

GAMBARAN BADAN INKLUSI HbH PADA SUSPEK THALASEMIA DI RUMAH SAKIT PTPN SUBANG

Yane Liswanti' Nisa Fitriani

Program Studi D-III Analis Kesehatan
STIKes Bakti Tunas Husada Tasikmalaya

ABSTRAK

Badan inklusi HbH merupakan β 4-tetramer yang mengendap dan merusak pada membrane sel darah merah sehingga menyebabkan hemolisis. Tidak terbentuknya rantai α sehingga rantai β tidak memiliki pasangan dan kemudian membentuk tetramer dari rantai β sendiri maka terbentuklah badan inklusi HbH. Dengan banyak terbentuk HbH, maka HbH dapat mengalami presipitasi dalam eritrosit sehingga dengan mudah eritrosit dapat dihancurkan

Dalam penelitian ini menggunakan metode deskriptif. Pemeriksaan badan inklusi HbH ini memakai metode brilliant cresyl blue 1 %, tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui badan inklusi HbH pada suspek thalasemia di Rumah Sakit PTPN Subang.

Pada hasil pengamatan didapat bahwa 8 dari 43 sampel yang positif badan inklusi HbH dan 35 dari 43 sampel negatif badan inklusi HbH.

Jadi hasil penelitian terhadap badan inklusi HbH dalam sediaan apus darah pada pasien suspek thalasemia yang berada di Rumah Sakit PTPN Subang yang positif badan inklusi HbH sebanyak 8 sampel (19%) sedangkan 35 sampel (81%) yang negatif.

Kata Kunci : HbH, suspek thalasemia

BAB I PENDAHULUAN

Kelainan darah merupakan suatu kelainan fungsi atau perilaku darah dalam tubuh karena hal-hal tertentu, misalnya diakibatkan oleh virus, genetik atau kurangnya zat tertentu yang dibutuhkan oleh darah. Kelainan dan penyakit pada sistem peredaran darah dapat disebabkan oleh faktor keturunan atau genetis. Adanya kerusakan pada sistem peredaran darah, dan faktor-faktor lain yang belum diketahui. Kelainan dan penyakit tersebut antara lain: Anemia, thalasemia, hemophilia, leukemia, lekopenia,

hipertensi, dan coronariasis (Saktiyono, 2004: 131).

Di Indonesia thalasemia merupakan penyakit terbanyak di antara golongan anemia hemolitik dengan penyebab intrakorpuskuler. Thalasemia merupakan penyakit anemia yang diturunkan. Thalasemia sering terdapat pada bayi dan anak-anak. Pada penderita thalasemia daya ikat sel darah merahnya terhadap oksigen rendah karena kegagalan pembentukan hemoglobin. Thalasemia dapat menyebabkan anemia ringan sampai berat dan terjadi penurunan produksi hemoglobin (Saktiyono, 2004: 132).

Suspek thalasemia rata-rata terjadi pada anak-anak, ditandai dengan adanya gejala anemia, antara lain pucat, kesulitan makan, infeksi berulang (Hikmat, 2008).

Insiden thalassemia dapat dicegah melalui pemeriksaan skrining (Total Solution Thalassemia), antara lain : riwayat keluarga penderita thalassemia , seseorang dengan gejala anemia atau thalassemia, pasangan usia subur (Panel Premarital), ibu hamil (Diagnosis Prenatal), hasil pemeriksaan Hb ≤ 12 g/dl, hasil pemeriksaan ukuran sel darah merah lebih kecil dari normal, walaupun Hb normal (Hikmat, 2008).

Diagnosa thalasemia ditegakkan berdasarkan pada gejala klinik dan riwayat thalasemia dalam keluarga. Pemeriksaan untuk diagnosa thalasemia diantaranya: hematologi rutin, gambaran darah tepi, analisa hemoglobin, badan inklusi HbH, Ferritin, dan test presipitasi DCIP. Pada gambaran mikroskopik akan ditemukan sel eritrosit hipokrom mikrositik dengan retikulosit yang meningkat. Dengan pewarnaan supravital akan ditemukan badan inklusi HbH. Fungsi dilakukan pemeriksaan terhadap badan inklusi Hemoglobin H ini adalah untuk memastikan apakah ada tidaknya "*HbH disease*" pada seseorang (David Rubenstein, 2003: 361) .

Hemoglobin H adalah hemoglobin yang tidak stabil akan mengalami denaturasi oksidatif dan presipitasi jika eritrosit terpapar dengan zat warna *new methylene blue* atau *brilliant cresyl blue* dan

membentuk gambaran seperti "bola golf". Badan inklusi HbH dijumpai pada eritrosit penderita HbH dan thalassemia α -1 trait, (1/100 – 1/10.000 eritrosit) (Amatrajasa, 2012).

Hemoglobin H akan menyebabkan sel eritrosit mudah rusak karena terjadi mutasi atau defisiensi pada rantai alfa-globin atau beta-globin. Hemoglobin H memiliki afinitas oksigen yang tinggi dan juga tidak stabil dalam sirkulasi menimbulkan inklusi intraseluler yang merusak sel darah merah. Hal ini menyebabkan sel-sel darah merah memecah lebih cepat dari biasanya sehingga sel-sel darah merah kurang dalam tubuh. Hal ini menghasilkan anemia yang lebih parah (Frances, 1989: 63).

Untuk membedakan Hb rendah yang disebabkan karena anemia atau thalasemia maka dari itu dilakukan pemeriksaan badan inklusi HbH.

BAB II RUMUSAN MASALAH

Berdasarkan dari latar belakang tersebut maka dapat diambil rumusan sebagai berikut : Apakah ditemukan HbH pada suspek thalasemia?

BAB III TINJAUAN PUSTAKA

A. Darah

1. Pengertian Darah

Darah adalah jaringan cair yang terdiri atas dua bagian. Bahan interseluler adalah cairan yang disebut plasma dan di dalamnya terdapat unsur-unsur padat, yaitu sel darah. Volume

darah secara keseluruhan kira-kira satu per dua belas berat badan atau kira-kira 5 liter. Sekitar 55 persennya adalah cairan, sedangkan 45 persen sisanya terdiri atas sel darah. Angka ini dinyatakan dalam nilai hematokrit atau volume sel darah yang dipadatkan yang berkisar antara 40 sampai 47. Viskositas darah lebih kental daripada air yaitu: mempunyai BJ 1,041-1,067 dengan temperature 38° C dan pH 7,37-7,45 (E. Pearce, 1997 : 133 ; Syaifuddin, 1997 : 59).

Jika darah dilihat begitu saja maka ia merupakan zat cair yang warnanya merah, tetapi apabila dilihat di bawah mikroskop maka nyatalah bahwa dalam darah terdapat benda-benda kecil bundar yang disebut sel-sel darah. Sedangkan cairan yang berwarna kekuning-kuningan disebut plasma (Syaifuddin, 1997 : 59).

2. Bagian-Bagian Darah

Sel darah terdiri atas tiga jenis:

a. Eritrosit atau sel darah merah.

b. Leukosit atau sel darah putih.
c. Trombosit atau butir pembeku.

Komposisi darah dapat diperoleh dengan cara memutar darah dalam suatu tabung dengan kecepatan tinggi. Proses pemutaran darah tersebut dinamakan sentrifugasi. Dari hasil sentrifugasi, darah akan terpisah menjadi dua bagian, yaitu bagian bawah yang padat dan bagian atas berupa cairan. Cairan pada bagian atas adalah plasma darah (55%), sedangkan bagian bawah terdapat sel-sel darah (Rikky, dkk. 2001: 60).

Plasma darah mengisi sekitar 55% dari total volume darah. Salah satu fungsi plasma darah yaitu mengatur keseimbangan osmosis darah didalam tubuh. Pada manusia, plasma darah tersusun atas air (90%) dan bahan-bahan terlarut (10%). Berikut ini komposisi plasma darah beserta fungsinya (Rikky, dkk. 2001: 60).

Tabel 2.1
Komposisi Plasma Darah

No	Kandungan Plasma Darah	Fungsi
1	Air	Pelarut zat zat lain
2	Protein a. Albumin b. Globulin (alfa, beta, gama)	Mempertahankan keseimbangan air pada darah dan jaringan : mengatur volume darah. Membantu transfortasi lemak, vitamin, dan hormon: pertahanan tubuh (antibodi).

	c. Protein penggumpal darah (fibrinogen dan protombin)	Berperan dalam proses penggumpalan darah.
3	Garam-garam (ion-ion), seperti natrium, kalium, kalsium, magnesium, klorida, dan bikarbonat	Penyeimbang tekanan osmosis, mempertahankan pH (buffer), fungsi syaraf dan otot, dan mengatur permeabilitas membran sel
4	Nutrien, seperti glukosa, asam amino, dan asam lemah	Digunakan oleh sel, makanan cadangan, atau diuraikan
5	Hormon	Mempengaruhi aktivitas organ yang dituju

Sumber: Rikky, dkk: 2001

3. Fungsi darah

Darah dalam sistem peredaran darah memiliki fungsi sebagai berikut:

- a. Mengedarkan sari makanan (nutrisi) dari sistem pencernaan makanan ke seluruh sel -sel tubuh
- b. Transportasi oksigen dari paru-paru ke sel-sel seluruh tubuh, dan transportasi karbondioksida dari sel-sel seluruh tubuh ke paru-paru
- c. Pengangkutan sisa metabolisme dari sel-sel tubuh ke organ ekskresi (pengeluaran)
- d. Pengangkutan hormon dari kelenjar endokrin ke sel-sel atau jaringan target
- e. Membantu keseimbangan cairan tubuh
- f. Membantu dalam mengatur suhu tubuh (Rikky, dkk, 2001: 60).

Seperti yang sudah disebutkan sebelumnya bahwa jumlah sel darah merah kira-kira 5 juta per-milimeter kubik darah pada rata-rata orang dewasa dan

berumur 120 hari. Keseimbangan yang tetap dipertahankan antara kehilangan dan penggantian sel darah setiap hari. Pembentukan sel darah merah dirangsang oleh hormon glikoprotein, eritropoetin, yang dianggap berasal dari ginjal. Pembentukan eritropoetin dipengaruhi oleh hipoksia jaringan yang dipengaruhi oleh faktor-faktor seperti perubahan O₂ atmosfer, berkurangnya kadar O₂ darah arteri, dan berkurangnya konsentrasi hemoglobin (Sylvia A dan Wilson L, 1995 : 232).

B. Hemoglobin

1. Pengertian Hemoglobin

Hemoglobin ialah protein yang kaya akan zat besi. Ia memiliki afinitas (daya gabung) terhadap oksigen dan dengan oksigen itu membentuk oksihemoglobin di dalam sel darah merah. Dengan melalui fungsi ini maka oksigen dibawa dari paru-paru ke jaringan-jaringan. Disamping oksigen, hemoglobin juga membawa karbondioksida dan dengan

karbon monoksida membentuk ikatan karbon monoksihemoglobin (HbCO), juga berperan dalam keseimbangan darah (E. Pearce, 1997 : 134 : Tarwoto dan Wartonah, 2008 : 12).

2. Reaksi Hemoglobin dengan O₂ dan CO₂

Pengikatan O₂ dan CO₂ ini dikerjakan oleh hemoglobin yang telah bersenyawa dengan O₂ disebut oksihemoglobin (Hb + O₂ → HbO₂) jadi O₂ diangkat dari seluruh tubuh sebagai oksihemoglobin yang nantinya setelah tiba di jaringan, akan dilepaskan HbO₂ → b + O₂ dan seterusnya Hb tadi akan mengikat dan bersenyawa dengan CO₂ dan disebut karbondioksida hemoglobin (Hb + CO₂→ HbCO₂) yang mana CO₂ tersebut akan dilepaskan di paru-paru (Syarifuddin, 1997 : 59).

3. Pembentukan Hemoglobin

Pembentukan Hemoglobin terjadi pada sumsum tulang melalui semua stadium pematangan. Sel darah merah memasuki sirkulasi sebagai retikulosit dari sumsum tulang. Retikulosit adalah stadium terakhir dari perkembangan sel darah merah yang belum matang dan mengandung jala yang terdiri dari serat-serat reticular. Sejumlah

kecil hemoglobin masih dihasilkan selama 24 sampai 48 jam pematangan, retikulum kemudian larut dan menjadi sel darah merah yang matang. Waktu sel darah merah menua, sel ini menjadi lebih kaku dan rapuh, akhirnya pecah. Hemoglobin difagositosis terutama di limpa, hati, dan sumsum tulang, kemudian direduksi menjadi globin dan hem, globin masuk kembali ke dalam sumber asam amino. Besi dibebaskan dari hem dan sebagian besar diangkut oleh protein plasma transferin ke sumsum tulang untuk pembentukan sel darah merah yang baru. Sisa besi disimpan di dalam hati dan jaringan tubuh lain dalam bentuk feritin dan hemosiderin, simpanan ini akan digunakan lagi di kemudian hari. Sisa hem direduksi lagi menjadi karbon monoksida (CO) dan biliverdin. CO ini diangkut dalam bentuk karboksi hemoglobin, dan dikeluarkan melalui paru-paru (Sylvia A dan Wilson L, 1995 : 232).

C. Hitung Sel Darah Merah

Menghitung sel darah merah dalam volume yang kecil dari darah yang sudah sangat diencerkan tidak akurat dan jarang dilakukan. Hitung sel darah merah dilakukan secara

langsung dan akurat oleh penghitung elektronik untuk memberikan hasil yang dapat diandalkan dan *reproducible*. Instrumen-instrumen ini deprogram untuk memberikan secara cepat hasil perhitungan indeks-indeks korpuskuler, yang sekarang menjadi bagian rutin dari hitung darah lengkap (Ronald A, dan Richard A. 2004: 42)

Volume sel rerata (MCV), Hemoglobin sel rerata (MCH), dan konsentrasi hemoglobin sel rerata (MCHC) kadang-kadang disebut sebagai “nilai sel darah merah absolute” dan dihitung dari hematokrit, perkiraan hemoglobin, dan hitung sel darah merah. Angka-angka ini telah digunakan secara luas dalam klasifikasi anemia. Dengan menggunakan metode otomatis, angka-angka absolute dihitung secara simultan dengan angka-angka perhitungan, dengan pengecualian hematokrit, yang juga merupakan angka perhitungan pada instrument otomatis. Kadar hemoglobin atau hematokrit sering digunakan untuk menyatakan derajat anemia . Keduanya biasanya memiliki hubungan yang tetap ialah satu satuan hemoglobin dalam gram per desiliter setara dengan tiga satuan hematokrit dalam angka persentase. Apabila ukuran dan bentuk eritrosit abnormal atau terjadi gangguan pembentukan

hemoglobin, rasionya mungkin tidak lagi proporsional.

Indeks korpuskulernya meliputi:

- a. Volume Sel Rerata (MCV)
Besaran ini mencerminkan volume rata-rata sel darah merah. Dengan penghitung elektronik, MCV dihitung secara langsung, tetapi MCV dapat dihitung dengan membagi hematokrit dengan hitung sel darah merah yang dinyatakan dalam juta per mikroliter dan dikali 1000. Jawabannya dinyatakan dalam femtoliter (fL) per sel darah merah ($fL = 10^{-15}$ liter).
- b. Hemoglobin Sel Rerata (MCH)
Besaran ini dihitung secara otomatis pada penghitung elektronik tetapi juga dapat ditentukan apabila hemoglobin dan hitung sel darah merah diketahui. Besaran ini dinyatakan dalam pikogram ($pg = 10^{-12}$ gram) dan dapat dihitung dengan membagi jumlah hemoglobin per liter darah dengan jumlah sel darah merah per liter.
- c. Konsentrasi Hemoglobin Sel Rerata (MCHC)
Besaran ini juga dihitung dengan penghitung elektronik setelah pengukuran hemoglobin dan penghitungan hematokrit. MCHC dapat ditentukan secara manual dengan membagi hemoglobin per desiliter darah dengan hematokrit

(Ronald A, dan Richard A. 2004: 43)

D. Anemia

Anemia merupakan penurunan konsentrasi hemoglobin dan juga dapat ditimbulkan oleh penurunan masa sel darah merah sehingga kapasitas darah mengangkut oksigen menurun untuk memenuhi kebutuhan jaringan. Pengurangan masa sel darah merah ini dapat terjadi apabila produksi sel darah merah terganggu atau apabila destruksi atau hilangnya eritrosit melebihi kemampuan sumsum tulang menggantikan sel-sel ini (Ronald A dan Richard A, 2002 : 67).

Anemia dapat diklasifikasikan berdasarkan derajat hemoglobinisasi sel darah merah (hipokromik atau normokromik), ukuran sel darah merah (mikrositik, normositik, atau makrositik), atau kategori gangguan penyebab anemia. Terdapat tiga kategori utama:

1. Gangguan pembentukan sel darah merah
 - a. Penyakit defisiensi
 - b. Anemia hipoproliferatif (sumsum tulang yang fungsional berkurang atau tidak ada)
 - c. Eritropoiesis yang tidak efektif (anemia refrakter)
2. Kehilangan sel darah merah yang berlebihan

- a. Perdarahan
- b. Hemolisis
- c. Kelainan distribusi sel darah merah (Ronald A dan Richard A, 2002 : 67).

Gejala umum anemia disebut juga sebagai sindrom anemia. Gejala umum anemia adalah gejala yang timbul pada semua jenis anemia pada kadar hemoglobin yang sudah menurun sedemikian rupa dibawah titik tertentu. Gejala ini timbul karena anoksia organ target dan mekanisme kompensasi tubuh terhadap penurunan hemoglobin. Gejala-gejala tersebut apabila diklasifikasikan menurut organ yang terkena.

- 1) Sistem kardiovaskuler: lesu, cepat lelah, sesak napas saat beraktivitas, dan gagal jantung.
- 2) Sistem saraf: sakit kepala, pusing, telinga mendenging, mata berkunang-kunang, kelemahan otot, dan lesu.
- 3) Sistem urogenital: gangguan haid dan libido menurun.
- 4) Epitel : warna pucat pada kulit dan mukosa, elastisitas kulit menurun, serta rambut tipis dan halus (Wiwik handayani, 2008: 38)

E. Pewarnaan Supravital

Sifat pewarnaan pewarna digunakan untuk menunjukkan adanya hubungan umum jaringan satu sama

lain. Pewarnaan ini jelas terlihat pada sitoplasma sedangkan pada struktur sel lainnya tidak dapat dilihat. Pewarnaan sitologi yang dapat digunakan untuk menunjukkan struktur kecil dalam nucleus dan sitoplasma adalah:

1. Pewarnaan tidak langsung
2. Pewarnaan langsung
3. Pewarnaan progresif
4. Pewarnaan regresif
5. Pewarnaan vital
6. Pewarnaan supravital
7. Pewarnaan intravital (Ochei *et al.* 2000: 442).

Pewarnaan supravital adalah suatu metode pewarnaan yang digunakan dalam mikroskop untuk memeriksa sel-sel hidup dari suatu organisme (N. Chandler Foot. 2008: 259-267).

Apusan sel darah merah menggunakan pewarnaan supravital untuk melihat inklusi RNA pada sisa-sisa eritrosit imatur, pewarnaan supravital digunakan untuk mendeteksi Heinz bodies, badan inklusi HbH, dan hitung retikulosit (Jamie M and Harol Davis. 2012: 618).

Yang paling umum pewarnaan supravital dilakukan menggunakan metylen blue atau brilliant cresyl blue, yang memungkinkan untuk melihat pola retikulofilamentosa ribosom yang diendapkan dan terdapat sel darah merah hidup dengan menggunakan

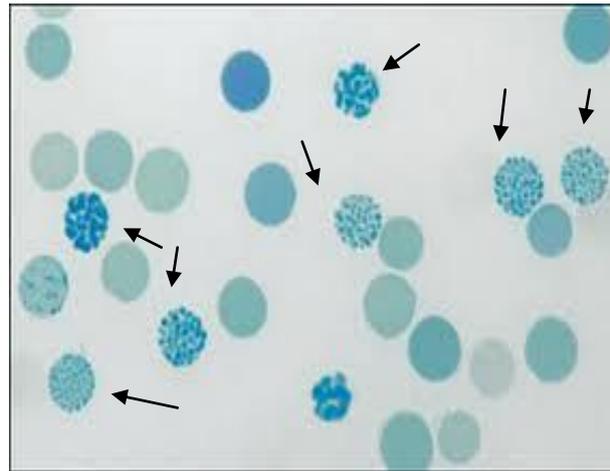
pewarnaan supravital. Dengan menghitung jumlah sel-sel tersebut laju pembentukan sel darah merah dapat ditentukan dan memberikan aktivitas ke sumsum tulang dan anemia (N. Chandler Foot. 2008: 259-267).

Pewarnaan supravital pada sel darah merah dengan brilliant cresyl blue yang digunakan untuk mendeteksi badan inklusi HbH. Test yang sederhana ini berguna dalam diagnosis α -thalasemia (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6261580>).

Kesalahan yang dibuat pada saat proses pewarnaan apusan darah dapat mengakibatkan kesalahan yang akurat pada kesimpulan diagnosis. Faktor-faktor yang dapat menimbulkan kesalahan seperti: konsentrasi yang salah, pewarnaan selama periode waktu yang salah, menggunakan alat yang kotor, terkontaminasi, dan noda yang mengkristal yang mungkin muncul untuk mewakili infeksi hematologi atau bisa disebut positif palsu (Jamie M and Harol Davis. 2012: 618).

F. Badan Inklusi HbH

Badan inklusi HbH merupakan β 4-tetramer yang mengendap dan merusak pada membrane sel darah merah sehingga menyebabkan hemolisis (Robert dan Samuel, 2003: 1515).



Gambar 2.1
Badan Inklusi HbH
Sumber: www.studyblue.com

Tidak terbentuknya rantai α sehingga rantai β tidak memiliki pasangan dan kemudian membentuk tetramer dari rantai β sendiri maka terbentuklah badan inklusi HbH. Dengan banyak terbentuk HbH, maka HbH dapat mengalami presipitasi dalam eritrosit sehingga dengan mudah eritrosit dapat dihancurkan (Robert & Samuel, 2003: 1515).

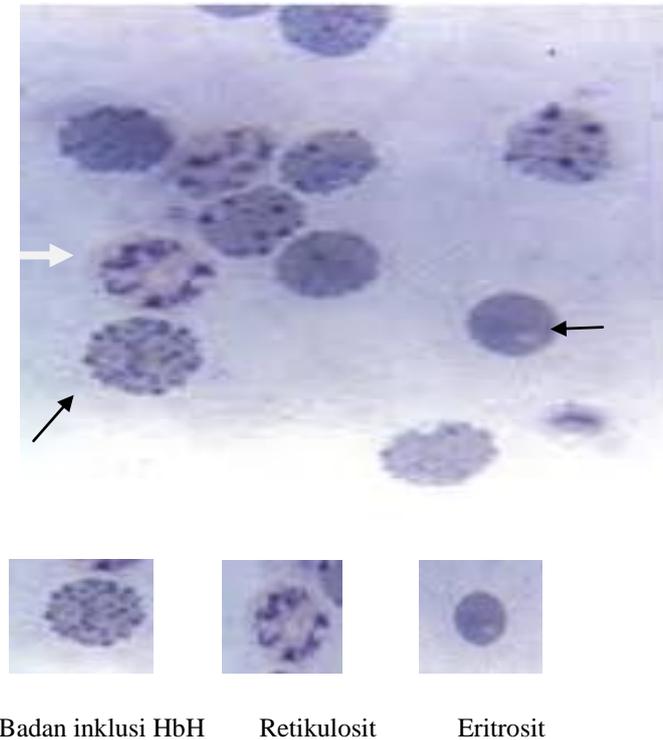
Di α -thalasemia penyakit HbH akan menghasilkan B4 tetramer yang lebih stabil daripada rantai agregasi alpha dan presipitasi lebih lambat. Oleh karena itu eritropoiesis yang tidak efektif tidak dapat diamati. Kehancuran sel intramedula dari eritroid precursor yang merupakan karakteristik dari homozigot β -thalasemia, beberapa inklusi HbH kadang-kadang terlihat disumsum tulang normoblast. Presipitasi tetramer B4 yaitu untuk membentuk badan

inklusi secara bertahap dan terjadi pada sel darah merah yang matang daripada di eritroid yang berinti di sel limpa. Badan-badan inklusi kemudian menghilang dengan demikian merusak sel darah merah sebelum splenektomy. Badan inklusi HbH akan muncul dan dapat didorong untuk diendapkan dalam bentuk kecil setelah diinkubasi invitro dengan menggunakan senyawa oksidan Brilliant Cresyl Blue (Robert dan Samuel, 2003: 1515).

Brilliant Cresyl Blue merupakan pewarnaan supravital yang dapat mewarnai darah perifer. Sel darah merah yang dekat dengan tanda panah menunjukkan banyak distribusi inklusi yang merata, menyebar, menciptakan bola golf yang sempurna. Ini adalah badan inklusi HbH yang berasal dari α -thalasemia. Perbedaan antara badan inklusi HbH yang muncul seperti bola golf dengan menyebar dapat dilihat

dari retikulosit. Inklusi HbH diendapkan oleh tetramer globin β . Retikulosit, Heinz bodies, dan howell jolly bodies positif dengan brilliant cresyl blue. Retikulosit lebih gelap, lebih reticular, mengelompok,. Heinz bodies lebih besar dan tidak begitu

banyak. Howell jolly bodies biasanya inklusi tunggal. Inklusi ini muncul setelah 10 menit setelah diinkubasi pada suhu kamar, Dimana badan inklusi HbH memerlukan inkubasi pada 37 °C selama 1 atau 2 jam (C. Douglas, 2007: 16).



Badan inklusi HbH Retikulosit Eritrosit

Gambar 2.2
Inclusion body hemoglobin H

Sumber: asheducationbook.hematologylibrary.org

G. Thalasemia

1. Pengertian Thalasemia

Talasemia merupakan penyakit anemia hemolitik dimana terjadi kerusakan sel darah merah di dalam pembuluh darah sehingga umur eritrosit menjadi lebih pendek (kurang dari 100 hari). Penyebab kerusakan tersebut karena hemoglobin yang tidak normal (hemoglobinopati) (Ngastiyah, 2005 : 377).

Hemoglobinopati adalah kelompok kelainan resesif autosomal yang luas pada sintesis hemoglobin yang diantaranya termasuk anemia sel sabit (sintesis rantai β abnormal) dan talasemia (defisiensi atau tidak adanya sintesis rantai α atau β). Keduanya membentuk kelompok kelainan gen tunggal yang paling banyak ditemukan di dunia (David Rubeinsten, dkk. 2005 : 360).

2. Penyebab/ Patofisiologi Talasemia

Sindrom talasemia ditandai dengan penurunan kecepatan produksi rantai globin. Perbedaan antara sindrom dan varian hemoglobin yang menimbulkan penyakit adalah, bahwa pada sebagian besar kasus, semua rantai yang disintesis memiliki struktur normal namun jumlahnya berkurang (Ronald A. Sacher dan Richard A, 2004 : 93).

Penyebab anemia pada talasemia bersifat primer dan sekunder. Primer adalah berkurangnya sintesis HbA dan eritropoesis yang tidak efektif disertai penghancuran sel-sel eritrosit intramedular. Sedangkan yang sekunder karena defisiensi asam folat yang mengakibatkan bertambahnya volume plasma intravaskuler, hemodilusi, dan destruksi eritrosit oleh system retikuloendotelial dalam limpa dan hati. Penelitian biomolekuler menunjukkan adanya mutasi DNA pada gen sehingga produksi rantai alpha atau beta pada hemoglobin berkurang (Mansyoer A, 2001 : 497).

3. Klasifikasi Talasemia

Secara molekuler talasemia dibedakan atas :

a. Talasemia alpha (α)

Karena tiap individu sepasang autosom maka

individu normal mengandung empat gen α yang menghasilkan protein dalam jumlah yang sama. Pasien dengan talasemia α disebabkan karena penurunan sintesis globin α .

Rantai beta yang bebas akan membentuk tetramer yang tidak stabil (HbH) dan tetramer ini akan merusak sel-sel darah merah serta prekursorinya. Rantai gamma yang bebas akan membentuk tetramer yang stabil (Hb Barts) dan tetramer ini mengikat oksigen dengan kekuatan (aviditas) yang berlebihan sehingga terjadi hipoksia jaringan (Mitchell, dkk. 2006: 367).

Ada empat gen yang terlibat dalam pembentukan rantai hemoglobin alfa, dua diantaranya didapatkan dari masing-masing orang tua sebagai penyumbangnya. Kalau satu atau lebih dari hemoglobin alfa tidak sempurna, dapat mengakibatkan thalasemia yang berbeda tingkat keparahannya, sebagai berikut:

- 1) Satu gen rusak, tidak ada yang menonjol. Penderita disebut sebagai pembawa sifat (Thalasemia trait)

- 2) Dua gen rusak, muncul gejala thalasemia ringan (minor).
 - 3) Tiga gen rusak, terjadi thalasemia sedang (intermedium) yang disebut juga sebagai penyakit hemoglobin H (hemoglobin H disease).
 - 4) Empat gen rusak, terjadi thalasemia berat (mayor) (Iskandar, 2009: 12).
- b. Talasemia beta (β)
- Talasemia β terjadi akibat penurunan atau tidak adanya rantai globin β , hal ini disebabkan karena adanya mutasi, Mutasi ini menyebabkan prematuritas rantai atau gangguan dalam transkripsi RNA dan dapat menyebabkan defek yang menyebabkan tidak adanya ekspresi rantai globin disebut β^0 (Mansyoer A, 2001 : 22 ; Tarwoto dan Wartonah, 2008 ; 61).
- Ada dua gen yang terlibat dalam pembentukan rantai hemoglobin beta, yang didapatkan dari masing-masing orang tua. Bila satu atau lebih dari hemoglobin beta itu yang tidak sempurna, terjadi gangguan thalasemia berikut:
- a. Satu gen rusak, terjadi thalasemia minor
 - b. Dua gen rusak, terjadi thalasemia mayor atau disebut juga sebagai cooleys anemia (Iskandar, 2009: 12)
 - c. Talasemia δ dan γ
Kelainan ini disebabkan oleh delesi gen δ atau gen γ . Mekanisme terjadinya diperkirakan karena persilangan tak seimbang. Talasemia δ dan γ tidak menimbulkan gejala-gejala klinis (asimptomatik) sehingga sebenarnya sulit disebut "talasemia". Gejala satu-satunya adalah kadar HbF yang lebih rendah pada darah tali pusat (Purnomo Suryohusodo, 2007 : 24).
- Secara klinis talasemia dibagi menjadi tiga golongan;
- a. Talasemia Mayor
Talasemia mayor atau sering disebut Cooley anemia, bentuk homozigot disertai anemia berat.
 - b. Talasemia intermedia
Merupakan jenis talasemia beta yang didapatkan adanya splenomegali, anemia sedang sampai berat.
 - c. Talasemia Minor

Talasemia minor atau trait atau disebut juga *Carrier* merupakan bentuk heterozigot, mikrositik anemia dan sering tanpa gejala (Tarwoto dan Wartonah, 2008 ; 59).

1. Gambaran Klinis

a. Talasemia Mayor

- 1) Penyakit talasemia β Mayor terjadi dalam usia satu tahun pertama dengan kegagalan tumbuh kembang dan anemia. Tanpa terapi yang efektif, biasanya penyakit ini diakhiri dengan kematian sebelum usia 10 tahun.
- 2) Pasien penyakit ini bergantung pada transfusi untuk mempertahankan kadar hemoglobin yang cukup bagi oksigenasi jaringan.
- 3) Jika dilakukan transfusi darah yang terus menerus akan terjadi penumpukan zat besi yang beresiko terhadap kegagalan fungsi jantung, ginjal, hati, gonad atau disebut hemokromatosis.
- 4) Talasemia mayor berciri khas diantaranya ; pucat, anemia, kurus,

hepatosplenomegali, ikterus ringan (mulai Nampak pada bayi berumur 3-6 bulan), pertumbuhan kerdil, hidung pesek tanpa pangkal hidung, jarak antara kedua mata lebar dan tulang dahi lebar (mongoloid), kulit pucat kekuningan, jika sering dilakukan transfuse warna kulit menjadi kelabu karena penimbunan besi pada jaringan kulit, adanya penyakit diabetes mellitus, sirosis hepatic, dan kegagalan gonad (WHO, 2007 : 142 ; Tarwoto dan Wartonah, 2008 : 59-60).

b. Talasemia Intermedia

Berbagai sindrom yang lebih ringan daripada talasemia mayor, dengan onset lebih lama, dan ditandai dengan anemia mikrositik hipokromik agak berat (Hb 6-10 g/dL), memerlukan sedikit transfuse atau tidak sama sekali (Atul Mehta dan Victor Hoffbrand, 2006 : 41).

c. Talasemia Minor

Talasemia minor ditandai dengan sel darah merah yang hipokromik dan kecil disertai dengan banyak sel target, *basophilic stippling*, dan peningkatan resistensi terhadap lisis osmotik. Namun anemianya ringan (kadar Hb biasanya 9-11 g/dL), dan eritropoesis hanya sedikit yang tidak efisien (Ronald A. Sacher dan Richard A, 2004 : 97).

BAB IV TUJUAN PENELITIAN

Untuk melihat adanya badan inklusi Hemoglobin H pada suspek talasemia.

BAB V METODE PENELITIAN

A. Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan bersifat deskriptif.

B. Teknik Pengumpulan Data

Data diperoleh dari hasil studi literatur, pengamatan dilapangan dan analisa dilaboratorium.

C. Instrumen

Tabel 5.1
Daftar Instrument yang Digunakan dalam Penelitian

No	Nama Alat	Spesifikasi	Jumlah
1	Botol reagen	Kaca berwarna coklat	3 buah
2	Botol semprot	Plastik	1 buah
3	<i>Clinipets</i>	50 ul	1 unit
4	<i>Deck glass</i>	-	55 buah
5	Gelas Kimia	100 ml	1 buah
7	Mikroskop	Binokuler	1 unit
8	<i>Objek glass</i>	-	55 buah
9	Rak Tabung	<i>Stainless Steel</i>	3 buah
10	Sput	3 ml	43 buah
11	Pencatat waktu (<i>timer</i>)	<i>Stopwatch</i>	1 buah
12	Tabung reaksi	Kaca	43 buah
13	Tip	kuning	55 buah
14	<i>Torniquet</i>	Karet	1 buah

D. Bahan

Tabel 5.2
Daftar Bahan yang Digunakan dalam Penelitian

No	Nama bahan	Spesifikasi	Jumlah
1	Alkohol	70%	Secukupnya
2	Brilliant Cresyl Blue (BCB)	1 %	@ 50 µl
3	Darah EDTA	Vena	@ 50 µl
4	EDTA	10 %	@30 µl
5	Imersi oil	-	Secukupnya
6	Kapas	-	Secukupnya
7	Label	Kecil	Secukupnya
8	NaCl	0,85 %	0,85 gram
9	Tissue	-	Secukupnya

E. Prosedur Kerja

1. Prinsip

HbH dengan pewarnaan supravital akan membentuk inklusi intra eritrosit. Pada Hb yang tidak stabil membentuk presipitasi apabila diinkubasi dengan pewarnaan tersebut dan bisa juga membentuk presipitasi berupa Heinz Bodies yang mempunyai ukuran besar, melekat pada membran dan dapat tunggal (Brown,BA. 111-116:1993).

2. Pembuatan Reagen

a. EDTA 10 %

- 1) Timbang 10 gram EDTA.
- 2) Larutkan dengan aquades dalam 100 ml.
- 3) Masukkan dalam botol reagen (Gandasoebrata, 2006 : 10).

b. Pembuatan NaCl 0,85 %

- 1) Timbang 0,85 gram NaCl
- 2) Larutkan dengan aquadest 100 ml
- 3) Masukkan dalam botol reagen berwarna coklat

c. Pembuatan Brilliant Cresyl Blue

- 1) Brilliant Cresyl Blue 1 gram
- 2) NaCl 0,85 % 100 ml

3. Pengambilan Sampel Darah Vena

- a. Torniquet dipasang beberapa inci di atas tempat penusukan, jangan

terlalu keras karena akan membuat pasien tidak nyaman.

- b. Pasien diminta untuk mengepalkan tangannya. Hal ini akan membuat pembuluh vena lebih jelas terlihat.
- c. Tempat penusukan dibersihkan dengan kapas beralkohol 70 %. Tempat penusukan tidak boleh disentuh lagi dengan jari atau apapun yang tidak steril.
- d. Jika menggunakan spuit, tarik pengisap ke atas dan ke bawah dalam tarikan satu atau dua kali untuk meyakinkan bahwa spuit tersebut tidak macet. Semua udara dikeluarkan dari spuit sebelum proses penusukan.
- e. Lengan pasien dipegang yaitu di bagian bawah tempat penusukan, kulit pasien ditarik kuat-kuat dengan ibu jari.
- f. Spuit dipertahankan oleh tangan yang berlawanan di antara ibu jari dan jari tengah. Jari diletakan berlawanan dengan pusat jarum sebagai penunjuk.
- g. Jarum sebaiknya menunjuk ke arah yang

sama dengan vena atau lebih baik segaris dengan vena, dan kurang lebih pada sudut 15° dari lengan.

- h. Vena dapat ditusuk di bawah tempat dimana vena itu terlihat. Vena yang menonjol dapat ditusuk dengan cepat satu kali penusukan. Jika venanya lebih dalam atau lebih sulit ditusuk, bila perlu jari telunjuk dapat digunakan untuk palpasi daerah penusukan untuk lebih meyakinkan kita sebagai lokasi vena yang tepat.
- i. Darah akan mulai mengalir ke dalam spuit ketika jarum telah masuk pembuluh vena. Diperlukan ketelitian ketika menarik pengisap. Jangan mengisap terlalu keras, hal ini dapat menyebabkan darah hemolisis. Bila kurang hati-hati jarum akan keluar dari vena.
- j. Torniquet dilonggarkan segera setelah darah masuk ke dalam spuit, pasien diminta untuk membuka kepalannya segera setelah darah mulai

mengalir. Tourniquet dilepaskan sebelum jarum dikeluarkan dari vena.

- k. Digunakan pembersih berupa kapas kering untuk menutup tempat penusukan. Jarum ditarik dengan cepat. Titik tusukan ditekan hingga beberapa menit sampai pendarahan berhenti.
 - l. Jika spuit telah digunakan, jarum dipisahkan sebelum mengeluarkan darah ke dalam tabung yang telah disediakan. Proses ini harus dilakukan dengan cepat sebelum darah mulai membeku (Brown, B. A., 1976 : 4-7).
4. Pembuatan Darah EDTA
 - a. Sediakan pial yang telah berisi 10 µl EDTA 10%.
 - b. Alirkan 1 ml darah vena ke dalam pial tersebut dari spuit tanpa jarum.
 - c. Tutuplah pial dan segera campur selama 60 detik (Gandasoebrata, 2006 : 10).
 5. Pemeriksaan Badan Inklusi HbH
 - a. Masukkan 50 µl larutan Brilliant Cresyl Blue (BCB) ke dalam tabung reaksi

- b. Tambahkan 50 µl darah ke dalam tabung tersebut kemudian homogenkan dengan cara menggoyang tabung
- c. Inkubasi selama 2-3 jam pada suhu 37 °C
- d. Setelah masa inkubasi selesai, homogenkan kembali campuran tersebut lalu ambil 20 µl untuk membuat sediaan apus dan biarkan kering di udara
- e. Periksa dengan perbesaran 100 x dan amati adanya sel HbH

Interpretasi hasil: Bila ditemukan badan inklusi HbH, kemungkinan thalasemia (Brown, BA. 1993: 111-116).

BAB VI HASIL PENELITIAN

A. Hasil Penelitian

Berdasarkan hasil penelitian pada pemeriksaan badan inklusi HbH terhadap 43 sampel suspek thalasemia di Rumah Sakit PTPN Subang, maka hasil penelitian dapat dilihat pada tabel 6.1 sebagai berikut :

Tabel 6.1
 Hasil pemeriksaan Badan Inklusi HbH pada Suspek Thalasemia di Rumah Sakit PTPN Subang

No	Kode Pasien	Umur	Hasil Pemeriksaan								Badan inklusi HbH
			Hb (g/dl)	Ket	MCV (fL)	Ket	MCH (pg)	Ket	MCHC (%)	Ket	
1	DD	25 th	5.9	M	67.0	M	20.4	M	30.4	M	(+) Positive
2	NB	2 th	9,4	M	76.7	M	27.4	N	35.7	M	(-) Negative
3	EK	50 th	9.2	M	67.0	M	21.0	M	31.3	N	(-) Negative
4	YY	40 th	8.5	M	83.3	N	28.3	N	34.0	N	(-) Negative
5	AB	8 th	9.8	M	61.0	M	19.0	M	31.2	M	(+) Positive
6	UM	22 th	8.9	M	84.0	N	28.2	N	33.5	N	(-) Negative
7	RT	55 th	6.8	M	85.0	N	27.6	N	32.5	N	(-) Negative
8	RK	16 th	9.0	M	63.0	M	19.5	M	31.0	N	(+) Positive
9	MD	34 th	9.2	M	84.7	N	28.1	N	33.2	N	(-) Negative
10	GG	47 th	7.0	M	58.0	M	17.7	M	30.7	M	(+) Positive
11	IT	24 th	6.7	M	65.0	M	19.8	M	30.7	M	(+) Positive
12	NN	31 th	4.3	M	61.0	M	19.2	M	31.2	N	(+) Positive
13	ML	22 th	10,3	M	67.1	M	21.5	M	32.0	N	(-) Negative
14	IN	12 th	8.2	M	71.0	M	23.3	M	32.6	N	(-) Negative
15	AK	54 th	9.6	M	61.0	M	19.0	M	31.1	N	(-) Negative
16	NA	28 th	6.2	M	74.8	M	21.4	M	28.6	M	(+) Positive

17	FH	18 th	7.1	M	51.0	M	14.3	M	28.3	M	(+) Positive
18	MN	41 th	6.5	M	89.0	N	30.5	N	34.2	N	(-) Negative
19	MK	45 th	8.1	M	60.0	M	18.0	M	30.1	M	(-) Negative
20	EK	26 th	8.5	M	71.1	M	21.6	M	30.4	M	(-) Negative
21	RN	13 th	5.4	M	68.6	M	19.1	M	27.8	M	(-) Negative
22	KI	47 th	3.0	M	77.0	M	26.8	N	35.0	N	(-) Negative
23	MO	55 th	7.4	M	69.0	M	22.9	M	32.9	N	(-) Negative
24	MM	17 th	7.4	M	89.0	N	30.5	N	34.3	N	(-) Negative
25	AK	5 th	9.2	M	62.0	M	18.4	M	29.9	M	(-) Negative
26	BL	44 th	9.5	M	75.3	M	22.1	M	29.5	M	(-) Negative
27	SO	39 th	7.6	M	78.5	M	26.8	N	34.1	N	(-) Negative
28	EH	54 th	4.9	M	86.1	N	28.3	N	32.9	N	(-) Negative
29	MS	61 th	7.1	M	65.6	M	21.5	M	32.7	N	(-) Negative
30	RS	11 th	7.1	M	74.0	M	24.5	M	33.0	N	(-) Negative
31	RH	42 th	8.4	M	76.0	M	24.8	M	32.7	N	(-) Negative
32	EI	33 th	8.5	M	88.0	N	30.4	N	34.6	N	(-) Negative
33	RN	37 th	8.8	M	89.0	N	30.6	N	34.4	N	(-) Negative
34	BA	3 th	8.9	M	75.0	M	24.6	M	32.9	N	(-) Negative
35	EA	6 th	3.9	M	66.0	M	22.1	M	33.3	N	(-) Negative
36	MM	25 th	9.7	M	62.0	M	19.1	M	31.0	N	(-) Negative
37	AD	20 th	8.2	M	76.0	M	24.5	M	32.2	N	(-) Negative
38	TS	33 th	9.4	M	63.0	M	20.8	M	32.7	N	(-) Negative
39	HN	24 th	9.5	M	75.0	M	25.1	M	33.4	N	(-) Negative
40	TY	30 th	8.9	M	71.0	M	23.9	M	33.5	N	(-) Negative
41	CH	48 th	5.8	M	74.0	M	25.7	M	34.9	N	(-) Negative
42	RK	19 th	8.8	M	73.0	M	24.4	M	33.5	N	(-) Negative
43	KD	35 th	4.6	M	77.0	M	27.8	N	36.2	N	(-) Negative

Keterangan :

N : Normal

M : Menurun

Nilai normal Hb : Laki-laki : 14-18 g/dl

: Perempuan : 12-16 g/dl

Nilai normal Volume Sel Rerata (MCV) : 80-98 fL

Nilai normal Hemoglobin Sel Rerata (MCH) : 26-32 pg

Nilai normal Konsentrasi Hemoglobin Sel Rerata (MCHC) : 32-36 %

B. Pengolahan Data

Persentase sampel yang menyatakan positive Badan Inklusi HbH pada Suspek Thalasemia adalah:

$$\begin{aligned} &= \frac{\text{Jumlah sampel yang positif}}{\text{Jumlah seluruh sampel}} \times 100 \% \\ &= \frac{8}{43} \times 100 \% \\ &= 19 \% \end{aligned}$$

Persentase sampel yang negative

$$\begin{aligned} &= \frac{\text{Jumlah sampel yang negatif}}{\text{Jumlah seluruh sampel}} \times 100 \% \\ &= \frac{35}{43} \times 100 \% \\ &= 81 \% \end{aligned}$$

Jadi dari 43 sampel yang berada di Rumah sakit PTPN Subang yang positive badan inklusi HbH sebesar 19 % (8 orang) sedangkan yang negative badan inklusi HbH sebesar 81 % (35 orang).

VII PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian terhadap gambaran badan inklusi HbH pada suspek thalasemia di Rumah Sakit PTPN Subang, dari 43 sampel didapat hasil yang positif sebesar 19 % (8 orang) sedangkan 81 % (35 orang) negative.

Pemeriksaan badan inklusi HbH merupakan salah satu pemeriksaan penunjang dalam menegakkan diagnosa Thalasemia, disamping pemeriksaan-pemeriksaan lainnya, seperti hematologi rutin, Gambaran Darah Tepi, ferritin, analisa Hb menggunakan HPLC, dan

presipitasi DCIP. Semua pemeriksaan tersebut memiliki keterkaitan hasil.

Pemeriksaan badan inklusi HbH yang positif terlihat pada pewarnaan supravital dengan menggunakan brilliant cresyl blue. Badan inklusi HbH ini merupakan β 4-tetramers yang mengendap dan merusak pada membran sel darah merah sehingga menyebabkan hemolisis, dan kadar hemoglobin menurun. Pada suspek thalasemia disertai dengan menurunnya kadar MCV, MCH, dan MCHC.

Tidak terbentuknya rantai α sehingga rantai β tidak memiliki pasangan dan kemudian membentuk tetramer dari rantai β sendiri (β 4) maka terbentuklah badan inklusi HbH. Dengan banyak terbentuk HbH, maka HbH dapat mengalami presipitasi dalam eritrosit sehingga dengan mudah eritrosit dapat dihancurkan.

Hemoglobin H akan menyebabkan sel eritrosit mudah rusak karena terjadi mutasi atau defisiensi pada rantai alfa-globin atau beta-globin. Hemoglobin H memiliki afinitas oksigen yang tinggi dan juga tidak stabil dalam sirkulasi menimbulkan inklusi intraseluler yang merusak sel darah merah. Hal ini menyebabkan sel-sel darah merah memecah lebih cepat dari biasanya sehingga sel-sel darah merah kurang dalam tubuh. Hal ini menghasilkan anemia lebih parah (Frances. 1989: 63).

Dari 8 pasien yang hasil badan inklusi HbHnya positif dan disertai pula

hasil Hb , MCV, MCH, dan MCHC menurun. Hasil positif HbH biasanya ditemukan pada tipe thalasemia α , Thalasemia β minor, atau pada thalasemia intermediet dan biasanya memiliki kelainan klinik yang ringan, seperti kulit agak pucat dan kadang juga ditemukan limpa sedikit membesar dan bahkan tanpa kelainan sama sekali.

Pada suspek thalasemia yang positive badan inklusi HbH sebaiknya melakukan diagnosis lebih lanjut untuk mengetahui dan membedakan jenis tipe penyakit thalasemia. Sampai saat ini pengobatan penyakit thalasemia belum ada, maka perlu dilakukan usaha pencegahan seperti dengan menghindari pernikahan pada penderita yang memiliki resiko terhadap thalasemia.

Sedangkan pada suspek thalasemia yang tidak ditemukan badan inklusi HbH diduga pasien tersebut tidak menderita thalsemia. Walaupun didapat hasil Hb, MCV, MCH, MCHC yang rendah bisa jadi menderita anemia mikrositer atau anemia makrositer .

VIII KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dari pemeriksaan badan inklusi HbH pada suspek thalasemia yang berada di Rumah Sakit PTPN Subang terdapat 19% (8 orang) yang positif badan inklusi HbH dan 81 % (35 orang) negatif badan inklusi HbH.

DAFTAR PUSTAKA

- Amatrajasa. *Anemia Pds Patklin*. <http://www.slideshare.net/amatrajasa/a/anemia-pds-patklin>. diakses pada tanggal 23 Maret 2013.
- Anonim. *Inclusion body hemoglobin H*. asheducationbook.hematologylibrary.org. diakses pada tanggal 24 Juli 2013.
- Anonim. *Badan Inklusi HbH*. www.studyblue.com. Diakses pada tanggal 24 Juli 2013.
- Anonim. *Supravital Staining*. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6261580>. Diakses pada tanggal 29 Juli 2013.
- Atul Mehta dan Victor Hoffbrand. *At a Glance Hematologi*, Ed.2, Erlangga, Jakarta, 2006.
- Brown, B. A, *Hematologi : Principles and Procedures*, LEA & FE, Philadelphia, 1976.
- C Douglas. *Wintrobe Atlas of Clinical Hematology*. Lippincot William. Philadelphia. 2007.
- David Rubenstein. *Kedokteran Klinis*, Ed.6. Erlangga. Jakarta. 2003.
- David Rubenstein, dkk. *Kedokteran Klinis*, Ed.6, Erlangga, Jakarta, 2005.
- E. Pearce. *Anatomi dan Fisiologi Untuk Paramedis*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. 1997.
- Frances. *Tinjauan Klinis atas Hasil Pemeriksaan Laboratorium*. Buku Kedokteran EGC. Jakarta. 1989.

- Gandasoebrata. *Penuntun Laboratorium Klinik*. Dian Rakyat. Jakarta. 2006.
- Hikmat. *The United Kingdom Thalassaemia Society*. Yayasan thalassaemia Indonesia. Jakarta. 2008.
- Iskandar. *Hidup Tegar Bersama Thalassaemia*. Majalah Smart Living Hidup Sehat Bersama Prodia; 21. 2009.
- Jamie M and Harol Davis. *Advanced Monitoring And Procedures For Small Animal Emergency An Critical Care*. John Wiley and Sons. 2012
- Kennet Lyen, dkk. *Apa yang Ingin Anda Ketahui tentang Merawat Balita: Satu sampai Lima Tahun*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. 2003.
- Mansyoer, A. *Kapita Selekta Kedokteran*, Ed.3, FKUI. Jakarta. 2001.
- Mitchell, dkk. *Buku Saku Patologi Klinik*. Buku Kedokteran EGC. Jakarta. 2006.
- N. Chandler Foot. *Annals of the New York Academy of Sciences* . Lippincot William. Philadelphia. 2008
- Ngastiyah. *Perawatan Anak Sakit*. EGC. Jakarta. 2005.
- Ochei *et al*. *Medical Laboratory Science: Theory and Practice*. Tata Mc Graw-Hill Education. 2000
- Purnomo Suryohudoyo. *Kapita Selekta Ilmu Kedokteran Molekuler*, Sagung Seto. Jakarta. 2007.
- Ronald A, dan Richard A. *Tinjauan Klinis Hasil Pemeriksaan Laboratorium*. Ed.11. EGC. Jakarta. 2002.
- Ronald A, and Richard A, *Tinjauan Klinis Hasil Pemeriksaan Laboratorium*, Ed.11, EGC, Jakarta, 2004.
- Rikky. *Mudah dan Aktif Belajar Biologi*. PT Grafindo Media Pratama. Jakarta. 2001.
- Robert dan Samuel. *Blood. Principles and Practice Of Hematology*. 2005. Lippincot William. Philadelphia. 2003.
- Saktiyono. *IPA Biologi Jilid 2*. ESIS. Jakarta. 2004.
- Syaifuddin. *Anatomi Fisiologi Untuk Siswa Perawat*, Ed.2. EGC. Jakarta. 1997.
- Sylvia A dan Wilson L. *Patofisiologi*. EGC. Jakarta. 1995.
- Tarwoto dan Wartonah. *Keperawatan Medical Bedah Gangguan Sistem Hematologi*. Trans Info Media. Jakarta. 2008.
- Wiwik Handayani. *Buku Ajar Asuhan Keperawatan dengan Gangguan Sistem Hematologi*. Buku Kedokteran EGC. Jakarta. 2008.
- WHO. *Thalassaemia Internasional Federation*. Nicosia. Cyprus. 1994.