

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Gagal Ginjal Kronik

a. Pengertian GGK

KDIGO (2024) mendefinisikan Chronic Kidney Disease (CKD) atau Gagal Ginjal Kronik (GGK) sebagai kondisi di mana terdapat abnormalitas struktur atau fungsi ginjal yang berlangsung ≥ 3 bulan, ditandai oleh penurunan laju filtrasi glomerulus atau adanya bukti terjadinya kerusakan ginjal (Khalid *et al.*, 2025). Definisi ini menegaskan bahwa GGK merupakan kondisi kronis yang progresif dan bukan gangguan sementara seperti cedera ginjal akut. Kerusakan ginjal yang berlangsung lama pada GGK berdampak luas terhadap berbagai sistem tubuh, termasuk sistem hematologi, sehingga memengaruhi keseimbangan dan karakteristik sel-sel darah (Panduranga and Perla, 2020).

b. Epidemiologi GGK

Gagal ginjal kronik merupakan masalah kesehatan global dengan prevalensi yang terus meningkat dan berkontribusi signifikan terhadap morbiditas serta mortalitas. Negara berpenghasilan rendah hingga menengah, termasuk Indonesia, mengalami peningkatan jumlah pasien GGK stadium lanjut yang memerlukan pemantauan klinis dan pemeriksaan laboratorium secara rutin (Duff *et al.*, 2024).

Kondisi ini menyebabkan pemeriksaan hematologi dilakukan secara berulang pada pasien GGK, sehingga dalam praktik pelayanan laboratorium sering dijumpai variasi waktu antara pengambilan dan pemeriksaan sampel darah (Schapkaitz *et al.*, 2020).

c. Patofisiologi GGK

Kerusakan ginjal yang berlangsung kronik menyebabkan sebagian nefron mengalami penurunan atau kehilangan fungsi. Nefron yang tersisa akan mengalami hiperfiltrasi sebagai mekanisme kompensasi, yang dalam jangka panjang meningkatkan tekanan intraglomerulus dan memicu terjadinya glomerulosklerosis (Schnaper, 2020). Proses ini diikuti oleh peradangan kronik serta pembentukan jaringan parut pada tubulus dan interstisium ginjal, sehingga semakin menurunkan kemampuan ginjal dalam menyaring limbah metabolik, mengatur keseimbangan cairan dan elektrolit, serta menjaga keseimbangan asam basa (Chen *et al.*, 2025). Akibat penurunan fungsi ginjal tersebut, berbagai toksin uremik mengalami akumulasi dalam sirkulasi darah dan produksi hormon penting seperti eritropoietin turut menurun. Kondisi ini berkontribusi terhadap terjadinya anemia serta menciptakan lingkungan darah yang tidak fisiologis pada pasien GGK (Schapkaitz *et al.*, 2020).

d. Komplikasi GGK

Gagal ginjal kronik menimbulkan berbagai komplikasi sistemik, salah satunya komplikasi hematologi berupa anemia. Anemia pada pasien GGK umumnya bersifat hipoproliferatif dan

terjadi akibat penurunan produksi eritropoietin, inflamasi kronik, gangguan metabolisme besi, serta efek toksin uremik terhadap membran eritrosit yang dapat memperpendek masa hidup sel darah merah (Chen *et al.*, 2025). Kondisi tersebut menyebabkan penurunan produksi eritrosit dan berdampak terhadap kualitas hidup pasien. Selain itu, lingkungan darah yang bersifat uremik dapat memengaruhi stabilitas dan karakteristik sel darah, termasuk retikulosit, sehingga pemantauan parameter hematologi menjadi bagian penting dalam penatalaksanaan pasien GGK (Schapkaitz *et al.*, 2020).

2. Akumulasi Toksin Uremik Pada Pasien GGK

a. Pengertian Toksin Uremik

Toksin uremik merupakan senyawa metabolik yang secara normal diekskresikan oleh ginjal, namun pada kondisi gagal ginjal kronik mengalami akumulasi dalam sirkulasi darah akibat penurunan fungsi filtrasi ginjal (Targets, 2021). Akumulasi toksin uremik merupakan salah satu karakteristik utama GGK dan mencerminkan kegagalan ginjal dalam mempertahankan homeostasis internal tubuh. Senyawa-senyawa ini bersifat biologis aktif dan dapat menimbulkan berbagai efek toksik terhadap jaringan dan sel tubuh, termasuk sel-sel darah (Maria *et al.*, 2022).

b. Jenis & Mekanisme Akumulasi Toksin Uremik

Secara umum, toksin uremik dapat diklasifikasikan menjadi tiga kelompok utama, yaitu toksin molekul kecil (seperti urea dan kreatinin), toksin molekul menengah, serta toksin terikat protein (seperti indoxyl sulfate dan p-cresyl sulfate) (Ito and Yoshida, 2020). Pada pasien GGK, penurunan laju filtrasi glomerulus menyebabkan senyawa-senyawa tersebut tidak dapat diekskresikan secara adekuat sehingga terjadi penumpukan progresif dalam darah (Sueiro *et al.*, 2020). Selain itu, proses inflamasi kronik dan stres oksidatif yang menyertai GGK turut memperburuk efek toksik dari senyawa uremik. Kondisi ini menyebabkan perubahan lingkungan biokimia darah menjadi tidak fisiologis dan bersifat toksik secara sistemik (Maria, Clementi and Ronco, 2025).

c. Dampak Lingkungan Uremik Terhadap Sel Darah

Lingkungan darah yang bersifat uremik memiliki dampak signifikan terhadap sel-sel darah, termasuk eritrosit dan sel eritroid imatur seperti retikulosit. Toksin uremik diketahui dapat memengaruhi stabilitas membran sel, meningkatkan stres oksidatif, serta mengganggu proses metabolisme intraseluler. Pada eritrosit, kondisi ini berkontribusi terhadap pemendekan usia sel dan terjadinya anemia. Sementara itu, pada retikulosit yang masih mengandung sisa RNA dan memiliki aktivitas metabolik lebih

tinggi, lingkungan uremik dapat meningkatkan kerentanan terhadap perubahan struktur sel dan degradasi RNA (Maria, Clementi and Ronco, 2025).

Selain memengaruhi kondisi sel secara *in vivo*, lingkungan uremik juga diduga berperan dalam mempercepat perubahan *in vitro* selama proses penyimpanan sampel darah. Akumulasi toksin uremik dalam darah pasien GGK berpotensi mempercepat terjadinya degradasi RNA dan maturasi retikulosit selama penundaan pemeriksaan, sehingga nilai retikulosit yang diperoleh dapat mengalami perubahan lebih cepat dibandingkan dengan sampel darah individu dengan fungsi ginjal normal (Maria *et al.*, 2022).

3. Anemia Pada Pasien Gagal Ginjal Kronik

a. Definisi anemia pada GGK

Anemia pada gagal ginjal kronik (GGK) merupakan komplikasi hematologis yang sering terjadi akibat penurunan fungsi ginjal yang berlangsung kronis. Secara klinis, anemia didefinisikan sebagai kadar hemoglobin <13 g/dL pada laki-laki dan <12 g/dL pada perempuan, dengan karakteristik normositik normokrom dan hipoproliferatif, yang mencerminkan gangguan pada proses pembentukan eritrosit di sumsum tulang (Gnitecki *et al.*, 2024). Oleh karena itu, evaluasi anemia pada pasien GGK tidak hanya didasarkan pada kadar hemoglobin, tetapi juga memerlukan penilaian aktivitas eritropoiesis, salah satunya melalui pemeriksaan retikulosit sebagai

indikator respons sumsum tulang. (Gnitecki *et al.*, 2024).

b. Patogenesis anemia GGK

Anemia pada GGK bersifat multifaktorial dan terjadi melalui beberapa mekanisme yang saling berkaitan. Mekanisme utama yang berperan adalah penurunan produksi erythropoietin (EPO) akibat kerusakan ginjal kronik. Penurunan kadar EPO menyebabkan berkurangnya stimulasi eritropoiesis di sumsum tulang, sehingga produksi eritrosit menurun dan anemia bersifat hipoproliferatif (Gnitecki *et al.*, 2024).

Selain defisiensi EPO, inflamasi kronik yang menyertai GGK turut berperan dalam patogenesis anemia. Inflamasi meningkatkan kadar hepcidin yang menghambat ketersediaan besi untuk sintesis hemoglobin serta menekan proliferasi dan diferensiasi prekursor eritroid. Akumulasi toksin uremik pada pasien GGK juga berkontribusi terhadap anemia melalui peningkatan stres oksidatif dan pemendekan usia eritrosit. Kombinasi faktor-faktor tersebut menyebabkan gangguan eritropoiesis yang menetap, sehingga pemeriksaan retikulosit menjadi penting dalam menggambarkan aktivitas pembentukan eritrosit pada pasien GGK (Guideline and Disease, 2024).

4. Eritropoiesis & Retikulosit

a. Proses eritropoiesis

Eritropoiesis merupakan proses pembentukan eritrosit yang

berlangsung di sumsum tulang merah dari sel punca hematopoietik melalui beberapa tahap diferensiasi. Proses ini dimulai dari sel progenitor eritroid dan berlanjut melalui tahap eritroblas hingga terbentuk retikulosit, yaitu eritrosit muda yang telah kehilangan inti sel tetapi masih mengandung sisa RNA ribosom (Cha, 2024).

Retikulosit dilepaskan ke dalam sirkulasi darah perifer dan akan bermaturasi menjadi eritrosit dewasa dalam waktu sekitar 24–48 jam. Oleh karena itu, jumlah retikulosit di darah perifer mencerminkan efektivitas dan kecepatan eritropoiesis dalam beberapa hari terakhir. Pada kondisi normal, jumlah retikulosit berkisar antara 0,5–2,5% (Chan *et al.*, 2020).

Proses eritropoiesis dipengaruhi oleh beberapa faktor utama, antara lain produksi eritropoietin (EPO), ketersediaan zat besi, vitamin B12, dan asam folat, serta kondisi lingkungan sumsum tulang. Gangguan pada faktor-faktor tersebut dapat memengaruhi produksi dan pelepasan retikulosit ke sirkulasi perifer (Haase, 2020)

b. Peran Eritropoietin dalam Eritropoiesis

Erythropoietin (EPO) merupakan hormon glikoprotein yang berperan sebagai regulator utama proses eritropoiesis. Sebagian besar EPO diproduksi oleh sel interstisial peritubular ginjal, sedangkan sebagian kecil dihasilkan oleh hati. Produksi EPO dipengaruhi oleh kondisi oksigen jaringan, di mana keadaan hipoksia akan merangsang ginjal untuk meningkatkan sekresi EPO

sebagai respons fisiologis terhadap kebutuhan oksigen tubuh (Arias *et al.*, 2024).

EPO bekerja dengan berikatan pada reseptor eritroid di sumsum tulang, khususnya pada sel progenitor eritroid dan eritroblas awal. Ikatan ini merangsang proliferasi dan diferensiasi sel eritroid serta menghambat apoptosis, sehingga meningkatkan pelepasan retikulosit ke dalam sirkulasi darah perifer sebagai respons awal eritropoiesis. Perubahan kadar EPO akan berdampak langsung pada jumlah retikulosit yang dihasilkan. Oleh karena itu, pemeriksaan retikulosit dapat digunakan sebagai indikator tidak langsung untuk menilai respons eritropoiesis terhadap stimulasi EPO (Chan *et al.*, 2020).

c. Retikulosit sebagai indikator aktivitas eritropoiesis

Retikulosit merupakan penanda penting aktivitas eritropoiesis karena mencerminkan respons sumsum tulang terhadap kebutuhan pembentukan eritrosit dalam waktu singkat. Pada kondisi anemia, perubahan jumlah retikulosit dapat terjadi lebih awal dibandingkan perubahan kadar hemoglobin, sehingga parameter ini sering digunakan untuk menilai dinamika pembentukan eritrosit (Portolés *et al.*, 2021).

Pada pasien gagal ginjal kronik (GGK), proses eritropoiesis mengalami gangguan terutama akibat penurunan produksi erythropoietin (EPO) oleh ginjal yang mengalami kerusakan

struktural dan fungsional. Kerusakan pada sel interstisial peritubular ginjal menyebabkan stimulasi eritropoiesis tidak optimal, sehingga produksi retikulosit menjadi rendah atau tidak adekuat (Gnitecki *et al.*, 2024).

Selain kekurangan EPO, gangguan eritropoiesis pada GGK diperberat oleh beberapa faktor lain, antara lain Inflamasi kronik yang menekan sumsum tulang secara langsung melalui mediator sitokin (Abe, 2024), disregulasi metabolisme besi akibat peningkatan hepcidin (Tomasz, Ewa and Jolanta, 2021), akumulasi toksin uremik yang menurunkan sensitivitas sumsum tulang terhadap EPO dan memperpendek masa hidup eritrosit (Hamza and Metzinger, 2020).

Kombinasi faktor-faktor tersebut menghasilkan pola anemia khas pada pasien GGK yang bersifat normositik normokromik dan hipoproliferatif. Kondisi ini ditandai oleh jumlah retikulosit yang rendah atau tidak meningkat secara adekuat sesuai derajat anemia. Oleh karena itu, retikulosit menjadi parameter yang relevan untuk menilai aktivitas eritropoiesis pada pasien GGK, sekaligus menjadi parameter yang sensitif terhadap pengaruh kondisi pra-analitik dalam pemeriksaan laboratorium (Portolés *et al.*, 2021).

5. Retikulosit sebagai Parameter Eritropoiesis

a. Pengertian Retikulosit

Retikulosit merupakan eritrosit muda yang baru dilepaskan

dari sumsum tulang dan masih mengandung sisa ribosomal RNA (rRNA). Keberadaan RNA ini membentuk struktur jalinan halus (reticulum) yang dapat diidentifikasi melalui pewarnaan supravital, seperti Brilliant Cresyl Blue atau New Methylene Blue. Secara fisiologis, retikulosit berada pada tahap akhir pematangan eritrosit sebelum menjadi eritrosit dewasa. Jumlah retikulosit dalam sirkulasi darah mencerminkan aktivitas eritropoiesis dalam kurun waktu 24–72 jam terakhir. Oleh karena itu, pemeriksaan retikulosit digunakan sebagai indikator sensitif untuk menilai respons sumsum tulang terhadap kebutuhan pembentukan eritrosit, baik pada kondisi fisiologis maupun patologis, termasuk pada pasien gagal ginjal kronik (GGK) (Hyperoxia *et al.*, 2020)

b. Morfologi dan struktur RNA

Secara morfologis, retikulosit berukuran sedikit lebih besar dibandingkan eritrosit dewasa dan menunjukkan sisa ribosomal RNA yang tampak sebagai granula atau jalinan berwarna biru pada pewarnaan supravital. RNA intraseluler tersebut akan mengalami degradasi secara bertahap seiring proses maturasi retikulosit menjadi eritrosit dewasa dalam waktu sekitar 24–48 jam di sirkulasi darah perifer. Keberadaan RNA menjadi dasar utama identifikasi retikulosit, terutama pada metode manual. Oleh karena itu, proses maturasi *in vitro* atau degradasi RNA akibat penundaan pemeriksaan dapat menyebabkan penurunan jumlah retikulosit yang terdeteksi,

sehingga memengaruhi keakuratan hasil pemeriksaan (Doeleman and Huisman, 2023).

c. Fungsi retikulosit sebagai indikator eritropoiesis

Retikulosit digunakan untuk menilai apakah sumsum tulang sedang meningkatkan produksi eritrosit (retikulosit naik) atau menurunkan produksi eritrosit (retikulosit turun) (Chan *et al.*, 2020).

Karena retikulosit merupakan bentuk eritrosit yang baru dilepaskan ke sirkulasi, perubahannya terjadi lebih cepat dibandingkan parameter hematologi lain seperti hemoglobin. Oleh karena itu, pemeriksaan retikulosit memberikan gambaran awal mengenai dinamika eritropoiesis, baik pada kondisi fisiologis maupun patologis yang memengaruhi fungsi sumsum tulang (Karunarathne and Kulathilake, 2022).

d. Nilai Normal Retikulosit

Nilai normal retikulosit pada orang dewasa umumnya berkisar antara 0,5–2,5%, tergantung metode manual atau otomatis. Rentang nilai rujukan dapat bervariasi antar laboratorium akibat perbedaan alat, reagen, dan teknik pemeriksaan, sehingga interpretasi hasil harus mengacu pada nilai rujukan laboratorium tempat pemeriksaan dilakukan (Gnitecki *et al.*, 2024).

e. Faktor yang mempengaruhi kadar retikulosit

Kadar retikulosit dipengaruhi oleh faktor biologis dan faktor pra-analitik. Faktor biologis meliputi stimulasi eritropoiesis oleh

erythropoietin (EPO), ketersediaan zat besi, vitamin B12, dan asam folat, serta kondisi inflamasi kronik yang dapat menekan aktivitas sumsum tulang. Pada pasien GGK, faktor-faktor tersebut sering mengalami gangguan sehingga berdampak langsung pada produksi retikulosit (Gnitecki *et al.*, 2024).

Selain faktor biologis, faktor pra-analitik berperan penting terhadap hasil pemeriksaan retikulosit. Penundaan pemeriksaan setelah pengambilan sampel memungkinkan terjadinya maturasi *in vitro* dan degradasi RNA, yang dapat menurunkan jumlah retikulosit terdeteksi, terutama pada metode manual. Penyimpanan sampel pada suhu 2–8°C dapat memperlambat proses tersebut, namun tidak sepenuhnya menghentikan perubahan sel (Khalid *et al.*, 2025).

f. Karakteristik retikulosit pada pasien GGK

Pada pasien gagal ginjal kronik (GGK), jumlah retikulosit basal umumnya rendah akibat penurunan produksi erythropoietin dan adanya inflamasi kronik yang menekan eritropoiesis. Selain penurunan jumlah, karakteristik retikulosit pada pasien GGK juga mengalami perubahan kualitas sel (Guideline and Disease, 2024)

Akumulasi toksin uremik dan stres oksidatif dapat merusak viabilitas prekursor eritroid, sehingga retikulosit yang dilepaskan ke sirkulasi menjadi lebih rapuh dan lebih mudah mengalami degradasi. Kondisi ini menyebabkan retikulosit pada pasien GGK lebih sensitif terhadap perubahan lingkungan *in vitro* dibandingkan individu sehat

(Hamza and Metzinger, 2020).

Kerentanan tersebut menjadikan hasil pemeriksaan retikulosit pada pasien GGK sangat dipengaruhi oleh faktor pra-analitik, khususnya waktu dan suhu penyimpanan sampel. Oleh karena itu, perbandingan antara pemeriksaan retikulosit yang dilakukan segera dan setelah penundaan pada suhu tertentu menjadi penting untuk menilai stabilitas retikulosit pada pasien GGK (Doeleman and Huisman, 2023).

6. Pemeriksaan Retikulosit

a. Metode Pemeriksaan

Pemeriksaan retikulosit secara klinis dapat dilakukan dengan dua metode utama, yaitu metode manual menggunakan pewarnaan supravital dan metode otomatis berbasis *hematology analyzer*. Metode manual supravital masih banyak digunakan di laboratorium dengan keterbatasan sumber daya karena prosedurnya relatif sederhana dan biaya pemeriksaan lebih terjangkau. Pemeriksaan ini memanfaatkan pewarna supravital, seperti *new methylene blue* atau *brilliant cresyl blue*, untuk mendeteksi sisa RNA pada retikulosit secara mikroskopis. Meskipun demikian, metode manual memiliki keterbatasan karena sangat bergantung pada keterampilan operator serta kondisi pra-analitik, termasuk waktu inkubasi dan interval antara pengambilan sampel dengan pemeriksaan. Perubahan pada faktor-

faktor tersebut dapat memengaruhi keberadaan RNA retikulosit dan berdampak langsung pada hasil perhitungan (Simionatto *et al.*, 2021).

Sebaliknya, metode otomatis menggunakan prinsip fluoresensi atau *flow cytometry* dengan fluorokrom yang berikatan dengan RNA retikulosit. Metode ini memberikan hasil yang lebih cepat, presisi, serta mampu menghasilkan parameter tambahan seperti jumlah retikulosit absolut dan indeks retikulosit. Namun, metode otomatis memerlukan peralatan khusus dan pengendalian mutu yang ketat, sehingga tidak selalu tersedia di semua laboratorium (Arias *et al.*, 2024).

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa metode manual lebih sensitif terhadap penundaan pemeriksaan dibandingkan metode otomatis, karena degradasi RNA selama penyimpanan dapat secara langsung menurunkan jumlah retikulosit yang terdeteksi, meskipun sampel disimpan pada suhu 2–8°C (George, Basu and Kar, 2022).

b. Prinsip Pewarnaan Supravital

Pewarnaan supravital merupakan teknik pewarnaan yang dilakukan pada sel darah hidup tanpa proses fiksasi. Pewarna supravital, seperti *new methylene blue* atau *brilliant cresyl blue*, akan berikatan dengan sisa ribosomal RNA pada retikulosit dan membentuk struktur menyerupai jaringan halus (retikulum) yang

tampak berwarna biru keabu-abuan pada pemeriksaan mikroskopis (Simionatto *et al.*, 2021).

Karena eritrosit dewasa tidak lagi mengandung RNA, teknik ini memungkinkan pembedaan antara retikulosit dan eritrosit matur. Keberhasilan pewarnaan sangat dipengaruhi oleh beberapa faktor teknis, seperti konsentrasi pewarna, rasio darah terhadap pewarna, serta lama inkubasi. Ketidaktepatan pada tahapan tersebut dapat menyebabkan pewarnaan yang kurang optimal atau terbentuknya artefak, sehingga memengaruhi hasil hitung retikulosit (Pan *et al.*, 2022).

c. Pemeriksaan Retikulosit Metode Manual

1) Standarisasi rasio darah:pewarna

contoh: 3 drops blood : 3 drops BCB (atau 1:1 μL sesuai pipet).

Catat volume/rasio persis.

2) Waktu inkubasi tetap

15 menit \pm 1 menit, di suhu ruang (22–25°C). Jangan membiarkan lebih lama.

3) Buat smear dari campuran yang sama (jangan ambil lagi darah mentah), buat 2-3 smear untuk duplikasi.

4) Hitung 1000 RBC per smear

Usahakan menghitung di area smear yang baik (pelekatan merata). Jika jumlah retikulosit rendah, pertimbangkan menghitung sampai 2000 RBC untuk meningkatkan presisi.

(George 2021).

d. Komposisi Pewarna Brilliant Cresyl Blue

Brilliant Cresyl Blue (BCB) merupakan salah satu pewarna supravital yang digunakan dalam pemeriksaan retikulosit karena kemampuannya dalam menstabilkan dan mengendapkan sisa ribosomal RNA di dalam sel. Komposisi pewarna Brilliant Cresyl Blue terdiri atas zat warna Brilliant Cresyl Blue sebagai komponen utama, serta aquades atau larutan buffer fosfat sebagai pelarut. Konsentrasi larutan yang umum digunakan dalam pemeriksaan retikulosit adalah Brilliant Cresyl Blue 1%, yang diperoleh dengan melarutkan 1 gram Brilliant Cresyl Blue ke dalam 100 mL akuades atau buffer fosfat dengan pH mendekati netral ($\pm 6,8-7,2$). Penggunaan buffer bertujuan untuk menjaga kestabilan pH sehingga proses pewarnaan berlangsung optimal dan struktur retikulum dapat terlihat dengan jelas (Pan *et al.*, 2022).

e. Faktor Kesalahan Pemeriksaan Retikulosit

1) Pra Analitik

a) Waktu tunda pemeriksaan: maturasi *in vitro* dan degradasi RNA menurunkan terdeteksi retikulosit; efek ini lebih nyata pada metode manual (George, Basu and Kar, 2022).

b) Suhu penyimpanan: penyimpanan dingin ($2-8^{\circ}\text{C}$) memperlambat tetapi tidak menghentikan proses

maturasi RNA; beberapa studi melaporkan penurunan signifikan pada 24 jam untuk metode manual (George, Basu and Kar, 2022).

- c) Jenis antikoagulan & pengadukan: EDTA harus digunakan, volume darah harus cukup terhadap EDTA; pengadukan tidak adekuat menyebabkan pembekuan lokal dan distribusi sel tidak merata (Iqbal and Raza, 2024).
- d) Kondisi transport & guncangan: guncangan kuat bisa memicu hemolisis atau agregasi platelet yang mengganggu hitung (Iqbal and Raza, 2024).

2) Analitik

- a) Variabilitas pewarnaan: konsentrasi pewarna, kualitas larutan, dan waktu inkubasi mempengaruhi visibilitas jaringan RNA (Pan *et al.*, 2022).
- b) Subyektivitas pembaca: pengalaman & fatigue mempengaruhi pengenalan retikulosit; gunakan pembaca terlatih dan QC (Pan *et al.*, 2022).
- c) Adanya sel yang menyerupai retikulosit: keberadaan nukleated RBC, Howell-Jolly bodies, atau agregat platelet dapat meniru retikulosit (lebih relevan pada metode fluorescent). Pada metode otomatis biasanya dikoreksi dengan sistem gating (Pan *et al.*, 2022).

3) Pasca Analitik

- a) Kesalahan pencatatan dan pelaporan hasil
- b) Interpretasi tanpa mengikuti standar laboratorium

7. Tahap Pra-Analitik dalam pemeriksaan Hematologi

a. Pengertian tahap pra-analitik

Tahap pra-analitik mencakup seluruh proses sebelum analisis laboratorium dilakukan, mulai dari persiapan pasien, pengambilan dan penanganan sampel darah, pemilihan antikoagulan, hingga penyimpanan sampel. Fase ini merupakan sumber kesalahan terbesar dalam pemeriksaan laboratorium, termasuk hematologi, sehingga pengendalian pra-analitik sangat penting untuk menjamin keakuratan hasil (Iqbal *et al.*, 2023).

Pada pemeriksaan retikulosit, tahap pra-analitik memiliki peranan yang lebih krusial dibandingkan parameter hematologi lain, karena retikulosit masih merupakan sel darah muda yang aktif secara metabolik dan mengalami proses maturasi. Oleh karena itu, perubahan kecil pada kondisi pra-analitik dapat berdampak langsung terhadap hasil pemeriksaan retikulosit (Panduranga and Perla, 2020).

b. Antikoagulan dalam Pemeriksaan Hematologi

Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), baik dalam bentuk K2-EDTA maupun K3-EDTA, merupakan antikoagulan standar yang digunakan pada pemeriksaan hematologi. EDTA bekerja

dengan mengikat ion kalsium sehingga mencegah proses pembekuan darah dan mempertahankan morfologi sel darah. Penggunaan EDTA yang tepat berperan penting dalam menjaga stabilitas sel, termasuk retikulosit, selama proses pra-analitik (Zahraini, 2021).

c. Pengambilan dan penanganan sampel darah

- 1) Persiapan pasien: pasien dalam kondisi tenang (pre-analitik patient factors) (Sinha, Kumar and Haque, 2024).
- 2) Venipuncture: gunakan teknik venipuncture yang benar (jarum lancet/evacuated tube), hindari pengambilan dari lengan dengan infus/infus drip tanpa discard; bila perlu buang tube pertama untuk mengurangi kontaminasi.
- 3) Tabung & volume: Pastikan tabung EDTA terisi sesuai volume yang dianjurkan pabrik untuk menjaga rasio antikoagulan (Marsudi, Wahid and Mawardani, 2024).
- 4) Pengadukan: Tabung harus segera dibolak-balik lembut 8–10 kali. Pengadukan yang buruk menyebabkan pembekuan mikro dan distribusi sel tidak merata (Biochemical *et al.*, 2020).
- 5) Penandaan & dokumentasi waktu: Waktu pengambilan darah penting untuk penelitian stabilitas, karena retikulosit mudah berubah terhadap penundaan (Doeleman and Huisman, 2023).

8. Pengaruh Penundaan & Suhu Penyimpanan Terhadap Retikulosit

a. Pengaruh waktu penundaan pemeriksaan

Retikulosit merupakan eritrosit muda yang masih mengandung sisa ribosomal RNA dan secara biologis masih aktif mengalami proses pematangan. Oleh karena itu, penundaan pemeriksaan setelah pengambilan sampel darah dapat memengaruhi hasil pemeriksaan retikulosit. Selama periode penundaan, retikulosit tetap mengalami perubahan *in vitro*, sehingga nilai yang terukur dapat berbeda dibandingkan pemeriksaan yang dilakukan segera setelah pengambilan darah (Maria *et al.*, 2022).

Beberapa penelitian melaporkan bahwa penundaan pemeriksaan menyebabkan penurunan jumlah retikulosit, terutama pada metode manual supravital. Hal ini disebabkan oleh berkurangnya RNA residual dan berlanjutnya proses maturasi sel selama penyimpanan, sehingga sebagian retikulosit tidak lagi dapat diidentifikasi dengan baik (George, Basu and Kar, 2022). Kondisi ini menunjukkan bahwa waktu antara pengambilan sampel dan pemeriksaan merupakan faktor pra-analitik yang sangat berpengaruh terhadap akurasi hasil pemeriksaan retikulosit

b. Pengaruh suhu penyimpanan 2-8°C

Penyimpanan darah utuh pada suhu 2–8°C merupakan prosedur standar ketika pemeriksaan tidak dapat dilakukan segera,

karena suhu dingin memperlambat aktivitas metabolik dan degradasi enzimatik sel darah. Namun, pendinginan tidak sepenuhnya menghentikan proses biologis. Beberapa parameter hematologi relatif stabil selama penyimpanan dingin, tetapi retikulosit termasuk parameter yang sensitif terhadap waktu simpan. Pada metode manual supravital, penyimpanan 2–8°C hanya memperlambat perubahan, bukan mencegahnya, sehingga hasil pemeriksaan setelah penundaan dapat berbeda dibandingkan pemeriksaan segera (Doeleman and Huisman, 2023).

c. Degradasi RNA & maturasi *in vitro* retikulosit

Identifikasi retikulosit pada metode supravital bergantung pada keberadaan RNA residual. Selama penyimpanan, kandungan RNA dapat berkurang akibat aktivitas RNase dan mekanisme degradasi intraseluler yang masih berlangsung meskipun pada suhu rendah. Penurunan RNA ini menyebabkan sebagian retikulosit tidak lagi terwarnai dengan baik, sehingga jumlah retikulosit yang terhitung menjadi lebih rendah (Stevens-hernandez *et al.*, 2022).

Selain degradasi RNA, retikulosit juga mengalami proses maturasi *in vitro* selama penyimpanan. Proses ini meliputi penghilangan sisa organel, perubahan struktur membran sel, serta pelepasan vesikel. Akibatnya, retikulosit secara bertahap kehilangan karakteristik khasnya dan menjadi semakin sulit dibedakan dari eritrosit dewasa, terutama pada pemeriksaan

dengan metode manual supravital (Stevens-hernandez *et al.*, 2022).

9. Stabilitas Retikulosit Pada Pasien Gagal Ginjal Kronik

- a. Perbedaan stabilitas retikulosit pada pasien GGK dan individu sehat

Retikulosit pada pasien gagal ginjal kronik (GGK) menunjukkan stabilitas yang lebih rendah dibandingkan individu sehat. Kondisi ini berkaitan dengan lingkungan internal darah pasien GGK yang telah mengalami perubahan patologis sejak awal, termasuk akumulasi toksin uremik, stres oksidatif, dan inflamasi kronik. Retikulosit sebagai eritrosit muda yang masih mengandung sisa RNA dan organel intraseluler menjadi lebih rentan terhadap kerusakan seluler dalam kondisi tersebut (Doeleman and Huisman, 2023).

Beberapa penelitian melaporkan bahwa darah pasien GGK menunjukkan kecenderungan penurunan jumlah retikulosit yang lebih cepat selama penyimpanan dibandingkan darah individu sehat. Hal ini menunjukkan bahwa perubahan nilai retikulosit pada pasien GGK tidak hanya dipengaruhi oleh faktor waktu dan suhu penyimpanan, tetapi juga oleh kondisi biologis sel darah yang telah terganggu akibat penyakit ginjal kronik itu sendiri (Hamza and Metzinger, 2020)

b. Dampak lingkungan uremik terhadap penyimpanan sampel

Lingkungan uremik pada pasien GGK ditandai oleh penumpukan berbagai toksin ginjal yang tidak dapat dieliminasi secara optimal. Toksin uremik tersebut dapat memberikan efek toksik langsung terhadap eritrosit dan retikulosit, termasuk mengganggu stabilitas membran sel dan mempercepat proses degradasi intraseluler. Retikulosit yang masih menyimpan RNA dan sisa organel menjadi lebih sensitif terhadap kondisi ini, sehingga lebih mudah mengalami degradasi RNA dan maturasi *in vitro* selama penyimpanan sampel darah (Hamza and Metzinger, 2020).

Selain itu, pasien GGK umumnya mengalami stres oksidatif dan inflamasi kronik yang menyebabkan peningkatan kerusakan membran eritrosit. Perubahan membran tersebut menurunkan elastisitas sel dan meningkatkan kerapuhan, sehingga sel darah, termasuk retikulosit, lebih mudah mengalami kerusakan selama penyimpanan (Zheng *et al.*, 2024). Kerusakan membran ini juga dapat memicu pelepasan enzim intraseluler seperti RNase, yang selanjutnya mempercepat degradasi RNA retikulosit selama penyimpanan darah EDTA (Ebert *et al.*, 2021).

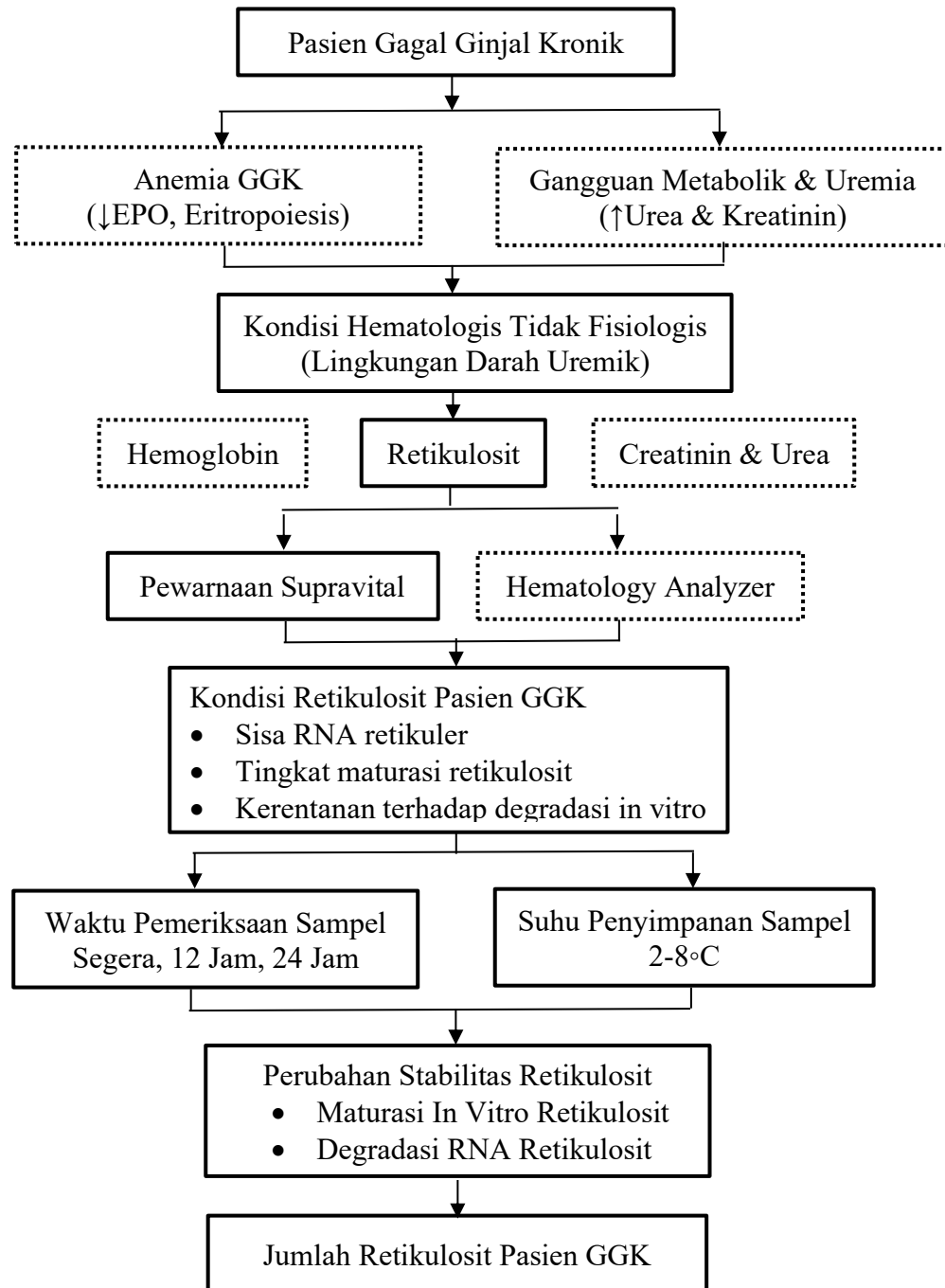
c. Implikasi pemeriksaan segera pada pasien GGK

Kerentanan retikulosit terhadap degradasi pada pasien GGK memiliki implikasi penting terhadap pelaksanaan pemeriksaan

laboratorium. Retikulosit pada pasien GGK cenderung mengalami degradasi RNA dan maturasi *in vitro* yang lebih cepat selama penyimpanan dibandingkan individu sehat, sehingga penundaan pemeriksaan berpotensi menghasilkan nilai retikulosit yang lebih rendah dari kondisi sebenarnya (Tomasz, Ewa and Jolanta, 2021).

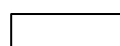
Meskipun penyimpanan pada suhu 2–8°C dapat memperlambat proses degradasi sel, pendinginan tidak sepenuhnya mencegah perubahan karakteristik retikulosit pada sampel darah pasien GGK. Oleh karena itu, pemeriksaan retikulosit yang dilakukan segera setelah pengambilan sampel darah menjadi sangat dianjurkan untuk memperoleh hasil yang lebih akurat dan representatif terhadap kondisi eritropoiesis pasien GGK. Pertimbangan ini menjadi dasar penting dalam penelitian yang menilai stabilitas retikulosit pada pasien GGK terhadap penundaan pemeriksaan dan suhu penyimpanan tertentu (Gnitecki *et al.*, 2024).

B. Kerangka Teori

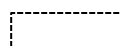


Gambar 1. Kerangka Teori

Keterangan :

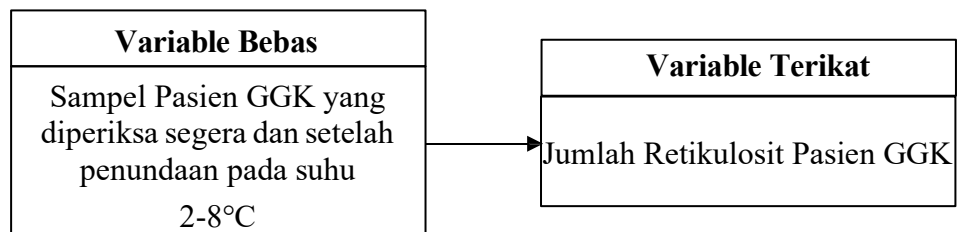


: Diteliti



: Tidak diteliti

C. Hubungan Antar Variabel



Gambar 2. Hubungan Antar Variabel

D. Hipotesis Penelitian

H_0 : Tidak ada perbedaan jumlah retikulosit pasien gagal ginjal kronik yang diperiksa segera dan setelah penundaan di suhu 2-8°C

H_a : Ada perbedaan jumlah retikulosit pasien gagal ginjal kronik yang diperiksa segera dan setelah penundaan di suhu 2-8°C