematologi lain, seperti hemoglobin, hematokrit, dan trombosit, dapat memberikan konteks tambahan dalam memahami apakah perubahan leukosit terjadi secara terisolasi atau merupakan bagian dari gangguan hematologis yang lebih luas (Overmann, 2017).

Aspek teknis dan faktor pra-analitik juga merupakan komponen krusial dalam interpretasi awal yang sering kali diabaikan. Variabel seperti waktu pengambilan sampel, teknik venipunktur, penggunaan antikoagulan, serta keterlambatan pemrosesan sampel dapat memengaruhi hasil hitung leukosit. Selain itu, kondisi pasien sebelum pengambilan sampel, termasuk aktivitas fisik, stres akut, atau penggunaan obat tertentu, dapat menyebabkan variasi sementara pada jumlah leukosit. Oleh karena itu, verifikasi kualitas sampel dan kesesuaian prosedur menjadi langkah penting sebelum menarik kesimpulan interpretatif (Overmann, 2017).

Dalam praktiknya, pendekatan interpretasi awal dapat dirangkum dalam suatu alur berpikir sistematis: (1) verifikasi validitas hasil dan faktor pra-analitik, (2) evaluasi jumlah leukosit total, (3) analisis hitung jenis dan nilai absolut leukosit, serta (4) integrasi dengan parameter hematologi lain dan konteks klinis umum. Pendekatan ini tidak dimaksudkan untuk menetapkan diagnosis definitif, melainkan untuk menyaring kemungkinan kondisi yang mendasari dan menentukan arah evaluasi lanjutan secara rasional (Overmann, 2017).

Dengan demikian, interpretasi hitung leukosit pada tahap awal menuntut keseimbangan antara ketelitian analitis dan pemahaman kontekstual. Penekanan pada pendekatan sistematis ini penting untuk meminimalkan kesalahan interpretasi serta menghindari *overinterpretation*, sehingga hasil laboratorium dapat dimanfaatkan secara optimal sebagai alat bantu dalam pengambilan keputusan klinis tahap awal (Overmann, 2017).

## **E. Leukositosis: Pendekatan Klinis Awal**

### **1. Definisi Operasional Leukositosis**

Leukositosis secara operasional didefinisikan sebagai peningkatan jumlah leukosit total dalam darah perifer melebihi batas atas nilai rujukan yang berlaku. Pada populasi dewasa, batas ini umumnya berada di atas  $\pm 10.000$ - $11.000$  sel/ $\mu\text{L}$  ( $10,0$ - $11,0 \times 10^9/\text{L}$ ), dengan variasi tergantung metode

analitik dan populasi referensi yang digunakan (Riley en Rupert, 2015; Hoffbrand en Steensma, 2020). Penting untuk menekankan bahwa nilai ambang ini bersifat kontekstual, sehingga interpretasi harus mempertimbangkan faktor usia, kondisi fisiologis, serta variasi laboratorium (Tefferi, Hanson en Inwards, 2005).

Pada kelompok usia tertentu, seperti neonatus dan anak-anak, nilai leukosit fisiologis dapat lebih tinggi dibandingkan dewasa, sehingga ambang leukositosis juga berbeda. Demikian pula, kondisi seperti kehamilan, terutama pada trimester akhir, dapat disertai peningkatan leukosit yang masih dalam batas fisiologis. Oleh karena itu, penggunaan nilai rujukan yang sesuai dengan karakteristik individu menjadi prinsip utama dalam mendefinisikan leukositosis secara akurat (Walker, Hartman en Pompa, 2026).

Selain pendekatan absolut, derajat leukositosis juga sering dikategorikan secara kuantitatif menjadi ringan, sedang, dan berat, berdasarkan tingkat peningkatan di atas nilai normal. Klasifikasi derajat ini memiliki nilai praktis dalam menentukan urgensi evaluasi lebih lanjut, meskipun tidak dimaksudkan untuk mengidentifikasi etiologi spesifik (Walker, Hartman en Pompa, 2026).

## 2. Mekanisme Terjadinya Leukositosis

Leukositosis dapat terjadi melalui beberapa mekanisme fisiologis umum yang mencerminkan dinamika produksi, distribusi, dan mobilisasi leukosit. Mekanisme pertama adalah peningkatan produksi leukosit di sumsum tulang (*bone marrow proliferation*), yang terjadi sebagai respons terhadap stimulus tertentu yang meningkatkan aktivitas hematopoiesis. Proses ini melibatkan percepatan proliferasi dan maturasi sel prekursor leukosit, sehingga jumlah leukosit yang dilepaskan ke sirkulasi meningkat (Mank, Azhar en Brown, 2026).

Mekanisme kedua adalah demarginalisasi leukosit, yaitu pergeseran leukosit dari *marginating pool* (yang melekat pada endotel vaskular) ke *circulating pool*. Dalam kondisi

tertentu, seperti stres fisiologis atau peningkatan katekolamin, leukosit yang sebelumnya tidak terdeteksi dalam sirkulasi dapat dengan cepat berpindah ke aliran darah, sehingga meningkatkan jumlah leukosit yang terukur tanpa peningkatan produksi yang signifikan (Fay *et al.*, 2016).

Mekanisme ketiga adalah mobilisasi leukosit dari kompartemen penyimpanan, terutama dari sumsum tulang. Sumsum tulang memiliki cadangan leukosit matang yang dapat dilepaskan secara cepat ke sirkulasi ketika diperlukan. Mekanisme ini berperan dalam respons cepat terhadap perubahan kebutuhan imunologis tubuh (Fay *et al.*, 2016).

Selain itu, terdapat pula mekanisme berupa penurunan keluarnya leukosit dari sirkulasi ke jaringan atau penurunan proses apoptosis, yang secara relatif meningkatkan jumlah leukosit dalam darah perifer (Fay *et al.*, 2016).

### 3. Klasifikasi Leukositosis Berdasarkan Jenis Sel

Klasifikasi leukositosis secara klinis awal dilakukan berdasarkan dominasi jenis leukosit tertentu dalam hitung jenis (*differential leukocyte count*). Pendekatan ini memberikan informasi yang lebih spesifik dibandingkan jumlah leukosit total dan membantu mengidentifikasi pola respons imun secara umum (Mank, Azhar en Brown, 2026).

**Neutrofilia** merupakan bentuk leukositosis yang ditandai dengan peningkatan jumlah neutrofil, baik secara relatif maupun absolut. **Limfositosis** mengacu pada peningkatan limfosit, sedangkan **eosinofilia** ditandai oleh peningkatan eosinofil. Selain itu, terdapat pula **basofilia** dan **monositosis**, masing-masing menunjukkan peningkatan basofil dan monosit. Setiap pola ini mencerminkan aktivasi jalur imun yang berbeda, meskipun dalam tahap ini belum dikaitkan dengan etiologi spesifik (Mank, Azhar en Brown, 2026).

Dalam praktik, interpretasi klasifikasi ini sebaiknya menggunakan nilai absolut, karena perubahan persentase relatif dapat menyesatkan apabila terjadi perubahan pada

populasi leukosit lain. Oleh karena itu, integrasi antara hitung jenis dan nilai absolut menjadi prinsip penting dalam pendekatan interpretatif awal (Riley en Rupert, 2015).

#### **4. Interpretasi Klinis Awal Leukositosis**

Interpretasi klinis awal leukositosis bertujuan untuk mengaitkan pola perubahan jumlah dan distribusi leukosit dengan kemungkinan kondisi klinis secara umum, tanpa menetapkan diagnosis definitif. Leukositosis sering kali mencerminkan respons tubuh terhadap stimulus yang bersifat infeksius maupun non-infeksius, termasuk inflamasi, stres fisiologis, atau kondisi lain yang memicu aktivasi sistem imun (Riley en Rupert, 2015).

Pola leukositosis tertentu dapat memberikan petunjuk awal yang bersifat non-spesifik. Sebagai contoh, dominasi neutrofil sering dikaitkan dengan respons inflamasi akut, sedangkan peningkatan limfosit dapat mencerminkan aktivasi sistem imun adaptif (Riaz en Sohn, 2023). Eosinofilia sering kali berkaitan dengan respons imun tertentu yang melibatkan reaksi hipersensitivitas atau interaksi dengan agen parasitik, meskipun interpretasi ini harus dilakukan secara hati-hati dan kontekstual (Huang en Appleton, 2016).

Selain pola seluler, derajat leukositosis juga memiliki implikasi interpretatif. Leukositosis ringan hingga sedang sering ditemukan dalam kondisi reaktif, sedangkan peningkatan yang sangat tinggi memerlukan perhatian khusus dalam evaluasi lanjutan. Namun demikian, besarnya peningkatan tidak selalu berkorelasi langsung dengan beratnya kondisi klinis, sehingga interpretasi harus tetap mempertimbangkan gambaran klinis secara keseluruhan (Riley en Rupert, 2015).

Penting untuk ditekankan bahwa interpretasi awal leukositosis bersifat sebagai langkah penyaringan (*screening*) dalam proses penalaran klinis. Hasil ini harus diintegrasikan dengan data anamnesis, pemeriksaan fisik, serta parameter laboratorium lain untuk membentuk hipotesis klinis yang rasional. Penetapan diagnosis definitif memerlukan

pendekatan yang lebih komprehensif dan akan dibahas pada bagian lain yang relevan (Walker, Hartman en Pompa, 2026).

Dengan demikian, pendekatan klinis awal terhadap leukositosis menekankan pentingnya analisis sistematis terhadap nilai kuantitatif, distribusi jenis sel, serta konteks klinis secara umum. Pendekatan ini memungkinkan pemanfaatan hasil pemeriksaan leukosit secara optimal sebagai indikator awal dalam evaluasi kondisi pasien, tanpa melampaui batas interpretasi yang seharusnya (Walker, Hartman en Pompa, 2026).

## **F. Leukopenia: Pendekatan Klinis Awal**

### **1. Definisi Operasional Leukopenia**

Leukopenia secara operasional didefinisikan sebagai penurunan jumlah leukosit total dalam darah perifer di bawah batas bawah nilai rujukan laboratorium. Pada populasi dewasa, batas ini umumnya berada di bawah  $\pm 4.000$  sel/ $\mu\text{L}$  ( $4,0 \times 10^9/\text{L}$ ), meskipun nilai *cut-off* dapat sedikit bervariasi tergantung metode analitik dan populasi referensi (Hoffbrand en Steensma, 2020; Lu *et al.*, 2021). Penetapan leukopenia harus selalu mempertimbangkan penggunaan interval rujukan yang sesuai dengan standar laboratorium serta karakteristik individu.

Variasi fisiologis perlu diperhatikan dalam interpretasi nilai leukosit yang rendah. Pada kelompok etnis tertentu, misalnya, dapat ditemukan jumlah leukosit yang secara konsisten berada pada batas bawah tanpa mencerminkan kondisi patologis (*benign ethnic neutropenia*). Selain itu, usia juga memengaruhi nilai rujukan, di mana anak-anak umumnya memiliki kisaran leukosit yang berbeda dibandingkan orang dewasa. Kondisi fisiologis seperti kehamilan atau perubahan hormonal juga dapat memodulasi jumlah leukosit, meskipun biasanya tidak menyebabkan leukopenia yang signifikan (Riether, Schürch en Ochsenbein, 2015).

Dalam praktik klinis, leukopenia juga sering dikategorikan berdasarkan derajat penurunan jumlah leukosit (ringan, sedang, berat), yang memberikan gambaran awal mengenai tingkat keparahan dan urgensi evaluasi lanjutan. Namun demikian, pendekatan ini bersifat deskriptif dan tidak dimaksudkan untuk menjelaskan penyebab yang mendasari (Riether, Schürch en Ochsenbein, 2015).

## 2. Mekanisme Terjadinya Leukopenia

Leukopenia merupakan hasil dari ketidakseimbangan antara produksi, distribusi, dan eliminasi leukosit. Secara umum, terdapat tiga mekanisme utama yang mendasari kondisi ini. **Mekanisme pertama** adalah penurunan produksi leukosit di sumsum tulang (Scheiermann, Frenette en Hidalgo, 2015). Proses ini dapat terjadi akibat gangguan pada sel punca hematopoietik atau lingkungan mikro sumsum tulang yang tidak mendukung proliferasi dan diferensiasi sel leukosit. Penurunan produksi ini menyebabkan berkurangnya suplai leukosit ke sirkulasi perifer (Riether, Schürch en Ochsenbein, 2015).

**Mekanisme kedua** adalah peningkatan destruksi atau konsumsi leukosit di perifer. Dalam kondisi tertentu, leukosit dapat mengalami penghancuran yang lebih cepat dibandingkan produksi, baik melalui proses imunologis maupun non-imunologis. Akibatnya, jumlah leukosit yang beredar dalam darah menjadi menurun (Riether, Schürch en Ochsenbein, 2015; Scheiermann, Frenette en Hidalgo, 2015).

**Mekanisme ketiga** adalah redistribusi leukosit, yaitu pergeseran leukosit dari sirkulasi ke jaringan atau ke *marginating pool*. Dalam keadaan ini, jumlah leukosit yang terukur dalam darah perifer menurun, meskipun jumlah total leukosit dalam tubuh mungkin tidak mengalami penurunan signifikan. Mekanisme redistribusi ini mencerminkan dinamika fisiologis leukosit dalam merespons perubahan kondisi internal tubuh (Riether, Schürch en Ochsenbein, 2015; Scheiermann, Frenette en Hidalgo, 2015).

Ketiga mekanisme ini tidak bersifat eksklusif dan dapat terjadi secara bersamaan. Namun, dalam konteks pembahasan ini, penekanan diberikan pada pemahaman mekanisme umum tanpa mengaitkannya dengan kondisi patologis spesifik.

### 3. Klasifikasi Leukopenia Berdasarkan Jenis Sel

Klasifikasi leukopenia secara klinis awal dilakukan berdasarkan jenis leukosit yang dominan mengalami penurunan, sebagaimana ditentukan melalui hitung jenis (*differential count*). Pendekatan ini penting karena setiap jenis leukosit memiliki peran imunologis yang berbeda, sehingga penurunan pada populasi tertentu dapat memberikan petunjuk awal terhadap pola gangguan yang terjadi (Lam *et al.*, 2019).

*Neutropenia* merupakan bentuk leukopenia yang paling sering ditemukan dan ditandai dengan penurunan jumlah neutrofil absolut (Rout, Reynolds en Zito, 2026). Secara umum, neutropenia diklasifikasikan lebih lanjut berdasarkan derajat keparahan, yang memiliki implikasi terhadap risiko infeksi. *Linfositopenia* mengacu pada penurunan jumlah limfosit, sedangkan *monocytopenia*, *eosinopenia*, dan *basopenia* menggambarkan penurunan masing-masing jenis sel tersebut, meskipun secara klinis lebih jarang menjadi fokus utama dalam evaluasi awal (Petramala *et al.*, 2024; El Brihi en Pathak, 2026).

Dalam interpretasi, penggunaan nilai absolut sangat dianjurkan dibandingkan persentase relatif, karena perubahan proporsi leukosit lain dapat memengaruhi interpretasi apabila hanya menggunakan persentase. Oleh karena itu, analisis yang akurat memerlukan integrasi antara jumlah leukosit total dan nilai absolut masing-masing subpopulasi leukosit (El Brihi en Pathak, 2026).

### 4. Interpretasi Klinis Awal Leukopenia

Interpretasi klinis awal leukopenia bertujuan untuk mengaitkan temuan laboratorium dengan kemungkinan kondisi klinis secara umum, tanpa menetapkan diagnosis

definitif. Leukopenia sering kali mencerminkan penurunan kapasitas respons imun atau redistribusi leukosit dalam tubuh. Dalam konteks klinis, kondisi ini dapat ditemukan pada berbagai situasi yang bersifat sementara maupun persisten (Tefferi, Hanson en Inwards, 2005; Lu *et al.*, 2021).

Pendekatan interpretatif dimulai dengan menilai derajat leukopenia serta jenis leukosit yang dominan menurun. Sebagai contoh, neutropenia memiliki relevansi klinis yang tinggi karena berhubungan dengan peningkatan risiko infeksi bakteri dan jamur, terutama pada derajat yang lebih berat (Lam *et al.*, 2019). Sementara itu, limfositopenia dapat mencerminkan gangguan pada sistem imun adaptif. Namun demikian, interpretasi ini harus dilakukan secara hati-hati dan tidak langsung dikaitkan dengan etiologi spesifik (Lam *et al.*, 2019).

Selain itu, penting untuk mempertimbangkan apakah leukopenia terjadi secara terisolasi atau disertai kelainan hematologis lain, seperti anemia atau trombositopenia. Temuan kombinasi ini dapat memberikan konteks tambahan dalam menilai kemungkinan keterlibatan sistem hematopoietik secara lebih luas (Lam *et al.*, 2019).

Faktor non-patologis juga perlu diperhatikan dalam interpretasi awal, termasuk pengaruh obat-obatan, kondisi fisiologis, atau variasi individu. Oleh karena itu, evaluasi leukopenia harus selalu dikaitkan dengan data klinis pasien secara menyeluruh, termasuk riwayat medis dan kondisi saat pemeriksaan dilakukan (Arpáš en Doubek, 2022).

Secara keseluruhan, interpretasi awal leukopenia merupakan proses analitis yang bertujuan untuk mengidentifikasi pola perubahan yang bermakna dan menentukan arah evaluasi lanjutan. Pendekatan ini menekankan kehati-hatian dalam menarik kesimpulan, dengan menjaga batas antara interpretasi laboratorium dan penetapan diagnosis klinis. Dengan demikian, leukopenia diposisikan sebagai temuan awal yang memerlukan integrasi

lebih lanjut dalam kerangka penalaran klinis yang komprehensif.

### **G. Faktor yang Mempengaruhi Hasil Hitung Leukosit**

Hasil hitung leukosit merupakan parameter laboratorium yang sensitif terhadap berbagai faktor non-patologis dan teknis, sehingga interpretasinya memerlukan pemahaman terhadap variabel yang dapat memengaruhi akurasi dan validitas hasil. Faktor-faktor ini secara umum dapat dikelompokkan menjadi faktor fisiologis, faktor eksternal seperti obat dan stres, serta faktor teknis yang mencakup aspek pra-analitik dan analitik (McPherson en Pincus, 2021).

Secara fisiologis, jumlah leukosit dipengaruhi oleh usia, status hormonal, dan kondisi tertentu seperti kehamilan. Neonatus dan anak-anak umumnya memiliki jumlah leukosit lebih tinggi dibandingkan dewasa, sedangkan pada usia lanjut dapat terjadi variasi yang lebih rendah. Kehamilan, terutama trimester akhir, sering disertai leukositosis fisiologis. Aktivitas fisik, ritme sirkadian, serta stres emosional atau fisik juga dapat menyebabkan fluktuasi sementara jumlah leukosit melalui mekanisme demarginalisasi (Scheiermann, Frenette en Hidalgo, 2015).

Faktor farmakologis turut berperan signifikan. Beberapa obat, seperti kortikosteroid, dapat meningkatkan jumlah leukosit melalui mobilisasi dari *marginating pool*, sedangkan agen sitotoksik atau imunosupresif dapat menurunkan jumlah leukosit melalui efek pada sumsum tulang. Variasi ini tidak selalu mencerminkan kondisi patologis primer, melainkan efek sekunder dari intervensi terapeutik (Sullivan, Schulte en Rothberg, 2025).

Dari aspek teknis, faktor pra-analitik meliputi teknik pengambilan sampel, jenis antikoagulan, waktu antara pengambilan dan analisis, serta kondisi penyimpanan spesimen. Keterlambatan pemrosesan atau hemolisis dapat memengaruhi hasil hitung leukosit (Wan Azman *et al.*, 2019). Faktor analitik mencakup variasi antar alat hematology analyzer, kalibrasi, serta

potensi interferensi dalam pengukuran otomatis (Åstrand *et al.*, 2024).

#### **H. Implikasi Klinis Awal dan Keterbatasan Interpretasi**

Hasil hitung leukosit memiliki peran penting sebagai indikator awal dalam proses penilaian klinis, terutama dalam mengidentifikasi adanya respons imun atau gangguan homeostasis tubuh (Vadillo, 2022). Leukositosis maupun leukopenia sering kali menjadi temuan pertama yang mengarahkan perhatian klinisi terhadap kemungkinan adanya proses inflamasi, infeksi, atau gangguan pada sistem hematopoietik (Filep, 2021; Wu *et al.*, 2025). Dalam konteks ini, nilai leukosit berfungsi sebagai *screening parameter* yang membantu menyusun hipotesis awal dan menentukan kebutuhan pemeriksaan lanjutan yang lebih spesifik. Integrasi dengan parameter hematologi lain, seperti hemoglobin dan trombosit, serta korelasi dengan kondisi klinis pasien, akan meningkatkan nilai informatif dari temuan ini (Hoffbrand en Steensma, 2020).

Namun demikian, interpretasi hasil leukosit memiliki keterbatasan yang signifikan dan harus dipahami secara kritis. Perubahan jumlah leukosit bersifat non-spesifik dan dapat terjadi pada berbagai kondisi yang sangat beragam, baik fisiologis maupun non-patologis (Mank, Azhar en Brown, 2026). Selain itu, hasil pemeriksaan sangat dipengaruhi oleh faktor pra-analitik, analitik, serta variabilitas biologis individu, sebagaimana telah dibahas pada subbab sebelumnya. Oleh karena itu, nilai leukosit yang abnormal tidak secara langsung mengarah pada diagnosis tertentu tanpa dukungan data klinis dan pemeriksaan tambahan (Riley en Rupert, 2015).

Keterbatasan lain yang penting adalah potensi terjadinya *overinterpretation*, terutama ketika hasil leukosit dinilai secara terisolasi tanpa mempertimbangkan konteks klinis secara menyeluruh. Nilai leukosit tunggal juga tidak mencerminkan dinamika perubahan dari waktu ke waktu, sehingga evaluasi serial sering kali lebih bermakna dibandingkan satu kali

pemeriksaan. Selain itu, distribusi relatif leukosit dapat menyesatkan apabila tidak disertai analisis nilai absolut (Cooper en Young, 2017). Dengan demikian, hasil hitung leukosit harus diposisikan sebagai bagian dari pendekatan diagnostik yang komprehensif, bukan sebagai penentu tunggal.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agnello, L., Giglio, R.V., Bivona, G., Scazzone, C., Gambino, C.M., Iacona, A., Ciaccio, A.M., Lo Sasso, B. en Ciaccio, M. (2021) "The Value of a Complete Blood Count (CBC) for Sepsis Diagnosis and Prognosis", *Diagnostics*, 11(10).
- Arpáš, T. en Doubek, M. (2022) "Differential diagnosis of leukocytosis and leukopenia.", *Vnitřní lékařství*, 68(E-7), bll 28-35.
- Åstrand, A., Wingren, C., Walton, C., Mattsson, J., Agrawal, K., Lindqvist, M., Odqvist, L., Burmeister, B., Eck, S., Hughes, G., Luporini Saraiva, G., Schantz, A., Psallidas, I. en McCrae, C. (2024) "A comparative study of blood cell count in four automated hematology analyzers: An evaluation of the impact of preanalytical factors.", *PloS one*, 19(5), bl e0301845.
- Cooper, J.N. en Young, N.S. (2017) "Clonality in context: hematopoietic clones in their marrow environment.", *Blood*, 130(22), bll 2363-2372. Available at: <https://doi.org/10.1182/blood-2017-07-794362>.
- El Brihi, J. en Pathak, S. (2026) "Normal and Abnormal Complete Blood Count With Differential", in *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing.
- Fay, M.E., Myers, D.R., Kumar, A., Turbyfield, C.T., Byler, R., Crawford, K., Mannino, R.G., Laohapant, A., Tyburski, E.A., Sakurai, Y., Rosenbluth, M.J., Switz, N.A., Sulchek, T.A., Graham, M.D. en Lam, W.A. (2016) "Cellular softening mediates leukocyte demargination and trafficking, thereby increasing clinical blood counts.", *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 113(8), bll 1987-1992.
- Filep, J.G. (2021) "Leukocytes in Inflammation, Resolution of Inflammation, Autoimmune Diseases and Cancer", *Cells*, 10(7). Available at: <https://doi.org/10.3390/cells10071735>.

- He, Y., Liu, Q., Wei, L., Sun, Z., Li, W., Geng, F., Lu, Z. en Zhang, H. (2023) "The Value of Peripheral Blood Leukocyte Parameters in the Early Diagnosis and Clinical Prognosis of Sepsis", *International Journal of Analytical Chemistry*, 2023(1), bl 6052085.
- Hoffbrand, A.V. en Steensma, D.P. (2020) *Hoffbrand's Essential Haematology*. 8th ed. Hoboken: John Wiley & Sons Ltd.
- Huang, L. en Appleton, J.A. (2016) "Eosinophils in Helminth Infection: Defenders and Dupes.", *Trends in parasitology*, 32(10), bll 798-807. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.pt.2016.05.004>.
- Lam, L., Mumford, J., Keber, B. en Flanagan, B. (2019) "Hematologic Conditions: Leukopenia.", *FP essentials*, 485, bll 11-16.
- Lu, W., Zhong, Y., Zhang, Y., Liu, Z. en Xue, L. (2021) "The Clinical Characteristics of Leukopenia in Patients with Systemic Lupus Erythematosus of Han Ethnicity in China: A Cross-Sectional Study", *Rheumatology and Therapy*, 8(3), bll 1177-1188.
- Mank, V., Azhar, W. en Brown, K. (2026) "Leukocytosis", in *StatPearls*. Updated 20. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK560882/>.
- McPherson, R.A. en Pincus, M.R. (2021) *Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*. 24th ed. Elsevier. Available at: <https://www.elsevier.com>.
- Overmann, J. (2017) "Leukocytes", in *Interpretation of Equine Laboratory Diagnostics*, bll 119 - 125. Available at: [https://doi.org/10.1002/9781118922798\\_17](https://doi.org/10.1002/9781118922798_17).
- Parvez, Y. en Mathew, A.G. (2014) "Hyperleukocytosis in newborn: a diagnosis of concern.", *Indian journal of hematology & blood transfusion : an official journal of Indian Society of Hematology and Blood Transfusion*, 30(Suppl 1), bll 131-132.

- Petramala, L., Milito, C., Sarlo, F., Servello, A., Circosta, F., Marino, L., Sardella, G., Trapani, P., D'aguanno, G., Cimo', A., Galardo, G. en Letizia, C. (2024) "Clinical impact of transient lymphopenia.", *Clinical and experimental medicine*, 24(1), bl 77. Available at: <https://doi.org/10.1007/s10238-024-01340-0>.
- Riaz, B. en Sohn, S. (2023) "Neutrophils in Inflammatory Diseases: Unraveling the Impact of Their Derived Molecules and Heterogeneity.", *Cells*, 12(22). Available at: <https://doi.org/10.3390/cells12222621>.
- Riether, C., Schürch, C.M. en Ochsenbein, A.F. (2015) "Regulation of hematopoietic and leukemic stem cells by the immune system.", *Cell death and differentiation*, 22(2), bll 187–198.
- Riley, L.K. en Rupert, J. (2015) "Evaluation of Patients with Leukocytosis", *American family physician*, 92(11), bll 1004–1011.
- Rout, P., Reynolds, S.B. en Zito, P.M. (2026) "Neutropenia", in *StatPearls*. Updated 20. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK507702/>.
- Scheiermann, C., Frenette, P.S. en Hidalgo, A. (2015) "Regulation of leucocyte homeostasis in the circulation.", *Cardiovascular research*, 107(3), bll 340–351.
- Seisoma, D. (2024) "Exploring White Blood Cells: Their Fundamental Roles and Mechanisms over the Immune System", *Journal Of Blood Disorders and Tranfusion*, 15(1000591), bll 1–2.
- Sullivan, E., Schulte, R. en Rothberg, M.B. (2025) "Elevation in white blood cell count after corticosteroid use in noninfected hospitalized patients.", *Journal of hospital medicine*, 20(8), bll 824–828. Available at: <https://doi.org/10.1002/jhm.70008>.
- Tefferi, A., Hanson, C.A. en Inwards, D.J. (2005) "How to interpret and pursue an abnormal complete blood cell count in adults.", *Mayo Clinic proceedings*, 80(7), bll 923–936.

- Vadillo, E. (2022) "Chapter 11 - Leukocyte movement during immune responses", in M. Schnoor, L.-M. Yin, en S.X. Sun (reds) *Cell Movement in Health and Disease*. Academic Press, bll 177-191. Available at: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-323-90195-6.00003-6>.
- Walker, C.W., Hartman, T. en Pompa, M. (2026) "The evaluation of leukocytosis", *JAAPA*, 39(1). Available at: [https://journals.lww.com/jaapa/fulltext/2026/01000/the\\_evaluation\\_of\\_leukocytosis.5.aspx](https://journals.lww.com/jaapa/fulltext/2026/01000/the_evaluation_of_leukocytosis.5.aspx).
- Wan Azman, W.N., Omar, J., Koon, T.S. en Tuan Ismail, T.S. (2019) "Hemolyzed Specimens: Major Challenge for Identifying and Rejecting Specimens in Clinical Laboratories.", *Oman medical journal*, 34(2), bll 94-98. Available at: <https://doi.org/10.5001/omj.2019.19>.
- Wu, Y., Serna, R., Gan, W. en Fan, Z. (2025) "Different patterns of leukocyte immune responses to infection of ancestral SARS-CoV-2 and its variants", *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, Volume 15. Available at: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2025.1508120>.
- Yu, B. (2024) "Guardians of health: a deep dive into white blood cells and their crucial role in immunity", *Annals of Clinical Trials and Vaccines Research*, 14(1), bll 188-190

# BAB 14

## TROMBOSITOPENIA DAN TROMBOSITOSIS: MEKANISME DAN IMPLIKASI KLINIS

Dr. dr. Ika Kurnia Febrianti, SpPD

### A. Pendahuluan

Komponen darah terdiri dari beberapa bagian yang memiliki fungsi dan tugas berbeda. Salah satu komponen darah yang berfungsi vital dalam mekanisme pertahanan tubuh terhadap perdarahan adalah trombosit. Trombosit atau platelet merupakan fragmen sel kecil tanpa inti yang berasal dari pemecahan megakariosit di sumsum tulang. Fungsi biologis trombosit sangat kompleks, terutama dalam proses hemostasis primer, yaitu mekanisme awal penghentian perdarahan setelah terjadinya cedera pada pembuluh darah. Ketika terjadi kerusakan vaskular, trombosit akan mengalami adhesi, aktivasi, dan agregasi untuk membentuk sumbatan trombosit sementara sehingga perdarahan dapat dikendalikan. Selain itu, trombosit juga berperan dalam proses inflamasi, regenerasi jaringan, angiogenesis, dan respons imun tubuh (Jinna, 2023).

Dalam praktik klinis modern, evaluasi terhadap gangguan trombosit menjadi aspek penting dalam proses diagnosis dan penatalaksanaan berbagai penyakit. Pemeriksaan laboratorium seperti hitung trombosit, apusan darah tepi, pemeriksaan fungsi trombosit, aspirasi sumsum tulang, hingga pemeriksaan biomolekuler digunakan untuk membantu menentukan penyebab gangguan trombosit secara lebih akurat. Perkembangan teknologi diagnostik dan terapi hematologi juga memberikan kontribusi besar terhadap peningkatan prognosis pasien dengan gangguan trombosit (Mititelu et al., 2024).

## B. Fisiologi Trombosit

Trombosit berasal dari sel-sel megakariosit, merupakan sel yang sangat besar dan kompleks, dengan diameter yang bisa mencapai 100 mikrometer. Sel-sel ini menghasilkan trombosit dengan cara melepaskan fragmen kecil dari sitoplasma ke dalam aliran darah. Proses ini dikendalikan oleh berbagai faktor pertumbuhan dan hormon, termasuk trombopoietin, yang merangsang produksi dan pematangan megakariosit (Kaur et al., 2025).

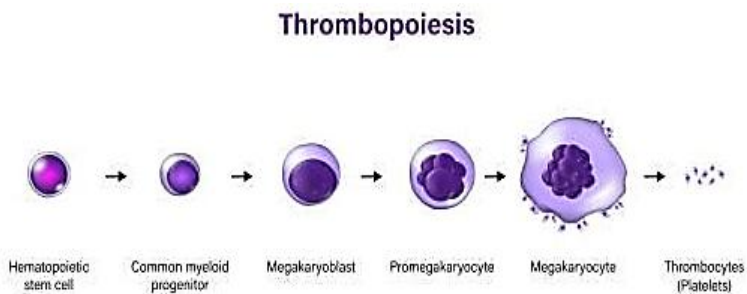
Setelah diproduksi, trombosit beredar dalam aliran darah selama 7 hingga 10 hari, kemudian dihancurkan oleh sistem retikuloendotelial, terutama di limpa dan hati. Dalam keadaan normal, jumlah trombosit di dalam darah berkisar antara 150.000-450.000 per mikroliter. Selain berfungsi dalam pembekuan darah, trombosit juga berkontribusi dalam proses inflamasi, penyembuhan luka, angiogenesis, serta respons imun tubuh. Jumlah trombosit dalam darah harus dipertahankan dalam keseimbangan fisiologis agar fungsi hemostasis berjalan optimal tanpa meningkatkan risiko perdarahan maupun trombosis (Kaur et al., 2025).

Proses trombopoiesis berlangsung secara teratur dan dipengaruhi oleh berbagai faktor pertumbuhan hematopoietik. Faktor utama yang mengendalikan pembentukan trombosit adalah trombopoietin (TPO), suatu hormon glikoprotein yang diproduksi terutama oleh hati, serta dalam jumlah lebih kecil oleh ginjal dan stroma sumsum tulang. Trombopoietin berikatan dengan reseptor trombopoietin (c-Mpl) yang terdapat pada permukaan megakariosit dan sel progenitor hematopoietik sehingga merangsang proliferasi, diferensiasi, dan maturasi megakariosit. Aktivasi reseptor c-Mpl akan memicu jalur pensinyalan intraseluler seperti JAK-STAT, MAPK, dan PI3K-AKT yang berperan dalam pertumbuhan serta kelangsungan hidup megakariosit (AJMC, 2026).

Regulasi kadar trombopoietin dalam tubuh terjadi melalui mekanisme umpan balik fisiologis. Pada keadaan normal, trombopoietin yang beredar dalam plasma akan diikat oleh

reseptor c-Mpl pada trombosit dan megakariosit, kemudian dihancurkan bersama trombosit tersebut. Jika jumlah trombosit dalam darah menurun, maka jumlah reseptor c-Mpl yang tersedia juga menurun sehingga kadar trombopoietin bebas meningkat. Kondisi ini akan merangsang sumsum tulang untuk meningkatkan produksi trombosit. Sebaliknya, jika jumlah trombosit meningkat, lebih banyak trombopoietin akan terikat dan dieliminasi sehingga produksi trombosit ditekan. Mekanisme ini memungkinkan tubuh menjaga jumlah trombosit tetap stabil dalam rentang fisiologis (AJMC, 2026).

Proses trombopoiesis berlangsung di sumsum tulang melalui diferensiasi sel punca hematopoietik menjadi megakariosit matur. Megakariosit kemudian mengalami fragmentasi sitoplasma untuk menghasilkan ribuan trombosit yang dilepaskan ke sirkulasi darah (Gambar 14.1). Trombopoietin merupakan hormon yang berperan dalam pengaturan diferensiasi dan proliferasi megakariosit. Trombopoietin mempengaruhi pertumbuhan megakariosit mulai dari sel induk sampai produksi trombosit. Walaupun demikian beberapa sitokin-sitokin lain (interleukin 1, interleukin 6, interleukin 11) juga berperan dalam proses ini, yang kemungkinan bekerja sinergi dengan trombopoietin (AJMC, 2026; Kaushansky et al., 2022).



**Gambar 14.1** Proses Pembentukan Trombosit  
(Kaushansky et al., 2022)

Dalam keadaan fisiologis, keseimbangan antara produksi dan destruksi trombosit sangat penting untuk mempertahankan jumlah trombosit normal. Jika jumlah

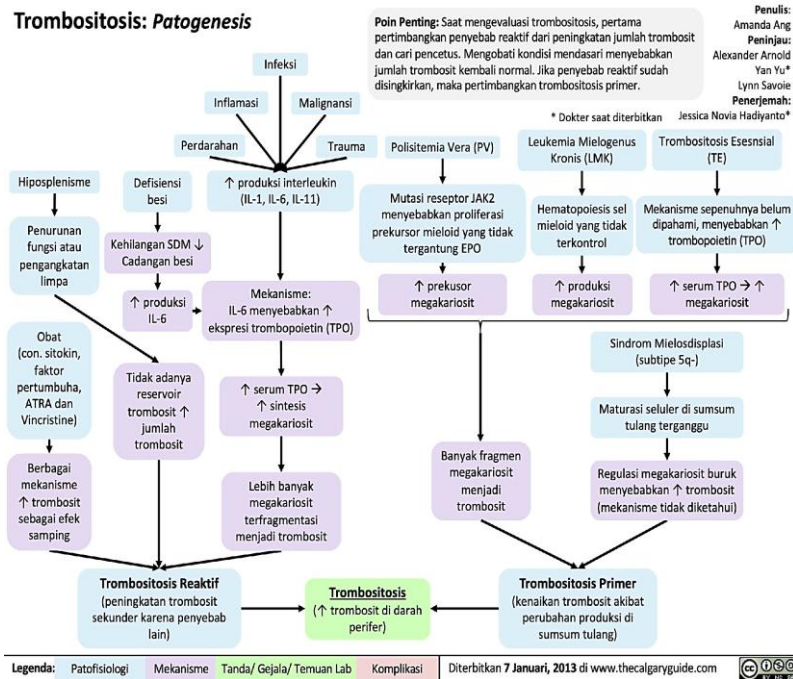
trombosit menurun, kadar TPO bebas dalam plasma akan meningkat sehingga merangsang sumsum tulang menghasilkan lebih banyak megakariosit dan trombosit baru. Sebaliknya, jika jumlah trombosit meningkat, lebih banyak TPO akan terikat oleh trombosit sehingga kadar TPO bebas menurun dan produksi trombosit ditekan. Mekanisme umpan balik ini memungkinkan tubuh menjaga homeostasis trombosit secara dinamis sesuai kebutuhan fisiologis (Kaushansky et al., 2022)

Keseimbangan jumlah trombosit dapat mempengaruhi produksi trombosit pada berbagai kondisi patologis. Ketidakseimbangan jumlah trombosit secara umum terbagi menjadi dua kondisi utama, yaitu trombositosis dan trombositopenia. (Mititelu et al., 2024).

### **C. Trombositosis**

Trombositosis adalah peningkatan jumlah trombosit  $>450.000/\mu\text{L}$ , dapat bersifat primer atau sekunder. Gambaran trombositosis ini dapat di lihat pada **Gambar 14.2** (Kaur et al., 2025).

## Trombositosis: *Patogenesis*



**Gambar 14.2** Patogenesis Trombositosis  
 (The Calgary Guide to Understanding Disease, 2026)

Klasifikasi trombositosis ada 2:

### 1. Trombositosis Primer (Esensial)

Pada trombositosis primer, mutasi genetik seperti JAK2, CALR, dan MPL menyebabkan aktivasi jalur proliferasi sel hematopoietik sehingga terjadi produksi trombosit yang berlebihan

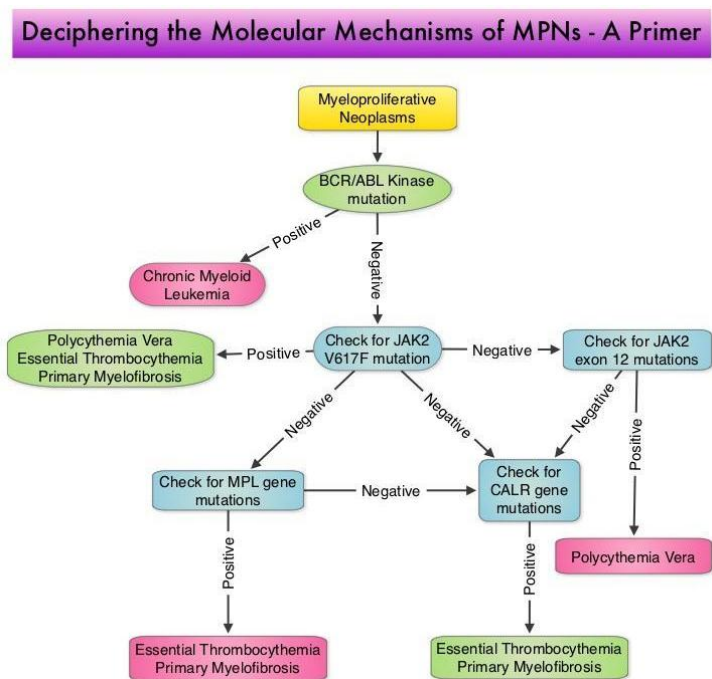
Penyakit yang termasuk trombositosis primer adalah:

- Trombositemia esensial
- Polisitemia vera
- Mielofibrosis primer

Pada kelainan mieloproliferatif terdapat gangguan pengikatan trombopoietin terhadap trombosit dan megakariosit abnormal sehingga terdapat peningkatan kadar trombopoietin bebas di plasma. Hal ini dibuktikan dengan menurunnya ekspresi reseptor trombopoietin (c-MPL) pada penderita trombositosis esensial. Berkurangnya reseptor

trombopoetin diduga diakibatkan oleh mutasi regio V617F tirosin pseudokinase dari gen JAK2. Walaupun reseptor trombopoetin berkurang (c-MPL) berkurang, tetapi megakariosit menjadi hipersensitif terhadap aksi trombopoetin yang akhirnya menyebabkan peningkatan. Mutasi JAK2 V617F ditemukan pada sebagian besar pasien *essential thrombocythemia*. Mutasi ini menyebabkan aktivasi jalur JAK-STAT secara konstitutif tanpa stimulasi trombopoietin (Almanaseer et al., 2024).

Mutasi CALR menyebabkan aktivasi abnormal reseptor MPL sehingga produksi trombosit meningkat. Pasien dengan mutasi CALR umumnya memiliki trombositosis berat tetapi risiko trombosis lebih rendah dibanding mutasi JAK2 (McMullin et al., 2019).



**Gambar 14.3** Mekanisme Molekuler MPL  
pada Trombositosis  
(Arber et al., 2022)

Mutasi *Myeloproliferative Leukemia* (MPL) menyebabkan reseptor trombopoietin aktif terus-menerus walaupun tanpa adanya trombopoietin, dapat dilihat pada **Gambar 14.3**. Akibatnya, proliferasi megakariosit berlangsung secara otonom. Proliferasi megakariosit yang berlebihan di sumsum tulang pada pasien *essential thrombocythemia* (ET), salah satu neoplasma mieloproliferatif kronis. Megakariosit tampak berukuran besar, hiperlobulasi, dan jumlahnya meningkat dibandingkan keadaan normal. Proliferasi abnormal ini terjadi akibat mutasi genetik seperti JAK2, CALR, atau MPL yang menyebabkan aktivasi jalur proliferasi sel secara terus-menerus. Akibatnya, produksi trombosit meningkat secara tidak terkendali sehingga menimbulkan trombositosis persisten dan meningkatkan risiko trombosis maupun perdarahan (Arber et al., 2022; Tefferi and Barbui, 2020).

## 2. Trombositosis Sekunder (Reaktif)

Pada trombositosis sekunder, peningkatan trombosit dipicu oleh sitokin proinflamasi seperti IL-6 yang meningkatkan produksi trombopoietin. Bisa disebabkan oleh respon terhadap inflamasi atau penyakit lain. Penyebab tersering meliputi: infeksi, inflamasi kronis, anemia defisiensi besi, trauma, perdarahan, pascaoperasi, keganasan, splenektomi. (Tefferi et al., 2025).

Inflamasi menyebabkan peningkatan produksi sitokin proinflamasi seperti interleukin-6 (IL-6), interleukin-1 (IL-1), dan tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ). IL-6 memiliki peran utama dalam meningkatkan produksi trombopoietin oleh hepatosit. Sitokin tersebut merangsang hati meningkatkan produksi trombopoietin (TPO), yang kemudian mengaktivasi megakariosit di sumsum tulang sehingga trombopoiesis meningkat. Akibatnya, jumlah trombosit dalam sirkulasi darah meningkat dan menyebabkan trombositosis reaktif. Mekanisme ini merupakan bentuk respons fisiologis tubuh terhadap proses inflamasi dan kerusakan jaringan (Kaur et al., 2025).

Pada infeksi kronis seperti tuberkulosis dan penyakit autoimun seperti rheumatoid arthritis, produksi sitokin berlangsung terus-menerus sehingga trombositosis dapat menetap dalam jangka panjang. Trombositosis reaktif juga ditemukan pada pasien kanker akibat pelepasan mediator inflamasi oleh sel tumor (Kaushansky et al., 2022)

Trombositosis pada anemia defisiensi besi terjadi melalui perubahan diferensiasi progenitor hematopoietik. Jalur eritropoiesis yang terganggu menyebabkan peningkatan diferensiasi menuju jalur megakariositik. Mekanisme lain adalah peningkatan sensitivitas megakariosit terhadap trombopoietin. Sel darah merah pada anemia defisiensi besi yang umumnya tampak mikrositik dan hipokromik akibat berkurangnya kadar hemoglobin. Pada kondisi defisiensi besi, gangguan eritropoiesis dapat disertai peningkatan produksi trombosit melalui perubahan diferensiasi progenitor hematopoietik menuju jalur megakariositik. Selain itu, megakariosit menjadi lebih sensitif terhadap stimulasi trombopoietin sehingga terjadi peningkatan trombopoiesis. Mekanisme ini menjelaskan mengapa sebagian pasien anemia defisiensi besi mengalami trombositosis reaktif (Carobbio et al., 2011; Kaushansky, 2022).

### **Manifestasi Klinis Trombositosis**

Manifestasi klinis trombositosis sangat bervariasi, mulai dari tanpa gejala hingga menimbulkan komplikasi trombosis dan perdarahan yang serius. Gejala dipengaruhi oleh penyebab trombositosis, jumlah trombosit, usia pasien, serta adanya gangguan fungsi trombosit. Pada trombositosis reaktif, gejala biasanya berkaitan dengan penyakit dasar, sedangkan pada trombositosis primer gejala lebih sering disebabkan oleh gangguan mikrosirkulasi dan hiperkoagulabilitas (Tefferi and Barbui, 2020).

**a. Asimtomatik**

Sebagian besar pasien trombositosis, terutama trombositosis ringan atau reaktif, tidak menunjukkan gejala dan hanya ditemukan secara tidak sengaja melalui pemeriksaan darah rutin. Kondisi ini sering ditemukan pada pasien dengan infeksi, inflamasi kronis, atau anemia defisiensi besi (Carobbio et al., 2011).

**b. Gangguan Mikrosirkulasi**

Peningkatan jumlah trombosit dapat menyebabkan gangguan aliran darah mikrovaskular akibat agregasi trombosit yang berlebihan. Gejala yang sering ditemukan meliputi:

- 1) sakit kepala,
- 2) pusing,
- 3) vertigo,
- 4) gangguan penglihatan,
- 5) parestesia,
- 6) nyeri atau rasa terbakar pada ekstremitas (eritromelalgia).

Eritromelalgia merupakan gejala khas yang ditandai nyeri terbakar, kemerahan, dan rasa panas pada tangan atau kaki akibat gangguan mikrosirkulasi trombosit (Harrison et al., 2005).

**c. Trombotik**

Trombositosis meningkatkan risiko pembentukan trombus pada pembuluh darah arteri maupun vena (Carobbio et al., 2011).

- 1) Trombosis Arteri  
Manifestasi trombosis arteri meliputi:
  - a) stroke iskemik,
  - b) transient ischemic attack (TIA),
  - c) infark miokard,
  - d) iskemia perifer.

Pasien dapat mengalami kelemahan anggota gerak, gangguan bicara, nyeri dada, atau penurunan kesadaran akibat gangguan aliran darah arteri (Tefferi and Barbui, 2020).

## 2) Trombosis Vena

Manifestasi trombosis vena meliputi:

- a) deep vein thrombosis (DVT),
- b) emboli paru,
- c) trombosis vena porta,
- d) trombosis vena hepatis.

Gejala yang muncul dapat berupa:

- a) bengkak dan nyeri tungkai,
- b) sesak napas,
- c) nyeri dada,
- d) sianosis.

## d. Perdarahan

Meskipun jumlah trombosit meningkat, pada trombositosis ekstrem fungsi trombosit dapat abnormal sehingga menyebabkan perdarahan.

Gejala perdarahan meliputi:

- 1) epistaksis,
- 2) perdarahan gusi,
- 3) hematemesis,
- 4) melena,
- 5) mudah memar,
- 6) perdarahan pascaoperasi.

Perdarahan pada trombositosis berat sering berkaitan dengan acquired von Willebrand syndrome akibat penurunan faktor von Willebrand fungsional (McMullin et al., 2019).

### **Sistemik**

Pada trombositosis primer atau neoplasma mieloproliferatif dapat ditemukan gejala sistemik seperti:

- 1) kelelahan,
- 2) penurunan berat badan,
- 3) demam ringan,
- 4) keringat malam.

Gejala ini berkaitan dengan proses proliferasi sel mieloid kronis dan pelepasan sitokin inflamasi (Almanaseer et al., 2024).

#### **e. Splenomegali**

Sebagian pasien, terutama dengan trombositosis primer, mengalami pembesaran limpa (splenomegali) akibat peningkatan aktivitas hematopoiesis ekstrasmedular.

Gejala splenomegali:

- 1) rasa penuh pada perut kiri atas,
- 2) cepat kenyang,
- 3) nyeri abdomen.

#### **f. Pemeriksaan Laboratorium**

Manifestasi laboratorium trombositosis meliputi:

- 1) jumlah trombosit  $>450.000/\mu\text{L}$ ,
- 2) trombosit besar pada apusan darah tepi,
- 3) peningkatan megakariosit pada biopsi sumsum tulang,
- 4) mutasi JAK2, CALR, atau MPL pada trombositosis primer.

Pada trombositosis ekstrem ( $>1.000.000/\mu\text{L}$ ), trombosit dapat mengalami gangguan fungsi sehingga terjadi perdarahan paradoksal. Kondisi ini berkaitan dengan acquired von Willebrand syndrome akibat adsorpsi faktor von Willebrand oleh trombosit dalam jumlah besar.

#### **g. Gangguan Mikrosirkulasi**

Trombositosis juga dapat menyebabkan gangguan mikrosirkulasi seperti:

- 1) eritromelalgia
- 2) sakit kepala
- 3) gangguan penglihatan
- 4) parestesia

#### **Pemeriksaan Penunjang**

- 1) Pemeriksaan Laboratorium, meliputi:
  - a) hitung darah lengkap,
  - b) apusan darah tepi,
  - c) kadar ferritin,
  - d) CRP dan LED,
  - e) pemeriksaan mutasi JAK2, CALR, MPL (Arber et al., 2022).
- 2) Biopsi Sumsum Tulang  
Biopsi sumsum tulang diperlukan terutama untuk diagnosis trombositosis primer.

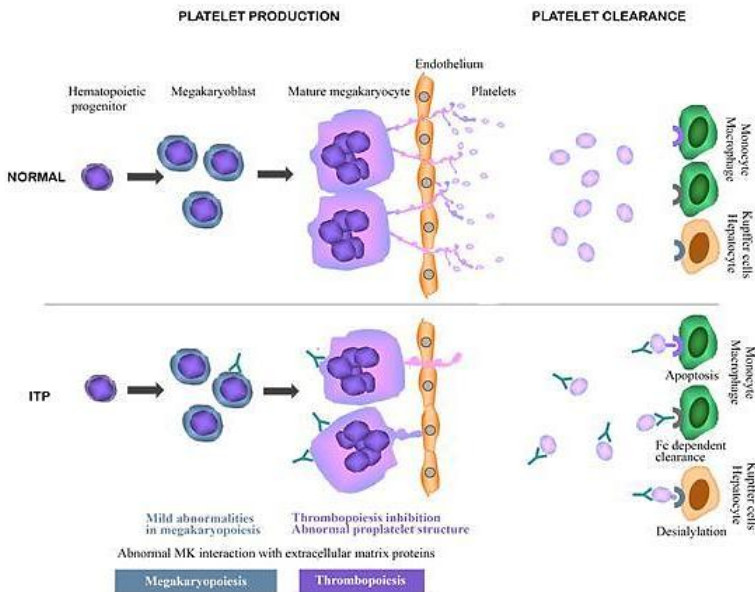
#### **Penatalaksanaan** (Harrison et al., 2005)

- 1) Terapi Trombositosis Reaktif
  - a) antibiotik untuk infeksi,
  - b) terapi antiinflamasi,
  - c) suplementasi besi,
  - d) penanganan keganasan.
- 2) Terapi Trombositosis Primer
  - a) aspirin dosis rendah,
  - b) hidroksiurea,
  - c) interferon alfa,
  - d) anagrelide
  - e) terapi sitoreduktif untuk pasien risiko tinggi, diperlukan untuk mencegah komplikasi trombotik.

#### **D. Trombositopenia**

Trombositopenia didefinisikan sebagai keadaan ketika jumlah trombosit dalam darah perifer berada di bawah 150.000/ $\mu$ L. Mekanisme terjadinya trombositopenia dapat

dilihat pada **Gambar 14.4**. Berdasarkan derajat keparahannya, trombositopenia dapat diklasifikasikan menjadi trombositopenia ringan ( $100.000\text{--}150.000/\mu\text{L}$ ), sedang ( $50.000\text{--}99.000/\mu\text{L}$ ), dan berat ( $<50.000/\mu\text{L}$ ). Risiko terjadinya perdarahan spontan meningkat secara signifikan apabila jumlah trombosit kurang dari  $20.000/\mu\text{L}$  (McCrae, 2022).



**Gambar 14.4** Mekanisme Terjadinya Trombositopenia (McCrae, 2022)

Secara etiologis, trombositopenia dapat dibagi menjadi empat kelompok utama, yaitu: (Kuter, 2021)

1. Penurunan produksi trombosit di sumsum tulang.
2. Peningkatan destruksi trombosit.
3. Konsumsi trombosit berlebihan.
4. Sekuestrasi trombosit di limpa.

### Mekanisme Patofisiologi Trombositopenia

#### 1. Penurunan Produksi Trombosit

Penurunan produksi trombosit terjadi akibat gangguan pembentukan trombosit di sumsum tulang. Kondisi ini umumnya disebabkan oleh kerusakan

megakariosit atau supresi hematopoiesis. Pada anemia aplastik, misalnya, terjadi kegagalan sumsum tulang menghasilkan sel darah termasuk trombosit akibat kerusakan stem cell hematopoetik. Selain itu, infiltrasi sumsum tulang oleh sel leukemia atau metastasis tumor juga dapat menghambat pembentukan megakariosit (Kuter, 2021).

Infeksi virus seperti dengue, HIV, hepatitis C, dan Epstein-Barr virus dapat menekan aktivitas sumsum tulang secara langsung. Defisiensi vitamin B12 dan asam folat juga menyebabkan gangguan maturasi sel hematopoietik sehingga produksi trombosit menurun. Selain itu, kemoterapi dan radioterapi dapat merusak sel progenitor hematopoetik yang aktif membelah sehingga menyebabkan trombositopenia pasca terapi kanker (McCrae, 2022).

## **2. Peningkatan Destruksi Trombosit**

Peningkatan destruksi trombosit dapat terjadi melalui mekanisme imunologis maupun non-imunologis.

### **a. Destruksi Imunologis**

Pada trombositopenia imun, tubuh membentuk autoantibodi terhadap antigen permukaan trombosit. Antibodi tersebut umumnya berupa imunoglobulin G (IgG) yang berikatan dengan trombosit sehingga trombosit dikenali dan dihancurkan oleh makrofag limpa. Proses ini menyebabkan umur trombosit memendek drastis dari normalnya 7-10 hari menjadi hanya beberapa jam (Neunert et al., 2023).

*Immune thrombocytopenic purpura* (ITP) merupakan contoh utama trombositopenia imun. Selain ITP, kondisi autoimun seperti *systemic lupus erythematosus* (SLE) juga dapat menyebabkan destruksi trombosit imunologis.

### **b. Konsumsi Trombosit Berlebihan**

Pada kondisi tertentu, trombosit digunakan secara masif dalam pembentukan trombus intravaskular sehingga jumlah trombosit perifer menurun. *Disseminated intravascular coagulation* (DIC) merupakan contoh klasik keadaan ini. Aktivasi sistem koagulasi secara sistemik

menyebabkan pembentukan mikrotrombus luas yang mengonsumsi trombosit dan faktor koagulasi secara berlebihan (Levi & Scully, 2022).

*Thrombotic thrombocytopenic purpura* (TTP) dan *hemolytic uremic syndrome* (HUS) juga menyebabkan trombositopenia akibat pembentukan trombus mikrovaskular.

c. Sekuestrasi Trombosit di Limpa

Limpa normal menyimpan sekitar 30% trombosit tubuh. Pada keadaan splenomegali, jumlah trombosit yang terperangkap di limpa meningkat hingga lebih dari 80%. Akibatnya, jumlah trombosit yang beredar dalam sirkulasi perifer menurun (Hoffbrand et al., 2023).

Splenomegali umumnya ditemukan pada sirosis hepatis dengan hipertensi portal, penyakit hati kronis, serta beberapa penyakit hematologi.

### **Manifestasi Klinis Trombositopenia**

Manifestasi klinis trombositopenia sangat bergantung pada jumlah trombosit dan penyebab dasarnya. Pada trombositopenia ringan, pasien sering kali tidak menunjukkan gejala. Namun, ketika jumlah trombosit menurun di bawah 50.000/ $\mu$ L, manifestasi perdarahan mulai tampak jelas.

Gejala khas trombositopenia adalah perdarahan mukokutan seperti petekie, purpura, epistaksis, dan perdarahan gusi. Petekie merupakan bintik merah kecil akibat perdarahan kapiler yang tidak menghilang saat ditekan. Purpura dan ekimosis juga sering ditemukan akibat ekstrasvasasi darah ke jaringan subkutan (McCrae, 2022).

Pada wanita, trombositopenia dapat menyebabkan menoragia atau perdarahan menstruasi berlebihan. Bila trombositopenia semakin berat, dapat terjadi hematuria, melena, hematemesis, dan perdarahan retina. Komplikasi paling serius adalah perdarahan intrakranial yang memiliki mortalitas tinggi.

Selain manifestasi perdarahan, beberapa pasien dapat menunjukkan tanda penyakit dasar seperti splenomegali, demam, limfadenopati, atau hepatomegali.

## **Diagnosis Trombositopenia**

Diagnosis trombositopenia ditegakkan melalui pemeriksaan darah lengkap yang menunjukkan penurunan jumlah trombosit. Pemeriksaan apusan darah tepi penting untuk mengevaluasi morfologi trombosit dan menyingkirkan pseudotrombositopenia (Neunert et al., 2023).

Pemeriksaan tambahan meliputi:

1. Aspirasi sumsum tulang.
2. Pemeriksaan fungsi hati.
3. Serologi infeksi virus.
4. Pemeriksaan autoimun.
5. Pemeriksaan koagulasi.

Pendekatan diagnosis harus mempertimbangkan riwayat penggunaan obat, penyakit sistemik, infeksi, dan riwayat keluarga.

## **Penatalaksanaan Trombositopenia**

### **1. Terapi Umum**

Penatalaksanaan trombositopenia bertujuan mencegah perdarahan dan mengatasi penyebab dasar. Pasien dianjurkan menghindari trauma fisik dan obat yang mengganggu fungsi trombosit seperti aspirin dan NSAID.

### **2. Transfusi Trombosit**

Transfusi trombosit diberikan pada pasien dengan perdarahan aktif atau jumlah trombosit sangat rendah ( $<10.000/\mu\text{L}$ ). Pada pasien yang akan menjalani prosedur invasif, transfusi juga diperlukan untuk mengurangi risiko perdarahan (Levi & Scully, 2022).

### **3. Kortikosteroid**

Kortikosteroid merupakan terapi lini pertama pada ITP. Prednison dan deksametason bekerja dengan menekan pembentukan autoantibodi serta mengurangi destruksi trombosit di limpa (Neunert et al., 2023).

### **4. *Intravenous Immunoglobulin (IVIG)***

IVIG digunakan pada trombositopenia imun berat atau perdarahan akut. Mekanisme utamanya adalah menghambat fagositosis trombosit oleh makrofag limpa

sehingga jumlah trombosit meningkat lebih cepat dibandingkan steroid.

#### **5. Splenektomi**

Splenektomi dipertimbangkan pada pasien ITP kronik yang refrakter terhadap terapi medis. Pengangkatan limpa mengurangi destruksi trombosit dan produksi antibodi terhadap trombosit.

#### **6. Agen Trombopoietin Receptor Agonist**

Obat seperti eltrombopag dan romiplostim bekerja dengan merangsang produksi trombosit melalui aktivasi reseptor trombopoietin pada megakariosit (Kuter, 2021).

#### **Komplikasi**

Komplikasi utama trombositopenia adalah perdarahan berat. Perdarahan gastrointestinal dan perdarahan intrakranial merupakan penyebab mortalitas utama. Selain itu, anemia akibat perdarahan kronis juga dapat terjadi pada pasien trombositopenia berat.

#### **Prognosis**

Prognosis trombositopenia bergantung pada etiologi dan respons terapi. Trombositopenia akibat infeksi virus ringan umumnya bersifat sementara dan dapat pulih spontan. Sebaliknya, trombositopenia pada DIC, leukemia akut, atau sepsis berat memiliki prognosis lebih buruk (McCrae, 2022).

## DAFTAR PUSTAKA

- Almanaseer, A., Chin-Yee, B., Ho, J., Lazo-Langner, A., Schenkel, L., Bhai, P., Sadikovic, B., Chin-Yee, I.H., Hsia, C.C. (2024) *An Approach to the Investigation of Thrombocytosis: Differentiating between Essential Thrombocythemia and Secondary Thrombocytosis*. *Advances in Hematology*. 2024, pp. 3056216.
- Arber, D.A., Orazi, A., Hasserjian, R.P., et al., (2022) *International Consensus Classification of Myeloid Neoplasms and Acute Leukemias: integrating morphologic, clinical, and genomic data*. *Blood*. 140(11), pp.1200–1228.
- AJMC (2026) *Thrombopoietin and platelet regulation in hematologic disorders*. *The American Journal of Managed Care*. Available at: *The American Journal of Managed Care* (Accessed: 16 May 2026).
- Carobbio, A., Thiele, J., Passamonti, F., Rumi, E., Ruggeri, M., Rodeghiero, F., et al., (2011) *Risk factors for arterial and venous thrombosis in WHO-defined essential thrombocythemia: an international study of 891 patients*. *Blood*. 117(22), pp. 5857-5859.
- Harrison, C.N., Campbell, P.J., Buck, G., et al., (2005) *Hydroxyurea compared with anagrelide in high-risk essential thrombocythemia*. *New England Journal of Medicine*. 353(1), pp. 33–45.
- Hoffbrand, A.V., Moss, P.A.H. and Pettit, J.E., (2023) *Essential Haematology*. 8th ed. Oxford: Wiley-Blackwell.
- Jinna, S. (2023) *Thrombocytopenia and thrombocytosis: Pathophysiology and clinical implications*. *Journal of Hematology Research*, 15(2), pp. 112-120.
- Kaur, H., Sharma, P., Gupta, R. and Singh, A. (2025) ‘Thrombocytosis: classification, pathophysiology and clinical implications’, *Journal of Hematologic Disorders*, 18(2), pp. 85-97.
- Kaushansky, K., Lichtman, M.A., Prchal, J.T., Levi, M., Press, O.W. and Burns, L.J. (2022) *Williams Hematology*. 10th edn. New York: McGraw-Hill Education.

- Kuter, D.J., 2021. The biology of thrombopoietin and thrombopoietin receptor agonists. *International Journal of Hematology*, 113(1), pp. 24–35.
- Levi, M. and Scully, M., 2022. How I treat disseminated intravascular coagulation. *Blood*, 139(6), pp. 845–854.
- McCrae, K.R., 2022. Thrombocytopenia: pathophysiology and classification. *Hematology/Oncology Clinics of North America*, 36(2), pp. 231–245.
- McMullin, M.F.F., Mead, A.J., Ali, S., et al., (2019) *A guideline for the management of specific situations in polycythaemia vera and secondary erythrocytosis: a British Society for Haematology Guideline*. *Br J Haematol*. 184(2). pp. 161-175.
- Mititelu, M., Popescu, A., Georgescu, D. and Ionescu, R. (2024) *Platelet disorders in clinical practice: Advances in diagnosis and management*. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(4), pp. 1-15.
- Neunert, C., Terrell, D.R. and Arnold, D.M., 2023. Immune thrombocytopenia: updated clinical practice guidelines. *Blood Advances*, 7(4), pp. 1123–1138.
- Tefferi, A., Barbui, T., (2020) *Polycythemia vera and essential thrombocythemia: 2021 update on diagnosis, risk-stratification and management*. *American Journal of Hematology*. 95(12), pp. 1599-1613.
- Tefferi, A., Gangat, N., Loscocco, G.G., Guglielmelli, P., Szuber, N., Pardanani, A., Orazi, A., Barbui, T., Vannucchi, A.M. (2025) *Essential Thrombocythemia: A Review*. *JAMA*. 333(8), pp. 701-714.
- The Calgary Guide to Understanding Disease (2026). Trombositosis Patogenesis. Available at: Trombositosis Patogenesis | Calgary Guide (Accessed: 16 May 2026).
- Zhang, Z., Hu, J., Bai, Y., Liang, W., Jin, Y. (2025) *Emerging molecular targets in deep vein thrombosis: From inflammation to coagulation*. *Hematology*. 30, pp. 2548735.

# **BAB** **15**

## **GANGGUAN HEMOSTASIS PRIMER DAN EVALUASI LABORATORIUM AWAL**

**Dr. Yvonne Marthina, SpA**

### **A. Pendahuluan**

Hemostasis merupakan mekanisme fisiologis yang berfungsi mempertahankan integritas vaskular setelah terjadinya cedera pembuluh darah. Proses ini melibatkan interaksi kompleks antara dinding vaskular, trombosit, faktor koagulasi plasma, dan sistem fibrinolisis. Secara fisiologis, hemostasis dibagi menjadi hemostasis primer dan hemostasis sekunder yang bekerja secara simultan untuk menghentikan perdarahan dan mempertahankan stabilitas sirkulasi.

Hemostasis primer berperan dalam pembentukan sumbatan trombosit (platelet plug) primer melalui proses adhesi, aktivasi, dan agregasi trombosit pada area cedera vaskular. Proses ini sangat dipengaruhi oleh fungsi trombosit dan von Willebrand factor (VWF). Selanjutnya, hemostasis sekunder memperkuat sumbatan tersebut melalui pembentukan fibrin oleh sistem koagulasi plasma.

Gangguan hemostasis primer umumnya disebabkan oleh trombositopenia, trombositopati, maupun abnormalitas VWF. Manifestasi klinis yang khas berupa perdarahan mukokutan seperti epistaksis, petechiae, purpura, gingivoragia, menoragia, dan perdarahan pasca tindakan minor.

Perkembangan ilmu hematologi dalam satu dekade terakhir telah meningkatkan pemahaman mengenai gangguan hemostasis primer, terutama melalui kemajuan pemeriksaan laboratorium fungsional dan molekuler. Pendekatan diagnostik

modern saat ini tidak lagi hanya bergantung pada pemeriksaan skrining konvensional, tetapi juga mengintegrasikan penilaian klinis, penggunaan *Bleeding Assessment Tool* (BAT), evaluasi fungsi trombosit, pemeriksaan VWF, hingga analisis genetik berbasis *next-generation sequencing* (NGS). Pemeriksaan seperti *platelet function analyzer* (PFA-100/PFA-200), *light transmission aggregometry* (LTA), *flow cytometry*, *multimer analysis*, dan pemeriksaan molekuler memiliki peran penting dalam meningkatkan akurasi diagnosis dan penentuan subtype penyakit.

Berdasarkan perkembangan tersebut, pemahaman yang komprehensif mengenai fisiologi hemostasis, manifestasi klinis, serta pendekatan laboratorium bertahap menjadi sangat penting dalam evaluasi pasien dengan kelainan perdarahan. Tulisan ini membahas konsep dasar gangguan hemostasis primer, patofisiologi yang mendasarinya, serta pendekatan evaluasi laboratorium mulai dari pemeriksaan skrining hingga pemeriksaan konfirmasi diagnosis berdasarkan literatur terkini.

## **B. Patofisiologi Sistem Hemostasis**

### **1. Hemostasis Primer**

Hemostasis primer dimulai segera setelah terjadi cedera vaskular yang menyebabkan paparan kolagen subendotel. Pada fase awal terjadi vasokonstriksi lokal untuk mengurangi aliran darah menuju area cedera. Selanjutnya, trombosit beradhesi pada matriks subendotel melalui interaksi antara *von Willebrand factor* (VWF) dan reseptor glikoprotein Ib/IX/V pada permukaan trombosit. Mekanisme ini sangat penting terutama pada pembuluh darah kecil dengan tekanan geser (*shear stress*) tinggi.

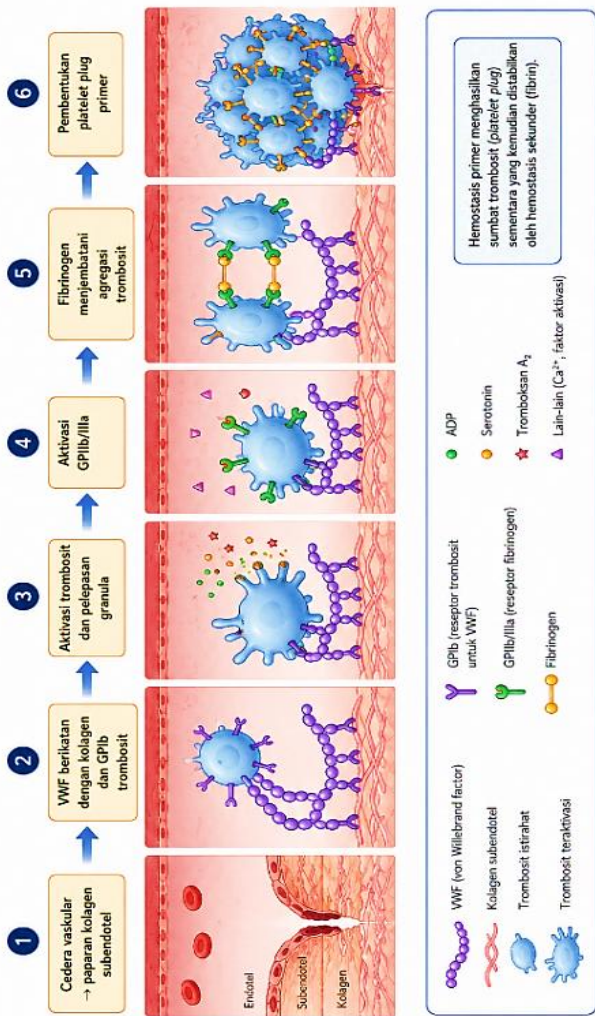
Adhesi trombosit akan memicu aktivasi trombosit yang ditandai oleh perubahan bentuk sel, peningkatan kadar kalsium intraseluler, serta pelepasan mediator prohemostatik dari granula trombosit, termasuk ADP, serotonin, tromboksan A<sub>2</sub>, fibrinogen, dan faktor V. Mediator tersebut

memperkuat aktivasi trombosit sekaligus merekrut trombosit lain menuju lokasi cedera vaskular.

Aktivasi trombosit selanjutnya menyebabkan perubahan konformasi reseptor integrin  $\alpha\text{IIb}\beta_3$  (GPIIb/IIIa), sehingga fibrinogen dapat membentuk jembatan antar trombosit dan menghasilkan agregasi trombosit. Hasil akhir proses ini adalah terbentuknya sumbatan trombosit primer (platelet plug) yang bersifat sementara sebelum distabilkan oleh fibrin melalui aktivasi sistem koagulasi pada hemostasis sekunder.

**Tabel 15.1 Tahapan Hemostasis Primer**

| <b>Tahapan</b>                 | <b>Mekanisme Utama</b>                 | <b>Molekul Penting</b>                   |
|--------------------------------|----------------------------------------|------------------------------------------|
| Vasokonstriksi                 | Kontraksi otot polos vaskular          | Endotelin, serotonin                     |
| Adhesi trombosit               | Ikatan trombosit ke subendotel         | VWF, GPIb/IX/V                           |
| Aktivasi trombosit             | Pelepasan granula dan perubahan bentuk | ADP, TXA <sub>2</sub> , Ca <sup>2+</sup> |
| Agregasi trombosit             | Ikatan antar trombosit                 | GPIIb/IIIa, fibrinogen                   |
| Pembentukan sumbatan trombosit | Sumbatan hemostatik awal               | Platelet aggregate                       |



Proses ini terjadi sangat cepat (detik-menit) dan terutama bergantung pada fungsi trombosit, VWF, dan integritas dinding vaskular.

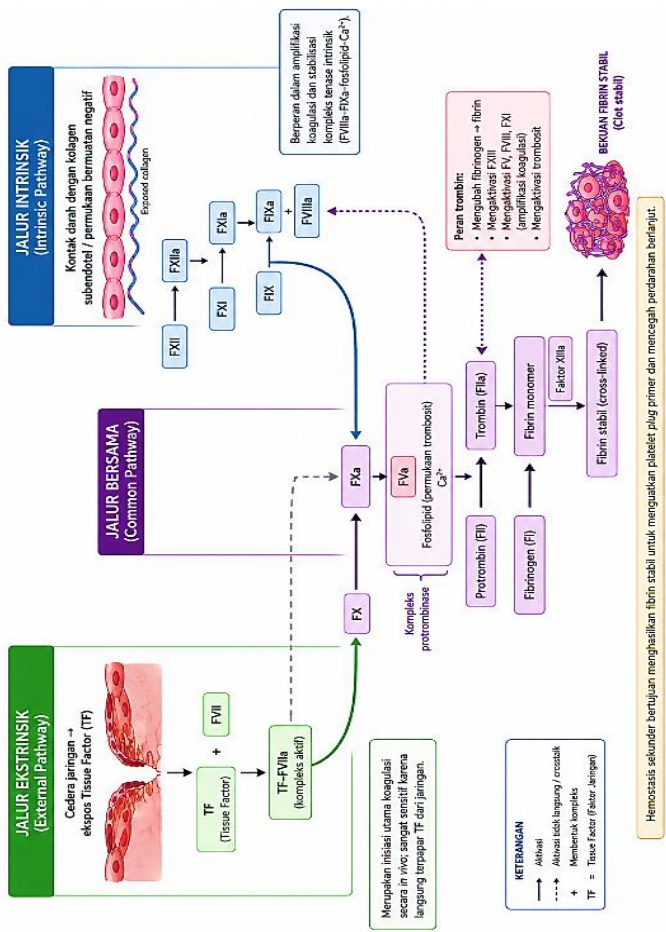
**Gambar 15.1 Skema Hemostasis Primer**

Sumber: Lanzkowsky' s Manual of Pediatric Hematology and Oncology 7th ed; 2021. Hoffman R. Hematology: Basic Principles and Practice. 8th ed; 2023.

## 2. Hemostasis Sekunder

Hemostasis sekunder merupakan proses aktivasi sistem koagulasi plasma yang bertujuan memperkuat sumbatan trombosit (*platelet plug*) primer melalui pembentukan fibrin. Aktivasi koagulasi berlangsung melalui jalur ekstrinsik dan intrinsik yang akhirnya bermuara pada *common pathway*. Jalur ekstrinsik diawali oleh paparan tissue factor (TF) akibat kerusakan endotel yang mengaktivasi faktor VII menjadi VIIa, sedangkan jalur intrinsik melibatkan aktivasi berurutan faktor XII, XI, dan IX dengan bantuan faktor VIII sebagai kofaktor penting. Kedua jalur tersebut akan mengaktivasi faktor X menjadi Xa, yang kemudian bersama faktor Va membentuk kompleks protrombinase untuk mengubah protrombin menjadi trombin.

Trombin merupakan enzim sentral dalam sistem koagulasi karena tidak hanya mengubah fibrinogen menjadi fibrin, tetapi juga berfungsi sebagai faktor penguat (*amplification factor*) melalui aktivasi faktor V, VIII, XI, serta aktivasi ulang trombosit pada lokasi cedera vaskular. Fibrin yang terbentuk selanjutnya mengalami ikatan silang (*cross-linking*) oleh faktor XIII sehingga menghasilkan bekuan yang stabil dan memperkuat sumbatan trombosit primer terhadap tekanan aliran darah. Dalam proses ini, von Willebrand factor (VWF) turut berperan mempertahankan stabilitas faktor VIII di dalam sirkulasi. Oleh karena itu, defisiensi atau disfungsi VWF pada von Willebrand disease tidak hanya menyebabkan gangguan adhesi trombosit, tetapi juga dapat menurunkan kadar faktor VIII dan memengaruhi proses hemostasis sekunder.



**Gambar 15.2** Kaskade Koagulasi Hemostasis Sekunder

Sumber: Hoffman R. Hematology: Basic Principles and Practice. 8th ed; 2023. Kaushansky K. Williams Hematology. 10th ed.

Pada tabel berikut akan disarikan perbedaan hemostasis primer dan sekunder.

**Tabel 15.2** Perbandingan Hemostasis Primer dan Sekunder

| Parameter          | Hemostasis Primer  | Hemostasis Sekunder    |
|--------------------|--------------------|------------------------|
| Komponen utama     | Trombosit, VWF     | Faktor koagulasi       |
| Tujuan             | Sumbatan trombosit | Stabilitas fibrin      |
| Manifestasi klinis | Petechiae, purpura | Hemarthrosis, hematoma |
| Waktu perdarahan   | Segera             | Delayed bleeding       |
| PT/aPTT            | Biasanya normal    | Sering abnormal        |
| Contoh penyakit    | VWD, Glanzmann     | Hemofilia              |

### C. Klasifikasi Gangguan Hemostasis Primer

Secara umum, gangguan hemostasis primer dibagi menjadi tiga kelompok besar, yaitu kelainan kuantitatif trombosit, kelainan fungsi trombosit, dan penyakit von Willebrand (VWD). Ketiga kelompok tersebut memiliki mekanisme patofisiologi, manifestasi klinis, serta pendekatan diagnostik laboratorium yang berbeda, meskipun secara klinis sama-sama dapat menimbulkan perdarahan mukokutan. Pemahaman mengenai klasifikasi ini penting karena menentukan arah evaluasi diagnostik dan strategi penatalaksanaan pasien dengan gangguan perdarahan.

#### 1. Kelainan Kuantitatif Trombosit

Kelainan kuantitatif trombosit terutama berupa trombositopenia, yaitu penurunan jumlah trombosit di bawah nilai normal. Trombositopenia dapat bersifat kongenital maupun didapat (*acquired*), dengan mekanisme patogenesis yang beragam. Penurunan jumlah trombosit dapat terjadi akibat gangguan produksi trombosit di sumsum tulang, peningkatan destruksi perifer, gangguan maturasi megakariosit, maupun sekuestrasi trombosit di limpa. Pada

gangguan produksi, trombositopenia sering berkaitan dengan kelainan sumsum tulang seperti anemia aplastik, leukemia, mielodisplasia, atau infiltrasi sumsum tulang. Sebaliknya, peningkatan destruksi trombosit umumnya ditemukan pada kondisi imunologis seperti *Immune Thrombocytopenia (ITP)*, *Disseminated Intravascular Coagulation (DIC)*, maupun trombotik mikroangiopati.

Selain jumlah trombosit, fungsi trombosit residual juga berperan penting dalam menentukan beratnya manifestasi klinis perdarahan. Pasien dengan trombositopenia ringan dapat tetap mengalami perdarahan signifikan bila disertai disfungsi trombosit, sedangkan sebagian pasien dengan trombositopenia berat dapat relatif asimtomatik. Manifestasi klinis yang paling sering ditemukan meliputi petechiae, purpura, epistaksis, gingivoragia, dan *easy bruising*. Pemeriksaan laboratorium awal yang penting meliputi *complete blood count (CBC)*, *mean platelet volume (MPV)*, dan evaluasi hapusan darah tepi untuk menilai morfologi trombosit serta mengeksklusi pseudotrombositopenia.

**Tabel 15.3** Mekanisme Trombositopenia dan Contohnya

| Mekanisme Patofisiologi | Contoh Kasus              |
|-------------------------|---------------------------|
| Penurunan produksi      | Anemia Aplastik, Leukemia |
| Peningkatan destruksi   | ITP, DIC                  |
| Sekuestrasi limpa       | Hipersplenisme            |
| Kongenital              | Wiskott-Aldrich syndrome  |

**2. Kelainan Fungsi Trombosit**

Kelainan fungsi trombosit atau trombositopati merupakan gangguan hemostasis primer yang terjadi akibat abnormalitas adhesi, aktivasi, sekresi granula, atau agregasi trombosit. Kelainan ini dapat bersifat herediter maupun didapat. *Inherited platelet function disorders* yang klasik antara lain *Glanzmann thrombasthenia* akibat defisiensi atau disfungsi *integrin αIIbβ3* (glikoprotein IIb/IIIa), serta *Bernard-Soulier syndrome* akibat defek kompleks reseptor GPIb/IX/V yang berperan dalam adhesi trombosit terhadap von Willebrand

factor. Selain itu, terdapat pula *storage pool disease*, kelainan pelepasan granula trombosit, dan berbagai gangguan jalur transduksi sinyal trombosit yang lebih jarang ditemukan.

Disfungsi trombosit didapat lebih sering dijumpai dalam praktik klinis dan dapat disebabkan oleh berbagai kondisi sistemik maupun penggunaan obat. Uremia merupakan salah satu penyebab penting disfungsi trombosit *acquired* akibat gangguan adhesi dan agregasi trombosit oleh toksin uremik. Selain itu, penyakit hati kronis, gangguan mieloproliferatif, paraproteinemia, dan penggunaan obat antiplatelet seperti aspirin, clopidogrel, maupun *non-steroidal anti-inflammatory drugs* (NSAIDs) juga dapat menyebabkan gangguan fungsi trombosit. Manifestasi klinis trombositopati umumnya berupa perdarahan mukokutan dengan derajat bervariasi. Evaluasi diagnostik terutama dilakukan menggunakan pemeriksaan fungsi trombosit seperti *platelet function analyzer* (PFA), *light transmission aggregometry* (LTA), dan *flow cytometry*.

**Tabel 15.4** Gangguan Fungsi Trombosit Utama

| Penyakit                 | Defek          | Temuan Khas         |
|--------------------------|----------------|---------------------|
| Glanzmann thrombasthenia | GPIIb/IIIa     | Gangguan agregasi   |
| Bernard-Soulier syndrome | GPIb/IX/V      | Giant platelet      |
| Storage pool disease     | Dense granule  | Gangguan sekresi    |
| Aspirin effect           | COX inhibition | Gangguan AA pathway |

### 3. Von Willebrand Disease (VWB)

Von Willebrand disease (VWD) merupakan kelainan perdarahan hereditas tersering dengan prevalensi diperkirakan mencapai sekitar 1% pada populasi umum. Penyakit ini disebabkan oleh defisiensi kuantitatif maupun kelainan kualitatif von Willebrand factor (VWF), yaitu glikoprotein plasma yang memiliki peran penting dalam

proses hemostasis. Secara fisiologis, VWF berperan penting dalam adhesi trombosit pada area cedera vaskular serta mempertahankan stabilitas faktor VIII di dalam sirkulasi. Oleh karena itu, kelainan VWF dapat menimbulkan kombinasi manifestasi gangguan hemostasis primer dan sekunder dengan derajat perdarahan yang bervariasi.

Berdasarkan karakteristik molekuler dan fungsionalnya, VWD dibagi menjadi tipe 1, tipe 2, dan tipe 3. VWD tipe 1 merupakan bentuk tersering dan ditandai oleh defisiensi kuantitatif parsial VWF. Sebaliknya, VWD tipe 2 merupakan kelainan kualitatif yang terdiri atas beberapa subtype, yaitu tipe 2A, 2B, 2M, dan 2N, dengan mekanisme gangguan fungsi VWF yang berbeda-beda. Tipe 2A ditandai oleh hilangnya *high molecular weight multimers* (HMWM), sedangkan tipe 2B ditandai oleh peningkatan afinitas VWF terhadap reseptor trombosit GPIb yang dapat menyebabkan trombositopenia. Pada tipe 2N, gangguan utama berupa penurunan kemampuan VWF mengikat faktor VIII sehingga secara klinis dapat menyerupai hemofilia A. Sementara itu, VWD tipe 3 merupakan bentuk paling berat dengan defisiensi VWF hampir total dan kadar faktor VIII yang sangat rendah.

**Tabel 15.5** Klasifikasi VWD

| Tipe    | Kelainan                       | Karakteristik            |
|---------|--------------------------------|--------------------------|
| Tipe 1  | Defisiensi parsial kuantitatif | VWF menurun proporsional |
| Tipe 2A | Defek multimer                 | HMW multimers menghilang |
| Tipe 2B | Afinitas tinggi ke GPIb        | Trombositopenia          |
| Tipe 2M | Defek fungsi                   | Multimer normal          |
| Tipe 2N | Gangguan binding FVIII         | Mirip hemofilia A        |
| Tipe 3  | Defisiensi total               | VWF hampir tidak ada     |

Sumber: ASH ISTH NHF WFH 2021 Guidelines on the Diagnosis of VWD.

Secara umum, VWD tipe 1 merupakan bentuk tersering dengan manifestasi perdarahan ringan hingga sedang. Sebaliknya, tipe 3 menunjukkan manifestasi paling berat akibat defisiensi VWF hampir total dan sering disertai penurunan bermakna faktor VIII. Pada VWD tipe 2, manifestasi klinis sangat dipengaruhi oleh subtype dan abnormalitas multimer VWF yang mendasarinya.

VWF sendiri merupakan glikoprotein multimerik yang tersusun atas unit-unit monomer yang saling berikatan membentuk struktur multimer dengan ukuran molekul yang bervariasi. Multimer berukuran besar (HMWM) memiliki aktivitas hemostatik paling kuat karena lebih efektif memediasi interaksi antara trombosit dan subendotel, terutama pada pembuluh darah dengan tekanan geser (*shear stress*) tinggi. Oleh sebab itu, analisis distribusi multimer memiliki peran penting dalam evaluasi subtype VWD, khususnya pada VWD tipe 2.

Diagnosis VWD sering kali menantang karena kadar VWF dipengaruhi oleh berbagai faktor biologis seperti inflamasi, stress, kehamilan, usia, aktivitas hormonal, dan golongan darah ABO. Individu dengan golongan darah O secara fisiologis memiliki kadar VWF lebih rendah dibandingkan golongan darah non-O. Oleh sebab itu, menurut guideline *American Society of Hematology*, *International Society on Thrombosis and Haemostasis*, *National Hemophilia Foundation*, dan *World Federation of Hemophilia* tahun 2021, pendekatan diagnostik modern pada VWD harus menekankan integrasi manifestasi klinis, *Bleeding Assessment Tool* (BAT), pemeriksaan VWF antigen dan aktivitas VWF, analisis multimer, serta evaluasi molekuler pada kasus tertentu untuk meningkatkan akurasi diagnosis dan menentukan subtype penyakit secara tepat.

## **D. Pendekatan Klinis**

Evaluasi klinis merupakan langkah fundamental dalam diagnosis gangguan hemostasis primer. Pendekatan awal harus dimulai dengan anamnesis yang sistematis dan pemeriksaan fisik yang komprehensif untuk menentukan probabilitas pretest sebelum dilakukan pemeriksaan laboratorium lanjutan. Meningkatkan atau mengembangkan pengetahuan. Dalam penelitian kesehatan, tujuan ini merupakan tujuan yang bersifat jangka panjang karena umumnya tidak terkait secara langsung dengan pemecahan masalah-masalah praktis.

### **1. Anamnesis**

Anamnesis harus mengevaluasi pola perdarahan mukokutan, frekuensi epistaksis, menoragia, perdarahan pasca ekstraksi gigi atau tindakan bedah minor, riwayat transfusi darah, serta riwayat keluarga dengan kelainan perdarahan serupa. Penggunaan obat-obatan yang memengaruhi fungsi trombosit, terutama aspirin dan NSAID, juga perlu dievaluasi secara rinci.

Pada dekade terakhir, penggunaan *Bleeding Assessment Tool* (BAT) yang dikembangkan oleh ISTH semakin direkomendasikan untuk meningkatkan standardisasi evaluasi klinis. BAT membantu mengkuantifikasi gejala perdarahan dan meningkatkan sensitivitas deteksi terutama pada VWD ringan dan gangguan trombosit bawaan.

### **2. Pemeriksaan Fisik**

Pemeriksaan fisik pada gangguan hemostasis primer umumnya menunjukkan manifestasi perdarahan superfisial seperti petechiae, purpura, *ecchymosis*, dan perdarahan mukosa. Tidak ditemukannya hemarthrosis berat atau hematoma jaringan dalam dapat membantu membedakan gangguan hemostasis primer dari defisiensi faktor koagulasi. Berikut disampaikan perbedaan manifestasi klinis hemostasis primer dan sekunder (table 6). Memverifikasi fenomena yang terjadi dengan suatu teori yang telah ada.

**Tabel 15.6** Perbedaan Manifestasi Klinis Hemostasis Primer vs Sekunder

| Manifestasi      | Primer | Sekunder |
|------------------|--------|----------|
| Petechiae        | Khas   | Jarang   |
| Purpura          | Khas   | Jarang   |
| Epistaksis       | Sering | Kadang   |
| Hemarthrosis     | Jarang | Khas     |
| Hematoma dalam   | Jarang | Sering   |
| Delayed bleeding | Jarang | Khas     |

#### E. Evaluasi Laboratorium Awal (*Screening*)

Pendekatan skrining laboratorium terhadap gangguan perdarahan dilakukan secara bertahap menggunakan prinsip *stepwise diagnostic approach*. Interpretasi hasil pemeriksaan hemostasis primer harus mempertimbangkan variabel pre-analitik, analitik, dan biologis yang secara signifikan memengaruhi sensitivitas dan spesifisitas pemeriksaan. Beberapa pitfalls yang sering terjadi antara lain: VWF akan meningkat saat terjadi inflamasi/kondisi stress, penggunaan NSAID sebelum LTA akan menurunkan fungsi trombosit, adanya trombositopenia akan menyebabkan hasil PFA abnormal palsu, adanya bekuan darah, terjadinya hemolisis atau *delay transport* pada sampel pemeriksaan akan menyebabkan trombositopenia palsu.

Berikut berbagai pemeriksaan laboratorium yang perlu dilakukan sebagai alat screening terjadinya gangguan hemostasis primer:

##### 1. Pemeriksaan Darah Lengkap / *Complete Blood Count (CBC)*

Pemeriksaan darah lengkap merupakan evaluasi awal yang esensial untuk mengevaluasi gangguan hemostasis primer. Pemeriksaan ini menilai jumlah trombosit, *mean platelet volume* (MPV), serta kemungkinan adanya kelainan hematologis lain. Trombositopenia menunjukkan adanya gangguan kuantitatif, sedangkan ukuran trombosit dapat memberikan petunjuk kelainan hematologis lain. *Giant platelet* dapat ditemukan pada kasus *Bernard-Soulier Syndrome*

dan *MYH9-related disorders*, sedangkan mikrotrombosit mendukung diagnosis *Wiskott-Aldrich syndrome*.

## **2. Morfologi Darah Tepi / *Peripheral Blood Smear* (PBS)**

PBS memiliki nilai diagnostik tinggi karena memungkinkan evaluasi morfologi trombosit secara langsung. Pemeriksaan ini dapat mendeteksi *platelet clumping* pada pseudotrombositopenia, *giant platelet*, serta kelainan leukosit atau eritrosit yang menyertai kelainan trombositopenia bawaan lainnya. Literatur terbaru menekankan bahwa PBS tetap menjadi pemeriksaan dasar yang sangat penting sebelum dilakukan pemeriksaan molekuler yang lebih kompleks.

## **3. PT dan aPTT**

Pada gangguan hemostasis primer murni, nilai PT dan aPTT umumnya normal. Namun, pada beberapa sub tipe VWD, terutama tipe 2N dan tipe 3, aPTT dapat memanjang akibat penurunan kadar faktor VIII sekunder. Oleh karena itu, hasil aPTT yang memanjang pada pasien dengan perdarahan mukokutan harus mendorong evaluasi lebih lanjut terhadap faktor VIII dan VWF.

## **4. Fibrinogen dan Thrombin Time**

Pemeriksaan fibrinogen dan thrombin time dilakukan untuk mengeksklusi gangguan koagulasi sekunder atau disfibrinogenemia yang dapat memberikan manifestasi klinis menyerupai gangguan hemostasis primer

## **5. *Platelet Function Analyzer* (PFA-100/PFA-200)**

PFA-100 dan PFA-200 saat ini digunakan sebagai alat skrining fungsi trombosit dan telah menggantikan bleeding time tradisional yang saat ini tidak direkomendasikan lagi karena standarisasinya yang rendah. Pemeriksaan PFA mengukur *closure time* menggunakan *cartridge collagen/epinephrine* dan *collagen/ADP* untuk mensimulasikan pembentukan sumbatan trombosit *in vitro*. Nilai PFA abnormal merefleksikan adanya gangguan adhesi/agregasi trombosit.

Meskipun cukup sensitif untuk mendeteksi kasus VWD berat dan trombositopati berat, namun pemeriksaan PFA memiliki keterbatasan karena dipengaruhi oleh hematokrit, jumlah trombosit, serta kadar VWF. Hasil normal tidak dapat menyingkirkan gangguan fungsi trombosit bawaan, terutama defek VWF ringan atau trombositopati ringan lainnya.

**Tabel 15.7** Interpretasi PFA

| <b>Temuan</b>                           | <b>Interpretasi</b>                    |
|-----------------------------------------|----------------------------------------|
| Closure time memanjang<br>CEPI saja     | Aspirin effect                         |
| Closure time memanjang<br>CEPI dan CADP | VWD atau trombositopati                |
| Normal                                  | Tidak menyingkirkan<br>kelainan ringan |

## **F. Evaluasi Laboratorium Tahap Lanjut (*Confirmatory*)**

### **1. Evaluasi Spesifik von Willebrand Disease (VWD)**

Pemeriksaan utama VWD meliputi *VWF Antigen and Activity Assay* dan *Multimer Analysis*.

#### **a. VWF Antigen dan Activity Assay**

Evaluasi laboratorium spesifik untuk VWD meliputi pemeriksaan VWF antigen (VWF:Ag), VWF activity, dan aktivitas faktor VIII. Pemeriksaan VWF:Ag menilai kadar protein VWF dalam plasma, sedangkan pemeriksaan VWF activity menilai fungsi adhesi trombosit.

Assay berbasis recombinant GPIb seperti VWF:GPIbM dan VWF:GPIbR semakin direkomendasikan dibandingkan *ristocetin Cofactor assay* (VWF:RCo) klasik karena memiliki sensitivitas dan variabilitas yang lebih baik. Rasio antara aktivitas dan antigen VWF membantu membedakan defek kuantitatif dan kualitatif.

**Tabel 15.8** Interpretasi Hasil Pemeriksaan VWD Assay

| Hasil                              | Interpretasi            |
|------------------------------------|-------------------------|
| VWF rendah + activity proporsional | Tipe 1                  |
| Activity/ Ag <0.7                  | Defek kualitatif tipe 2 |
| FVIII sangat rendah                | Tipe 2N atau tipe 3     |
| VWF hampir tidak ada               | Tipe 3                  |

**b. Multimer Analysis**

*Multimer analysis* merupakan pemeriksaan laboratorium khusus yang digunakan untuk mengevaluasi distribusi ukuran multimer VWF dalam plasma. Pemeriksaan ini dilakukan menggunakan teknik elektroforesis untuk memisahkan multimer berdasarkan berat molekulnya, sehingga dapat dinilai ada tidaknya kehilangan *high molecular weight multimers* (HMWM) atau pola distribusi multimer yang abnormal.

Pada von Willebrand disease, dapat terjadi kelainan kuantitatif maupun kualitatif VWF. Pada beberapa tipe VWD, khususnya VWD tipe 2, gangguan utama bukan hanya penurunan kadar VWF, tetapi juga abnormalitas struktur dan distribusi multimernya. HMWM memiliki kemampuan paling efektif dalam menjembatani adhesi trombosit pada area dengan aliran darah cepat sehingga kehilangan multimer besar akan menurunkan efisiensi pembentukan sumbatan hemostatik primer. Kehilangan atau berkurangnya HMWM menyebabkan kemampuan adhesi dan agregasi trombosit menurun secara signifikan sehingga pasien tetap mengalami manifestasi perdarahan meskipun kadar antigen VWF dapat tampak normal atau hanya sedikit menurun. Oleh karena itu, evaluasi fungsi dan struktur VWF menjadi sangat penting dalam pendekatan diagnostik VWD.

Multimer analysis sangat penting untuk membantu subtyping VWD, terutama dalam membedakan VWD tipe 2A, 2B, dan 2M, karena masing-masing sub tipe memiliki

pola distribusi multimer yang khas. Dengan demikian, pemeriksaan ini tidak hanya menilai jumlah VWF, tetapi juga mengevaluasi kualitas dan integritas struktural VWF yang sangat menentukan fungsi hemostatiknya.

**c. Ristocetin-Induced Platelet Agglutination (RIPA)**

Pemeriksaan RIPA merefleksikan interaksi VWF dengan reseptor GPIb trombosit, sehingga berguna dalam identifikasi VWD tipe 2B dan *platelet-type* VWD. Pada kasus tertentu, pemeriksaan genetik terhadap gen VWF diperlukan untuk konfirmasi subtype, konseling genetik, dan evaluasi kasus ambigu.

**2. Pemeriksaan Konfirmasi Gangguan Fungsi Trombosit**

**a. Light Transmission Aggregometry (LTA)**

LTA masih dianggap sebagai pemeriksaan baku dalam evaluasi gangguan fungsi trombosit. Pemeriksaan ini merefleksikan jalur agregasi trombosit (respons agregasi trombosit terhadap berbagai agonis, seperti ADP, epinefrin, kolagen, ristocetin, dan arachidonic acid).

Ditemukannya pola agregasi tertentu dapat mengarahkan diagnosis spesifik, misalnya pada *Glanzmann thrombasthenia*, agregasi tidak terjadi terhadap hampir seluruh agonis kecuali ristocetin. Sebaliknya, kasus *Bernard-Soulier syndrome* menunjukkan gangguan agregasi terhadap ristocetin akibat defek reseptor GPIb.

**Tabel 15.9** Pola Khas LTA

| Kelainan         | ADP                 | Epinefrin      | Kolagen        | Ristocetin |
|------------------|---------------------|----------------|----------------|------------|
| <i>Glanzmann</i> | Tidak agregasi      | Tidak agregasi | Tidak agregasi | Normal     |
| Bernard-Soulier  | Normal              | Normal         | Normal         | Abnormal   |
| Aspirin effect   | ↓<br>secondary wave | ↓              | ↓              | Normal     |

| Kelainan             | ADP                 | Epinefrin | Kolagen  | Ristocetin |
|----------------------|---------------------|-----------|----------|------------|
| Storage pool disease | ↓<br>secondary wave | ↓         | Variabel | Normal     |

### b. Flow Cytometry

*Flow cytometry* memungkinkan evaluasi ekspresi glikoprotein permukaan trombosit secara kuantitatif. Pemeriksaan ini sangat berguna untuk diagnosis *Glanzmann thrombasthenia* dan *Bernard-Soulier syndrome*.

### c. Lumiaggregometry dan Electron Microscopy

*Lumiaggregometry* digunakan untuk menilai pelepasan ATP dari *dense granules* trombosit dan bermanfaat dalam diagnosis *Storage pool disease*. Sementara itu, *electron microscopy* digunakan untuk menghitung jumlah *dense granules* dan mengevaluasi ultra struktur trombosit.

## 3. Pemeriksaan Molekuler dan Genetik

Dalam satu dekade terakhir, penggunaan *next-generation sequencing* (NGS) berkembang pesat dalam diagnosis gangguan trombosit bawaan. Teknologi ini memungkinkan identifikasi mutasi genetik yang sebelumnya sulit dideteksi menggunakan metode konvensional. Pemeriksaan molekuler juga membantu membedakan trombositopenia bawaan dari trombositopenia didapat, serta memberikan manfaat penting dalam konseling genetik dan stratifikasi risiko.

Namun demikian, interpretasi varian genetik masih menjadi tantangan karena banyaknya varian dengan signifikansi klinis yang belum sepenuhnya dipahami.

**Tabel 15.10** Gen yang Sering Diperiksa

| Gen    | Penyakit                 |
|--------|--------------------------|
| VWF    | Von Willebrand disease   |
| ITGA2B | Glanzmann thrombasthenia |
| ITGB3  | Glanzmann thrombasthenia |

| Gen   | Penyakit                   |
|-------|----------------------------|
| GP1BA | Bernard-Soulier syndrome   |
| MYH9  | MYH9-related disorder      |
| RUNX1 | Familial platelet disorder |

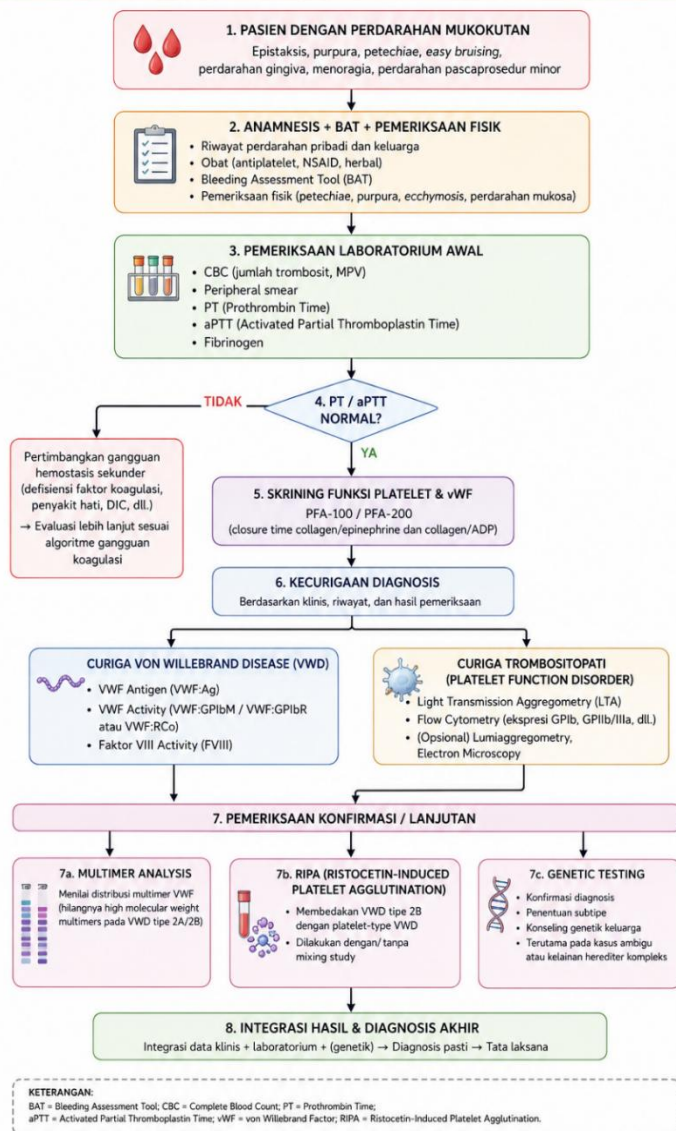
## G. Algoritma Diagnosis

Pendekatan diagnostik gangguan hemostasis primer dilakukan secara bertahap dimulai dari identifikasi klinis melalui anamnesis, riwayat keluarga, dan *BAT score*. Selanjutnya dilakukan pemeriksaan skrining dasar berupa CBC, *peripheral blood smear*, PT/aPTT, fibrinogen, dan PFA-100. Apabila terdapat kecurigaan terhadap VWD, evaluasi dilanjutkan dengan pemeriksaan *VWF antigen*, *VWF activity*, dan faktor VIII. Pada kecurigaan gangguan fungsi trombosit, pemeriksaan LTA, *flow cytometry*, dan *lumiaggregometry* menjadi pemeriksaan utama. Tahap akhir berupa pemeriksaan konfirmasi melalui *multimer analysis*, RIPA, dan *genetic testing*.

Literatur 10 tahun terakhir menunjukkan beberapa perubahan penting dalam pendekatan diagnostik gangguan hemostasis primer. *Bleeding time* tidak lagi direkomendasikan karena memiliki sensitivitas dan reproduksibilitas yang buruk. PFA hanya digunakan sebagai alat skrining dan bukan pemeriksaan definitif. Selain itu, diagnosis VWD kini semakin menekankan pentingnya mempertimbangkan variabilitas biologis kadar VWF yang dipengaruhi inflamasi, stres, usia, hormon, dan golongan darah ABO.

Pendekatan modern juga mengintegrasikan data fenotipe klinis, hasil pemeriksaan fungsi trombosit, dan analisis molekuler untuk meningkatkan akurasi diagnosis. Perkembangan *point-of-care testing* seperti *thromboelastography* (TEG) dan *rotational thromboelastometry* (ROTEM) memungkinkan evaluasi cepat sistem hemostasis secara global, terutama pada setting perioperatif dan *critical care*. Namun, pemeriksaan ini belum menggantikan pemeriksaan spesifik gangguan hemostasis primer.

## ALGORITME 1. PENDEKATAN DIAGNOSIS GANGGUAN HEMOSTASIS PRIMER



**Gambar 15.3** Algoritma Diagnosis Gangguan Hemostasis Primer

Sumber: Lankowsky's Manual of Pediatric Hematology and Oncology. 7th ed.

ASH ISTH NHF WFH Guidelines 2021.

## H. Pitfalls dan Keterbatasan Pemeriksaan

Interpretasi pemeriksaan hemostasis primer harus mempertimbangkan berbagai faktor preanalitik, analitik, dan biologis. Faktor preanalitik seperti pungsi darah vena yang traumatik, keterlambatan pemeriksaan, penggunaan NSAID, dan aktivasi trombosit in vitro dapat memengaruhi hasil pemeriksaan. Selain itu, variasi metode antar laboratorium dan keterbatasan standardisasi masih menjadi tantangan penting dalam evaluasi laboratorium gangguan hemostasis primer.

**Tabel 15.11** Faktor yang Mempengaruhi Pemeriksaan Hemostasis

| Faktor                 | Dampak                    |
|------------------------|---------------------------|
| Venipuncture traumatik | Aktivasi trombosit        |
| NSAID                  | False abnormal LTA        |
| Inflamasi              | Peningkatan VWF           |
| Kehamilan              | Peningkatan FVIII dan VWF |
| Golongan darah O       | VWF lebih rendah          |
| Delay pemeriksaan      | Artefak fungsi trombosit  |

| PITFALLS DALAM DIAGNOSIS VON WILLEBRAND DISEASE (VWD)                                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| KATEGORI                                                                                                                              | PENJELASAN                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| <br>FAKTOR BIOLOGIS YANG<br>MEMPENGARUHI KADAR VWF | <ul style="list-style-type: none"> <li>Kadar VWF dapat meningkat pada kondisi inflamasi, infeksi, stres fisiologis, trauma, kehamilan, aktivitas fisik, dan penggunaan estrogen.</li> <li>Individu dengan golongan darah O secara fisiologis memiliki kadar VWF 20-30% lebih rendah dibandingkan golongan darah non-O.</li> <li>Kadar VWF dapat meningkat seiring bertambahnya usia.</li> </ul>                                                                                                                                         |
| <br>FAKTOR PREANALITIK<br>DAN ANALITIK             | <ul style="list-style-type: none"> <li>Teknik pengambilan sampel yang tidak adekuat, hemolisis, stasis vena berkepanjangan, serta keterlambatan pemrosesan spesimen dapat memengaruhi hasil pemeriksaan.</li> <li>Penggunaan antiplatelet (aspirin, NSAID, clopidogrel) sebelum pemeriksaan dapat menyebabkan hasil abnormal pada tes fungsi trombosit.</li> <li>Variabilitas metode antar laboratorium, terutama pada pemeriksaan VWF activity dan platelet function assay, dapat menyebabkan perbedaan interpretasi hasil.</li> </ul> |
| <br>PITFALLS DIAGNOSIS<br>KLINIS                   | <ul style="list-style-type: none"> <li>Nilai VWF borderline memerlukan pemeriksaan ulang karena kadar VWF bersifat dinamis dan dapat berfluktuasi.</li> <li>Hasil pemeriksaan laboratorium normal tidak sepenuhnya menyingkirkan VWD ringan atau trombositopati ringan.</li> <li>VWD tipe 2N dapat menyerupai hemofilia A karena disertai penurunan kadar faktor VIII.</li> <li>VWD tipe 2B dapat disertai trombositopenia sehingga sering salah didiagnosis sebagai trombositopenia imun.</li> </ul>                                   |
| <br>PENDEKATAN DIAGNOSIS<br>MODERN                 | <ul style="list-style-type: none"> <li>Diagnosis VWD tidak boleh ditekankan hanya berdasarkan satu parameter laboratorium.</li> <li>Interpretasi hasil harus mempertimbangkan manifestasi klinis, <i>Bleeding Assessment Tool</i> (BAT), riwayat keluarga, pemeriksaan fungsi VWF, serta evaluasi molekuler pada kasus tertentu.</li> <li>Pendekatan diagnostik yang komprehensif meningkatkan akurasi diagnosis dan penentuan sub tipe VWD.</li> </ul>                                                                                 |
| <br>INTI PENTING                                   | Hasil pemeriksaan laboratorium VWF harus selalu diinterpretasikan secara komprehensif dengan mempertimbangkan faktor biologis, preanalitik, klinis, dan metode pemeriksaan agar diagnosis VWD tidak terlewat maupun tidak berlebihan.                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |

Gambar 15.4 Pitfalls dalam Diagnosis VWD

Sumber: Lankowsky’ s Manual of Pediatric Hematology and Oncology. 7th ed (2021), Hematology: Basic Principles and Practice. 8th ed. (2023), Williams Hematology. 10th ed. (2021), ASH ISTH NHF WFH 2021 Guidelines on the Diagnosis of von Willebrand disease (2021).

## I. Kesimpulan

Gangguan hemostasis primer merupakan kelompok kelainan kompleks yang melibatkan trombosit, VWF, dan interaksi vaskular dalam pembentukan sumbatan trombosit awal. Pendekatan diagnostik modern memerlukan integrasi antara manifestasi klinis, pemeriksaan laboratorium bertahap, dan evaluasi molekuler.

Pemeriksaan skrining dasar seperti CBC, apusan darah tepi, PT/aPTT, dan PFA tetap menjadi fondasi evaluasi awal, sedangkan pemeriksaan spesifik seperti *VWF assay*, *LTA*, *flow cytometry*, *multimer analysis*, dan *genetic testing* diperlukan untuk konfirmasi diagnosis dan subtyping penyakit.

Perkembangan literatur dalam 10 tahun terakhir menunjukkan pergeseran paradigma menuju pendekatan diagnostik yang lebih terstandardisasi, sensitif, dan berbasis molekuler. Sebagai referensi utama di bidang hematologi pediatrik, *Lanzkowsky's Manual of Pediatric Hematology and Oncology* tetap menjadi salah satu acuan terpenting dalam memahami evaluasi dan tata laksana gangguan hemostasis primer modern.

## DAFTAR PUSTAKA

- Bolton-Maggs PHB, Chalmers EA, Collins PW, et al. *A review of inherited platelet disorders with guidelines for their management*. Br J Haematol.
- Fish JD, Lipton JM, Lanzkowsky P, eds. *Lanzkowsky's Manual of Pediatric Hematology and Oncology*. 7th ed. Elsevier; 2021.
- Gresele P, Harrison P, Bury L, et al. *Diagnosis of suspected inherited platelet function disorders*. J Thromb Haemost. 2015;13(2):314-322.
- Hoffman R, Benz EJ, Silberstein LE, et al, eds. *Hematology: Basic Principles and Practice*. 8th ed. Philadelphia: Elsevier; 2023.
- Israels SJ, Kahr WHA, Blanchette VS, et al. *Platelet disorders in children: diagnosis and management*.
- James PD, Connell NT, Ameer B, et al. *ASH ISTH NHF WFH 2021 Guidelines on the Diagnosis of von Willebrand Disease*. Blood Adv. 2021;5(1):280-300.
- Kaushansky K, Lichtman MA, Prchal JT, et al. *Williams Hematology*. 10th ed. New York: McGraw-Hill Education; 2021.
- Sadler JE, Budde U, Eikenboom JCJ, et al. *Update on the pathophysiology and classification of von Willebrand disease*.

# BAB 16

## FAKTOR PRE-ANALITIK DAN SUMBER VARIABILITAS PEMERIKSAAN HEMATOLOGI

**Dr. dr. Tri Ariguntar Wikanningtyas, Sp.PK**

### **A. Pendahuluan**

Pemeriksaan hematologi merupakan salah satu pemeriksaan laboratorium yang paling sering digunakan dalam praktik klinis untuk membantu diagnosis, menentukan prognosis, memantau terapi, dan mengevaluasi perkembangan penyakit. Parameter yang diperiksa meliputi hemoglobin, hematokrit, jumlah eritrosit, leukosit, trombosit, indeks eritrosit, serta evaluasi morfologi darah tepi. Akurasi hasil pemeriksaan tersebut sangat dipengaruhi oleh mutu seluruh proses laboratorium, mulai dari fase pre-analitik, analitik, hingga post-analitik. Berbagai studi menunjukkan bahwa sebagian besar kesalahan laboratorium masih terjadi pada fase pre-analitik sehingga menjadi fokus utama dalam program peningkatan mutu laboratorium modern (Cadamuro and Simundic, 2023; Mishra et al., 2023).

Fase pre-analitik mencakup seluruh prosedur yang dilakukan sebelum spesimen dianalisis, termasuk persiapan pasien, identifikasi pasien, pengambilan spesimen, penanganan sampel, transportasi, dan penyimpanan. Kesalahan yang terjadi pada tahap ini dapat menyebabkan hasil laboratorium yang tidak merepresentasikan kondisi klinis sebenarnya sehingga berpotensi menimbulkan kesalahan diagnosis dan terapi. Oleh karena itu, pemahaman terhadap faktor pre-analitik menjadi bagian penting dalam pendidikan kedokteran dan praktik laboratorium klinik (Lorque et al., 2023; Alshaghдали et al., 2022).

## **B. Variabilitas Pemeriksaan Hematologi**

Variabilitas pemeriksaan hematologi merupakan perubahan hasil laboratorium yang dapat disebabkan oleh faktor biologis maupun faktor teknis. Variabilitas biologis berkaitan dengan karakteristik individu dan kondisi fisiologis pasien, sedangkan variabilitas teknis berhubungan dengan proses pemeriksaan laboratorium. Kedua faktor tersebut dapat memengaruhi interpretasi hasil laboratorium sehingga perlu dipahami oleh klinisi dan tenaga laboratorium (Aarsand et al., 2023).

Pada individu sehat, nilai parameter hematologi dapat mengalami fluktuasi akibat usia, jenis kelamin, ritme sirkadian, aktivitas fisik, status hidrasi, serta kondisi fisiologis lainnya. Oleh karena itu, perubahan hasil pemeriksaan tidak selalu menunjukkan adanya penyakit dan harus dievaluasi dengan mempertimbangkan variasi biologis yang normal (Badrick et al., 2022).

## **C. Faktor Pre-Analitik Pemeriksaan Hematologi**

Pre-analitik merupakan tahapan persiapan sebelum melakukan pemeriksaan, tahapan awal dari seluruh rangkaian pemeriksaan hematologi. Faktor yang mempengaruhi tahapan pre-analitik adalah ketatausahaan, persiapan pasien, proses pengumpulan spesimen, penanganan spesimen, pengiriman spesimen dan pengolahan spesimen.

### **1. Persiapan Pasien**

Persiapan pasien merupakan langkah awal yang berpengaruh besar terhadap kualitas spesimen darah. Aktivitas fisik berat sebelum pengambilan darah dapat meningkatkan jumlah leukosit akibat mobilisasi neutrofil dari dinding pembuluh darah ke sirkulasi. Selain itu, olahraga intensif dapat menyebabkan hemokonsentrasi sementara yang meningkatkan kadar hemoglobin dan hematokrit (Cadamuro et al., 2024).

Status hidrasi juga memengaruhi hasil pemeriksaan hematologi. Dehidrasi menyebabkan penurunan volume plasma sehingga konsentrasi sel darah meningkat, sedangkan overhidrasi menyebabkan hemodilusi yang menurunkan kadar hemoglobin dan hematokrit. Perubahan ini dapat mengaburkan interpretasi klinis apabila tidak diperhatikan pada saat evaluasi hasil laboratorium (Lippi et al., 2022).

Stres fisik maupun psikologis dapat menyebabkan pelepasan katekolamin yang memicu leukositosis sementara. Selain itu, kebiasaan merokok diketahui meningkatkan kadar hemoglobin dan hematokrit akibat kompensasi terhadap hipoksia kronik ringan yang ditimbulkan oleh karbon monoksida dalam asap rokok (Mrazek et al., 2021).

**Tabel 16.1** Pengaruh Kondisi Pasien pada Pemeriksaan Hematologi

| Faktor                | Dampak pada Pemeriksaan      |
|-----------------------|------------------------------|
| Dehidrasi             | Hb dan hematokrit meningkat  |
| Overhidrasi           | Hb dan hematokrit menurun    |
| Aktivitas fisik berat | Leukosit meningkat           |
| Kehamilan             | Hemodilusi fisiologis        |
| Stres akut            | Leukositosis sementara       |
| Merokok               | Peningkatan Hb dan eritrosit |

**2. Identifikasi Pasien**

Identifikasi pasien yang benar merupakan langkah penting dalam menjamin keselamatan pasien. Kesalahan identifikasi dapat terjadi pada saat registrasi, pelabelan tabung, maupun distribusi hasil laboratorium. Kesalahan tersebut dapat menyebabkan hasil pemeriksaan diberikan kepada pasien yang salah sehingga berpotensi menimbulkan dampak klinis yang serius (Plebani and Sciacovelli, 2021).

Penerapan sistem identifikasi berbasis barcode dan verifikasi menggunakan minimal dua identitas pasien terbukti mampu menurunkan angka kesalahan identifikasi secara signifikan. Pendekatan ini saat ini direkomendasikan

oleh berbagai organisasi internasional sebagai bagian dari sistem manajemen mutu laboratorium (IFCC Working Group, 2022).

### **3. Flebotomi**

Pengambilan darah/flebotomi dengan venipunktur yang tidak sesuai standar dapat memengaruhi kualitas spesimen. Penggunaan torniket yang terlalu lama menyebabkan hemokonsentrasi sehingga meningkatkan kadar hemoglobin, hematokrit, protein plasma, dan jumlah sel darah. Oleh karena itu, durasi pemasangan torniket sebaiknya tidak melebihi satu menit sebelum darah mulai mengalir ke tabung koleksi (Kitchen et al., 2021). Pengambilan spesimen darah harus sesuai dengan prosedur baku yang ditetapkan, dimulai dari pemilihan Lokasi pengambilan darah, penggunaan turniket, antiseptik, dan prosedur pengumpulan sampel. Selain itu faktor pengolahan dan penyimpanan spesimen juga perlu perhatian, penggunaan antikoagulan pada spesimen darah, dan penggunaan lemari pendingin turut mempengaruhi hasil pemeriksaan. Pada spesimen tunda harus diperhatikan lama penyimpanan, jenis pemeriksaan, wadah sampel dan stabilitas spesimen. Pada saat pengiriman specimen memerlukan perlakuan khusus dengan memperhatikan suhu penyimpanan spesimen yaitu 2-8°C dan menggunakan wadah yang tepat agar suhu sampel tetap stabil

Penggunaan jarum berukuran kecil meningkatkan risiko hemolisis akibat tekanan mekanik yang berlebihan pada eritrosit. Hemolisis merupakan salah satu penyebab utama penolakan spesimen dan dapat memengaruhi berbagai parameter hematologi maupun kimia klinik (Cadamuro et al., 2023).

Hemolisis adalah penghancuran sel darah merah, yang mengakibatkan pelepasan hemoglobin dan unsur seluler, misalnya kalium, ke dalam plasma. Hemolisis merupakan penyebab hasil tes darah yang tidak akurat dan dapat terjadi secara *in vitro* selama pengumpulan, penyimpanan, atau

pengangkutan sampel darah atau secara *in vivo* yang mengakibatkan anemia hemolitik jika parah. Hemolisis *in vivo* dan *in vitro* memiliki fitur analitis yang berbeda, misalnya kadar haptoglobin normal pada hemolisis *in vitro*, oleh karena itu analisis dapat mengungkapkan apakah hemolisis terjadi selama pengumpulan sampel darah atau hemolisis terjadi saat pengolahan sampel darah. Beberapa pemeriksaan yang dapat terpengaruh saat hemolisis *in vitro* terjadi meliputi:(Kyle, 2014)

- a. Peningkatan kalium, AST (ALT kurang terpengaruh), laktat dehidrogenase, fosfat
- b. Penurunan bilirubin, troponin T, insulin.

Proses pengumpulan dan pengangkutan sampel yang terstandar dapat membantu mencegah hemolisis *in vitro*, meliputi:(Octavia M. Peck Palmer, 2019)

- a. Membiarkan alkohol mengering sepenuhnya saat digunakan untuk sterilisasi kulit sebelum pungsi vena
- b. Tidak membiarkan torniket terpasang lebih dari dua menit
- c. Menggunakan jarum berukuran tepat untuk pengambilan (jarum ukuran 20 – 22 dapat digunakan untuk sebagian besar pengumpulan rutin)
- d. Tidak mencabut jarum dari vena jika tabung vakum terpasang
- e. Tidak memaparkan spesimen pada suhu ekstrem
- f. Menghindari pencampuran atau pengocokan tabung secara kuat

#### **4. Tabung Pengambilan Darah dan Antikoagulan**

Antikoagulan EDTA merupakan antikoagulan yang direkomendasikan untuk pemeriksaan darah lengkap karena mampu mempertahankan morfologi sel darah dengan baik. Namun, rasio antara volume darah dan EDTA harus sesuai dengan rekomendasi produsen untuk menghindari perubahan ukuran sel maupun pembentukan artefak pemeriksaan (ICSH, 2021).

Tabung yang terisi kurang dari volume yang ditentukan dapat menyebabkan kelebihan EDTA relatif sehingga menimbulkan penyusutan eritrosit dan perubahan indeks eritrosit. Sebaliknya, pencampuran yang tidak adekuat setelah pengambilan darah dapat menyebabkan terbentuknya mikrokoagulum yang mengganggu pemeriksaan hematologi otomatis (Lorque et al., 2023).

Pseudotrombositopenia akibat EDTA merupakan fenomena yang perlu dikenali oleh klinisi. Kondisi ini terjadi akibat agregasi trombosit in vitro sehingga jumlah trombosit yang terbaca oleh alat menjadi lebih rendah dibandingkan jumlah sebenarnya. Konfirmasi melalui apusan darah tepi atau penggunaan antikoagulan sitrat sangat dianjurkan (Briggs et al., 2022).

**Tabel 16.2** Kesalahan Berkaitan dengan Antikoagulan

| Kesalahan                      | Dampak                           |
|--------------------------------|----------------------------------|
| Underfilling tabung EDTA       | Perubahan indeks eritrosit       |
| Overfilling tabung             | Risiko pembentukan mikrokoagulum |
| Pencampuran tidak adekuat      | Bekuan mikro                     |
| Agregasi trombosit akibat EDTA | Pseudotrombositopenia            |
| Salah jenis tabung             | Hasil tidak valid                |

**5. Transportasi dan Penyimpanan**

Transportasi spesimen yang tidak sesuai dapat menyebabkan kerusakan sel darah akibat getaran mekanik maupun perubahan suhu. Sistem transportasi pneumatik yang tidak terstandarisasi diketahui dapat meningkatkan risiko hemolisis dan perubahan parameter hematologi tertentu (Kristensen et al., 2022).

Penundaan pemeriksaan menyebabkan perubahan morfologi sel darah, terutama pada neutrofil dan trombosit. Penyimpanan darah EDTA dalam waktu yang terlalu lama dapat meningkatkan nilai MCV akibat pembengkakan eritrosit sehingga memengaruhi interpretasi hasil

pemeriksaan (Kitchen et al., 2021). Sebagian besar pedoman internasional merekomendasikan agar pemeriksaan hematologi dilakukan dalam waktu kurang dari delapan jam setelah pengambilan darah untuk mempertahankan stabilitas spesimen dan akurasi hasil pemeriksaan (ICSH, 2021; Kristensen et al., 2022).

#### **D. Variabilitas Biologi**

Variabilitas biologis merupakan sumber variasi alami yang tidak dapat dihindari dalam pemeriksaan hematologi. Faktor usia memengaruhi hampir seluruh parameter hematologi karena adanya perubahan aktivitas hematopoiesis sepanjang kehidupan. Nilai rujukan yang berbeda diperlukan untuk bayi, anak, dewasa, dan lanjut usia (Aarsand et al., 2023).

##### **1. Usia**

Nilai rujukan parameter hematologi berbeda pada berbagai kelompok usia. Bayi baru lahir memiliki kadar hemoglobin dan hematokrit yang lebih tinggi dibandingkan orang dewasa akibat adaptasi terhadap lingkungan intrauterin. Seiring bertambahnya usia, nilai hematologi mengalami perubahan hingga mencapai rentang dewasa. Pada usia lanjut, dapat terjadi penurunan ringan kadar hemoglobin akibat perubahan fisiologis sistem hematopoiesis (Bain et al., 2022).

##### **2. Jenis Kelamin**

Laki-laki dewasa umumnya memiliki kadar hemoglobin dan hematokrit yang lebih tinggi dibandingkan perempuan. Perbedaan ini dipengaruhi oleh efek androgen yang merangsang eritropoiesis dan kehilangan darah secara periodik pada perempuan akibat menstruasi. Oleh karena itu, interpretasi hasil laboratorium harus menggunakan nilai rujukan yang sesuai dengan jenis kelamin pasien (McPherson & Pincus, 2021). Jenis kelamin juga berpengaruh terhadap kadar hemoglobin dan hematokrit. Laki-laki umumnya memiliki kadar hemoglobin lebih tinggi dibandingkan perempuan akibat pengaruh androgen terhadap eritropoiesis

dan tidak adanya kehilangan darah menstruasi (Badrick et al., 2022).

### **3. Ritme Sirkadian**

Beberapa parameter hematologi menunjukkan variasi harian. Jumlah leukosit dan neutrofil cenderung meningkat pada sore hingga malam hari dibandingkan pagi hari. Variasi sirkadian ini dipengaruhi oleh perubahan hormon kortisol dan sistem saraf otonom sehingga waktu pengambilan sampel perlu diperhatikan dalam pemantauan serial pasien (Haus & Smolensky, 2013).

### **4. Kehamilan**

Kehamilan menyebabkan peningkatan volume plasma yang lebih besar dibandingkan peningkatan massa eritrosit sehingga terjadi hemodilusi fisiologis. Kondisi ini menyebabkan penurunan kadar hemoglobin dan hematokrit yang dikenal sebagai anemia fisiologis kehamilan. Selain itu, jumlah leukosit dapat meningkat terutama pada trimester ketiga dan masa persalinan (Cunningham et al., 2022) (WHO, 2024).

## **E. Variabilitas Analitik**

Variabilitas analitik berasal dari instrumen, reagen, metode pemeriksaan, kalibrasi alat, dan kompetensi operator. Walaupun kemajuan teknologi telah menurunkan kesalahan analitik secara signifikan, pengendalian mutu internal dan eksternal tetap diperlukan untuk menjamin konsistensi hasil pemeriksaan (Briggs et al., 2022). Kesalahan analitik acak dapat disebabkan oleh instrumen yang digunakan tidak stabil, variasi temperatur, variasi reagen dan kalibrasi, variasi pada teknik prosedur pemeriksaan, dan variasi sumber daya manusia. Kesalahan analitik sistematis dapat disebabkan oleh spesifitas reagen dan metode pemeriksaan yang rendah, penggunaan blangko sampel dan blangko reagen yang kurang tepat, mutu reagen kalibrasi kurang baik, alat bantu pipet yang digunakan kurang akurat, panjang gelombang yang digunakan dan kesalahan pada saat melarutkan reagen.

Program external quality assessment (EQA) dan internal quality control (IQC) saat ini menjadi komponen utama dalam sistem manajemen mutu laboratorium. Implementasi kedua program tersebut terbukti meningkatkan akurasi, presisi, dan reproduktibilitas hasil pemeriksaan hematologi antar laboratorium (Plebani and Sciacovelli, 2021).

## **F. Kesimpulan**

Fase pre-analitik merupakan sumber terbesar kesalahan dalam pemeriksaan hematologi. Faktor yang paling sering berkontribusi meliputi persiapan pasien yang tidak adekuat, kesalahan identifikasi pasien, teknik venipunktur yang tidak tepat, penggunaan antikoagulan yang tidak sesuai, serta kesalahan transportasi dan penyimpanan sampel. Selain itu, variabilitas biologis dan analitik juga memengaruhi interpretasi hasil pemeriksaan hematologi. Pemahaman menyeluruh mengenai faktor-faktor tersebut sangat penting bagi dokter dan tenaga kesehatan agar mampu menilai hasil laboratorium secara lebih akurat dan kritis.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aarsand, A.K., Røraas, T., Fernandez-Calle, P. and Ricós, C., 2023. Biological variation estimates for hematological parameters. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 61(4), pp.621–633.
- Alshaghдали, K., Alcantara, T.Y., Rezgui, R., Cruz, C.P., Alshammary, M.H., Almotairi, Y. and Alcantara, J.C., 2022. Detecting preanalytical errors using quality indicators in a hematology laboratory. *Quality Management in Health Care*, 31(3), pp.176–183.
- Badrick, T., Streichert, T. and Sikaris, K., 2022. Biological variation and reference change values in laboratory medicine. *Clinical Biochemist Reviews*, 43(2), pp.45–58.
- Briggs, C., Longair, I., Kumar, P. and Machin, S.J., 2022. Advances in quality assurance of automated hematology analysis. *International Journal of Laboratory Hematology*, 44(S1), pp.17–26.
- Cadamuro, J. and Simundic, A.M., 2023. The preanalytical phase: from an instrument-centred to a patient-centred laboratory medicine. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 61(5), pp.732–740.
- Cadamuro, J., Lippi, G. and von Meyer, A., 2024. Current challenges in preanalytical quality management. *Journal of Laboratory Medicine*, 48(1), pp.15–27.
- ICSH, 2021. *Recommendations for Stability and Quality Assurance in Hematology Testing*. London: International Council for Standardization in Haematology.
- IFCC Working Group, 2022. Patient identification and sample traceability in laboratory medicine. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 60(11), pp.1701–1710.
- Kitchen, S., Adcock, D.M., Dauer, R., Kristoffersen, A.H., Lippi, G., Mackie, I. and Marlar, R.A., 2021. ICSH recommendations for collection and handling of blood samples. *International Journal of Laboratory Hematology*, 43(4), pp.571–580.

- Kristensen, G.B.B., Meijer, P. and Huisman, W., 2022. Sample transportation and stability in modern laboratory medicine. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 60(8), pp.1180–1190.
- Kyle, D.C., 2014. Pathology Handbook: A guide to the interpretation of pathology tests. Sonic Heath Care, New South Wales.
- Lippi, G., Plebani, M. and Simundic, A.M., 2022. Preanalytical quality improvement: recent advances and future directions. *Biochemia Medica*, 32(2), pp.020701.
- Lorque, L.L.V., Bonifacio, K.A.M., Padilla, I.G., Panganiban, M.I.S., Persia, A.G.A., Tsai, R.D. and Mabbagu, R.M., 2023. A narrative review on preanalytical sample errors in hematology laboratories. *Asian Journal of Biological and Life Sciences*, 12(2), pp.230–236.
- Mishra, P., Singh, R. and Gupta, V., 2023. Preanalytical errors in a hematology laboratory: experience from a tertiary care center. *Cureus*, 15(2), e35000.
- Plebani, M. and Sciacovelli, L., 2021. Quality indicators for laboratory medicine and patient safety. *Clinica Chimica Acta*, 515, pp.45–50.
- World Health Organization (WHO), 2024. *Haemoglobin Concentrations for the Diagnosis of Anaemia and Assessment of Severity: Updated Guidance*. Geneva: WHO.

## TENTANG PENULIS



**Atna Permana, AMAK, SKM, M.Biomed, Ph.D** lahir di Sumedang, pada 08 Februari 1970. Ia tercatat sebagai lulusan Universitas Indonesia juga lulusan Biomedecine MSU Malaysia. Pria yang kerap disapa Atna ini adalah anak dari pasangan Tarya Suryatna H (ayah) dan Erumyati (ibu). Pernah memimpin Laboratorium Klinik di

Rumah Sakit sehingga pengetahuan tentang Hematologi bukan hal yang asing. Email. [atnapermana@thamrin.ac.id](mailto:atnapermana@thamrin.ac.id)



**dr. Ariza Julia Paulina, M.Biomed** lahir di Tembilahan, 17 Juli 1993. dr. Aulin merupakan alumni dari Fakultas Kedokteran Universitas Riau. dr. Aulin adalah Dosen di Departemen Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Riau. dr. Aulin merupakan seorang dokter dan akademisi yang memiliki ketertarikan dalam

bidang biomedis, hematologi, imunologi, sel punca mesenkimal, dan bioinformatika. dr. Aulin aktif dalam kegiatan akademik, penulis buku, penelitian, pengabdian, serta pengembangan ilmu kesehatan. dr. Aulin dapat dihubungi via email: [arizajuliapaulina@lecturer.unri.ac.id](mailto:arizajuliapaulina@lecturer.unri.ac.id)



**Assoc. Prof. Harliansyah, Ph.D. Med.Biochem**, adalah dosen senior di bidang biomedik dengan keahlian pada biokimia fungsional, metabolisme protein, stres oksidatif, dan proses penuaan. Bertugas sebagai dosen tetap Sekolah Pascasarjana Biomedik Universitas YARSI. Pendidikan doctoral (Ph.D) pada Department of

Biochemistry, Faculty of Medicine, National University of Malaysia lulus 2009. Aktif melakukan penelitian terkait metabolisme enzim dan stres oksidatif pada kehidupan sel kanker serta aktif mengembangkan bahan ajar dan buku referensi yang menjembatani

konsep dasar biomedik dengan aplikasi klinis. Presentasi ilmiah yang diikuti diantaranya, The 4th Basic and Applied Science (BASC) 2025, Jakarta. International Conference on Antioxidant and Degenerative Diseases (ICADD). Kuala Lumpur Malaysia, 18-19 Juli 2018. Takeda 19th Scientific Symposium on Bioscience Osaka Japan, 20-21 January 2017. International Conference on the Bioscience of Lipids. Robert Gordon University Aberdeen, Scotland. UK 21-23 Juni 2014. The 12th Biennial Meeting of the Society for Free Radical Research International. Buenos Aires, Argentina Organized by SFRR. 5-9 Mei 2004. Training pada Laboratoire de Genetique Cellulaire et Moleculaire (LGCM), Universite de Poitiers Cedex, France. 27-29 Juni 2014 Workshop on Micronutrients and Health. 5th UNESCO/COSTAM/Society for Free Radical Research (ASEAN- MALAYSIA), Kota Kinabalu Sabah Malaysia. 16-20 Juli 2003 di bawah bimbingan Prof. Lester Packer. Kursus Enzimologi dan magang penelitian Isolasi dan Karakterisasi Enzim Penisilinasilase dari *B megaterium* di bawah bimbingan Prof. Oei Ban Liang dan Dr. Soetijoso Soemitro di PAU Bioteknologi ITB 29 Juni - 15 Agustus 1992. Selain mengajar, juga berperan sebagai pembimbing tugas akhir mahasiswa S1, S2 dan S3 ilmu Kedokteran Dasar dan Sains Biomedik serta pembimbing peneliti muda dan dosen junior di bidang biomedik penuaan. Telah menulis 57 jurnal ilmiah serta 26 buku diantaranya: Metode dan Protokol Biomolekular (2022), Penuaan dan Aspek Molekular (2024). Penulis Bersama untuk Buku Ajar Biomedik (2023), Nekrosis dan Apoptosis (2025), Immunobiologi (2025), Radiofarmasi dan Kemoterapi (2025), Sitopatologi (2025), Genetika Modern di Era Genomik (2025), Biokimia Medik dan Kimia Klinik (2025), Biomedik Fisioterapi (2025), Bioneuropsikologi (2025). Oksidan Antioksidan, (2025), Metabolisme Kanker (2025), Enzimologi (2026), Neurotransmitter (2026), Biomedik Dasar Kesehatan Masyarakat (2026) dan Hematologi (2026).



**dr. Muniroh, Sp.PK** lahir di Jakarta, pada 26 Maret 1977. Ia tercatat sebagai lulusan Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran Bandung untuk program sarjana kedokteran dan profesi dokter, kemudian melanjutkan pendidikan spesialis di Departemen Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Saat ini beliau sedang melanjutkan pendidikan Program Doktor (S3) di Pascasarjana UIN Syarif Hidayatullah dengan konsentrasi Agama dan Kedokteran. Muniroh merupakan anggota PDS Patologi Klinik Cabang Banten dan IDI Cabang Jakarta. Saat ini beliau bekerja sebagai dokter penanggung jawab laboratorium RS Sari Asih Cipondoh, RS Islam Sari Asih Ar Rahmah, dan dosen Patologi Klinik di Fakultas Kedokteran UIN Syarif Hidayatullah Jakarta. Email: dr.muniroh@gmail.com dan dr.muniroh@uinjkt.ac.id.



**dr. Yona Mimanda, Sp.PK, MARS** lahir di Lubuk Sikaping, Sumatera Barat, pada 24 Januari 1983. Ia menyelesaikan pendidikan dokter umum di Universitas Padjadjaran-RSUP Dr. Hasan Sadikin, kemudian melanjutkan pendidikan dokter spesialis Patologi Klinik di Universitas Indonesia-RSCM. Saat ini, ia sedang menempuh pendidikan doktor (S-3) di Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Wanita yang kerap disapa Yona ini adalah Istri dari Sulaiman Haikal dan Ibu dari 2 Anak. Saat ini bertugas sebagai dosen di Fakultas Kedokteran UIN Sayrif Hidayatullah Jakarta. Email: yona.mimanda@uinjkt.ac.id



**Dr. dr. Fachriani Putri., MKM** atau akrab disapa dr. Yani, merupakan dokter dan akademisi yang memiliki perhatian besar terhadap isu kesehatan masyarakat, khususnya kesehatan reproduksi. Penulis lahir di Riau, dan menempuh pendidikan dasar hingga SMA kelas 1 di daerah kelahirannya. Dan menyelesaikan SMA nya di

Medan sebelum melanjutkan studi kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara (1988–1994). Gelar Magister Kesehatan Masyarakat diperolehnya dari Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Indonesia (2005–2007), dan gelar Doktor diperolehnya dari Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat, dan Keperawatan Universitas Gadjah Mada (2019–2023). Setelah bertugas sebagai Dokter PTT (1995–1997) di Kabupaten Deli Serdang, Sumatera Utara, penulis kembali ke Riau dan memulai pengabdian sebagai Pegawai Negeri Sipil di Dinas Kesehatan Kabupaten Indragiri Hulu (1998–2001). Pengalaman birokrasi diperolehnya di Dinas Kesehatan Kota Pekanbaru (2002–2017). Jabatan terakhirnya adalah Kepala Bidang Promosi Kesehatan, yang membawanya terlibat langsung dalam berbagai program intervensi kesehatan masyarakat, termasuk advokasi, edukasi, dan pemberdayaan komunitas di tingkat akar rumput. Sejak tahun 2017, penulis bergabung sebagai dosen tetap di Fakultas Kedokteran Universitas Riau, di bagian Ilmu Kesehatan Masyarakat–Kedokteran Komunitas. Di lingkungan akademik, penulis aktif dalam pengajaran, penelitian, dan pengabdian masyarakat, dengan fokus pada kesehatan reproduksi, promosi kesehatan, dan determinan sosial kesehatan. Di luar aktivitas profesional, dr. Yani adalah seorang ibu dari dua orang putri dan nenek dari satu orang cucu. Ia menyukai travelling dan fotografi, lalu menuangkan pengalaman perjalanannya dalam tulisan pendek berjudul Jejak Mata. Baginya, setiap perjalanan adalah pelajaran, dan setiap interaksi dengan masyarakat adalah refleksi pengabdian seorang dokter.

*Email: [fachriani.putri@lecturer.unri.ac.id](mailto:fachriani.putri@lecturer.unri.ac.id)*



**Dr. Sabarina Elfrida Manik, A.MAK., SKM., M.Pd** Ketertarikan penulis terhadap ilmu Bekerja sebagai tenaga Laboratorium Kesehatan di RSUD UKI tahun 1991. Pada tahun 2006 silam membuat penulis memilih untuk masuk sebagai tenaga pengajar ke Sekolah Menengah Kejuruan asisten Laboratorium Medis. Tahun 2012 melanjutkan tingkat pendidikan ke D3 di POLTEKKES KEMENKES BANDUNG prodi Ahli Teknologi Laboratorium Medis (ATLM) dan berhasil lulus pada tahun 2014. Dua tahun kemudian, penulis menyelesaikan studi S1 K3 di prodi Kesehatan Masyarakat di Universitas Respati Indonesia dan menyelesaikan pendidikan tahun 2016. . Kemudian, pada tahun 2017 penulis melanjutkan studi magister pendidikan MIPA di Universitas Persatuan Guru Republik Indonesia (PGRI) kemudian lulus pada tahun 2019 dan menjadi dosen di Universitas Binawan Prodi D4 TLM. 2022 melanjutkan S3 Program Doktor BIOMEDIS di Universitas YARSI



**dr. Yulia Nadar Indrasari, SpPK, Subsp. H.K.(K)** lahir di Surakarta, pada tahun 1982. Ia tercatat sebagai lulusan dokter spesialis patologi klinik, dan subspesialis hematologi klinik dari Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Surabaya. Penulis adalah staf pengajar divisi hematologi, Departemen Patologi Klinik FK UNAIR, RSUD Dr. Soetomo, Surabaya. Saat ini sedang menempuh program pendidikan doktor ilmu kedokteran FK UNAIR, Surabaya.  
Email: [yulia.nadar@fk.unair.ac.id](mailto:yulia.nadar@fk.unair.ac.id)



**dr. Esa Indah Ayudia, M.Biomed** **dr. Esa Indah Ayudia, M.Biomed.** adalah Dosen di Program Studi Pendidikan Dokter di Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Jambi. Bidang kepakaran: Kedokteran dan Kesehatan, dengan fokus penelitian di bidang Biomedis. Mengampu mata kuliah Kelainan Hematologi, Kelainan Imunologi, Infeksi Tropis dan Emerging Disease. Email: esa\_indah.at@unja.ac.id



**Zulfikar Husni Faruq, M.Si** lahir di Metro, pada 25 Juli 1989. Ia tercatat sebagai lulusan D3 Poltekkes Kemenkes Tanjung karang dan D4 Poltekkes Kemenkes Yogyakarta dan melanjutkan S2 Teknologi Biomedis, Universitas Indonesia. Saat ini bekerja sebagai Dosen di Poltekkes Kemenkes Yogyakarta dan fokus di bidang Hematologi dan Mutu Laboratorium. Email: Faruq@poltekkesjogja.ac.id



**Prof. Dr. dr. Pusparini, Sp.PK, Subsp. K.V.(K)** saat ini bertugas di Fakultas Kedokteran Universitas Trisakti di Departemen Patologi Klinik. Ia mengabdikan di Universitas Trisakti sejak tahun 1995 sebelumnya dari dinas di Bantul sebagai dokter pegawai tidak tetap selama 3 tahun. Pendidikan dokter ditempuh di FK Universitas Trisakti, lulus tahun 1991, kemudian melanjutkan pendidikan spesialis Patologi klinik di FKUI, lulus tahun 2000. Jenjang doctoral ditempuh di FKUI, lulus tahun 2012. Email :pusparini@trisakti.ac.id



**dr. Budiono Raharjo, Sp.PK, Subsp H.K(K)** lahir di Surabaya, pada 25 Oktober 1981. Ia tercatat sebagai lulusan S1 Fakultas Kedokteran Universitas Wijaya Kusuma Surabaya, Sp1 Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, Sp2 Konsultan hematologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya. Beliau masih menempuh pendidikan kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya. Pria yang kerap disapa Budi ini adalah suami dari dr Stephani Linggawan, SpTHT-KL dan mempunyai anak tiga yaitu Yohanes Timothy Raharjo, Eunike Imanuela Raharjo dan Kezia Lie Raharjo. Beliau adalah staff pengajar dari Fakultas Kedokteran Universitas Wijaya Kusuma Surabaya. Email: dr.budi.sby81@gmail.com (google scholar); budiono.raharjo@uwks.ac.id (Insitusi)



**Dr. apt. Ifora, M.Farm** lahir di Tanjung Pauh Mudik pada 3 Februari 1990. Penulis adalah dosen tetap di Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Padang. Ia menyelesaikan pendidikan Sarjana Farmasi (2012) dan Magister Farmasi dengan peminatan Farmasi Klinis, serta meraih gelar Doktor Farmasi dari Fakultas Farmasi Universitas Andalas pada tahun 2025. Sejak 2015, penulis mengampu mata kuliah Patofisiologi dan Farmakologi. Bidang keilmuan yang ditekuni meliputi farmakologi, farmasi klinis, dan pengembangan obat berbasis bahan alam, khususnya sebagai agen antikanker.



**Dr. dr. Ika Kurnia Febrianti, SpPD** lahir di Bukittinggi, pada 4 Februari 1984. Ia tercatat sebagai lulusan Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang. Wanita yang kerap disapa Ika ini adalah anak dari pasangan Amri B. (Alm) (ayah) dan Dasnina (ibu). **Ika Kurnia Febrianti** aktif menjadi salah seorang dosen di Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, dan juga memberikan pelayanan pada bidang Ilmu Penyakit Dalam di Rumah Sakit Universitas Andalas Padang. Email: [ika@med.unand.ac.id](mailto:ika@med.unand.ac.id)



**Dr. Yvonne Marthina, SpA** lahir di Jakarta pada 23 Maret 1980. Ia merupakan alumni FK Universitas Krida Wacana (UKRIDA) angkatan 1998 yang menyelesaikan Pendidikan Spesialis Anak di *Univeristy of the East Ramon Magsaysay Memorial Medical Center (UERMMCI)*, Filipina dan program adaptasinya di Universitas Padjajaran pada tahun 2012. Saat ini dr. Yvonne merupakan staff pengajar Ilmu Kesehatan Anak di almamaternya, FKIK UKRIDA. Email :[yvonne.m@ukrida.ac.id](mailto:yvonne.m@ukrida.ac.id)



**Dr. dr. Tri Ariguntar Wikanningtyas, Sp.PK** lahir di Solo, pada 20 Juli 1970. Lulus dokter dari fakultas kedokteran Universitas hasanuddin, Makassar dan lulus spesialis Patologi Klinik dari fakultas kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta. Ibu dari 3 orang anak laki-laki dan saat ini bekerja sebagai dosen di Fakultas Kedokteran dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Jakarta serta berpraktek di Rumah Sakit Swasta di Kota Bekasi.