

GAMBARAN FRAKSI HEMOGLOBIN PENDERITA TALASEMIA MENGGUNAKAN METODE ELEKTROFORESIS KAPILER

Suryanata Kesuma¹, Elita Octavia²

DIV Teknologi Laboratorium Medik Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Rajawali Bandung
DIII Analis Kesehatan Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Rajawali Bandung
Email : suryanatakesuma@gmail.com

Thalassemia is a hereditary blood disease that is found in Indonesia. One method of examining modern thalassemia is the examination of hemoglobin fraction using the Capillary Electrophoresis. This method has a high level of accuracy and precision for quantification of hemoglobin variants.

The purpose of this study was to determine the hemoglobin fraction in thalassemia patients using the Capillary Electrophoresis method. This type of research is descriptive research. The sample of this study was 3 blood specimens from thalassemia sufferers.

The results showed that the first specimen, age 4 years had HbA levels of 59.9%, HbA2 levels of 4.3%, HbF levels of 14.7% and HbE levels of 21.1%. In the second specimen, 8 years of age had 88.7% HbA, 2.5% HbA2, 3.2% HbF and 5.6% HbE. In the third specimen, the age of 13 years had HbA levels of 93.8%, HbA2 levels of 4.9% and HbF levels of 1.3%.

The conclusion of this study was the first specimen, HbA levels decreased, HbA2 levels increased and HbF levels increased and hemoglobin variants were found, namely HbE. In the second specimen, HbA levels decreased from the normal range, HbA2 levels were in the normal range and HbF levels increased and hemoglobin variants were found, namely HbE. In the third specimen, HbA levels decreased from the normal range, HbA2 levels and HbF levels increased, but no hemoglobin variants were found in this specimen.

Kata Kunci: Hemoglobin Fraction, Thallasemia, Capillary Electrophoresis

PENDAHULUAN

Talasemia adalah penyakit darah hereditas (keturunan) yang banyak ditemukan di Indonesia. Berdasarkan data dari Yayasan Thalassemia Indonesia, jumlah kasus penyakit talasemia sebanyak 8.011 pada Mei 2017 meningkat dari tahun 2015 yang berjumlah 7.029 kasus¹. Talasemia merupakan suatu penyakit yang ditandai dengan adanya defek pada sintesis

satu atau lebih rantai globin. Talasemia meliputi suatu keadaan dari gejala klinis yang paling ringan (bentuk heterozigot) yang disebut talasemia minor atau talasemia *trait* (kariert/pengemban sifat) hingga yang paling berat (bentuk homozigot) yang disebut talasemia mayor. Tipe yang paling sering ditemukan dengan tanda klinis yang umumnya berat adalah talasemia β (kelainan pada rantai β) dan talasemia α (kelainan pada rantai α)².

Talasemia disebabkan karena adanya mutasi pada gen pengkode globin β yaitu gen *HBB* pada kromosom 11 yang berakibat pada talasemia β . Talasemia juga disebabkan karena adanya mutasi pada gen pengkode globin α yaitu gen *HBA* yang berakibat pada talasemia α ³. Mutasi yang terjadi pada gen globin penderita talasemia menyebabkan eritrosit tidak dapat mengikat oksigen dengan baik dan eritrosit lebih mudah pecah. Akibatnya penderita mengalami gejala anemia ringan hingga berat⁴. Penyakit ini diturunkan mengikuti kaidah Mendel dan merupakan kelainan mutasi gen tunggal (*single gene mutation*) dengan berbagai jenis talasemia ditemukan². Pada orang normal terdapat 3 fraksi hemoglobin yaitu HbA (hemoglobin dewasa), HbA2 (hemoglobin dewasa minor) dan HbF (hemoglobin fetal)⁵. Fraksi hemoglobin penderita talasemia sama dengan fraksi hemoglobin orang normal tetapi pada beberapa kasus penderita talasemia memiliki kombinasi dengan hemoglobin varian. Konsentrasi dari setiap fraksi hemoglobin pada orang normal dengan penderita talasemia berbeda^{2,6,7}. Pemeriksaan penyaring digunakan untuk mendiagnosa talasemia. Elektroforesis kapiler adalah salah satu pemeriksaan penyaring talasemia dengan teknik molekuler yang digunakan untuk menganalisis hemoglobin⁸. Elektroforesis

kapiler adalah teknik pemisahan molekul–molekul bermuatan positif dan/atau negatif berdasarkan pH serta menggunakan tegangan listrik yang tinggi⁹. Metode ini mampu mendeteksi hemoglobin varian dengan lebih detail berdasar Elektroforesis Zona Kapiler (*Capillary Zone Electrophoresis*) serta tingkat presisi dan akurasi tinggi untuk kuantifikasi hemoglobin varian¹⁰. Tujuan Penelitian ini adalah mengetahui gambaran fraksi hemoglobin pada spesimen darah pasien talasemia menggunakan metode elektroforesis kapiler.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif. Sampel pada penelitian ini yaitu 3 orang penderita talasemia yang terdiri dari spesimen pertama, spesimen kedua dan spesimen ketiga. Spesimen yang digunakan adalah spesimen darah. Analisis data dilakukan dengan melihat persentase fraksi hemoglobin normal yaitu HbA, HbA2, HbF dan hemoglobin varian. Data yang diperoleh dari hasil pemeriksaan dibuat tabel hasil pemeriksaan fraksi hemoglobin. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Klinik Pramita Bandung.

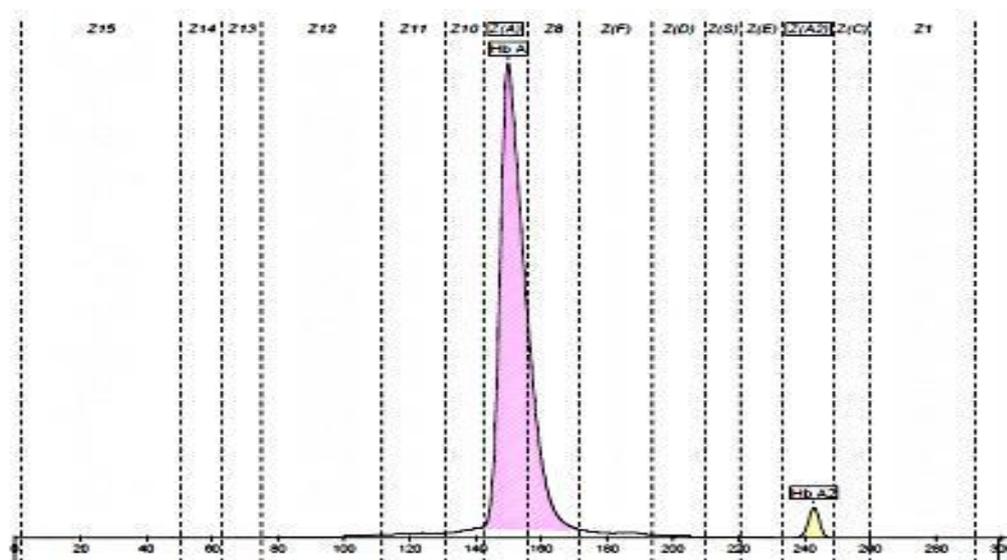
Fraksi hemoglobin pada penderita talasemia diperiksa menggunakan metode elektroforesis kapiler. Fraksi hemoglobin didapat dari sel eritrosit. Sebelum

dilakukan pemeriksaan fraksi hemoglobin terlebih dahulu dilakukan pengambilan darah. Darah yang diambil sebanyak 3cc dengan penambahan antikoagulan K3EDTA. Hemoglobindidapat daripemisahanplasma dan sel eritrosit melalui sentrifugasi 10.000 rpm selama 10 menit kemudian dilanjutkan dengan pelisisan eritrosit dengan vortex (kit insert Minicap Hemoglobin (E) Sebia). Minicap Hemoglobin (E) Sebia menggunakan control HbA2 dalam analisis fraksi hemoglobin. Selanjutnya, sel eritrosit diperiksa menggunakan metode

Elektroforesis kapiler.

HASIL

Pemeriksaan fraksi hemoglobin menggunakan metode elektroforesis kapiler menggunakan standar hemoglobin. Standar hemoglobin digunakan sebagai acuan hemoglobin normal. Pemeriksaan fraksi hemoglobin normal dilakukan sebelum melakukan pemeriksaan spesimen darah penderita talasemia. Berikut adalah elektroforegram hasil pemeriksaan fraksi hemoglobin normal (Gambar 1).

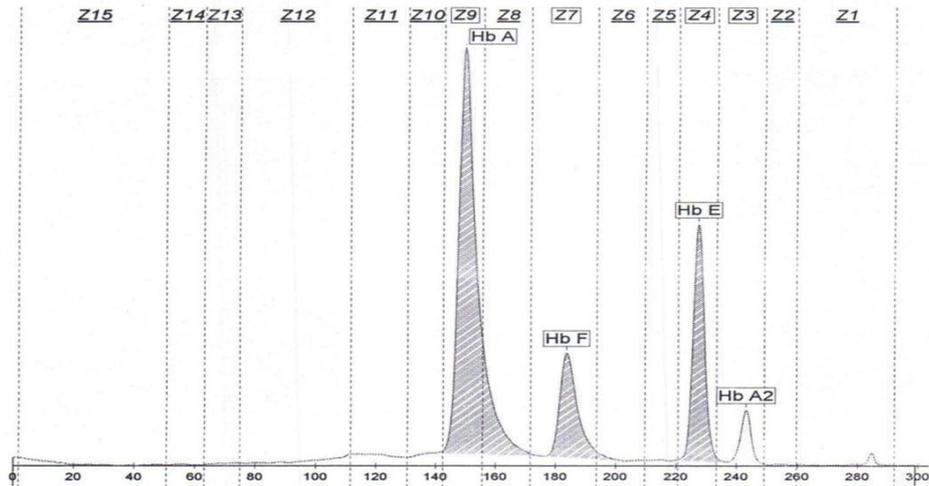


Gambar 1. Elektroforegram Fraksi Hemoglobin Normal

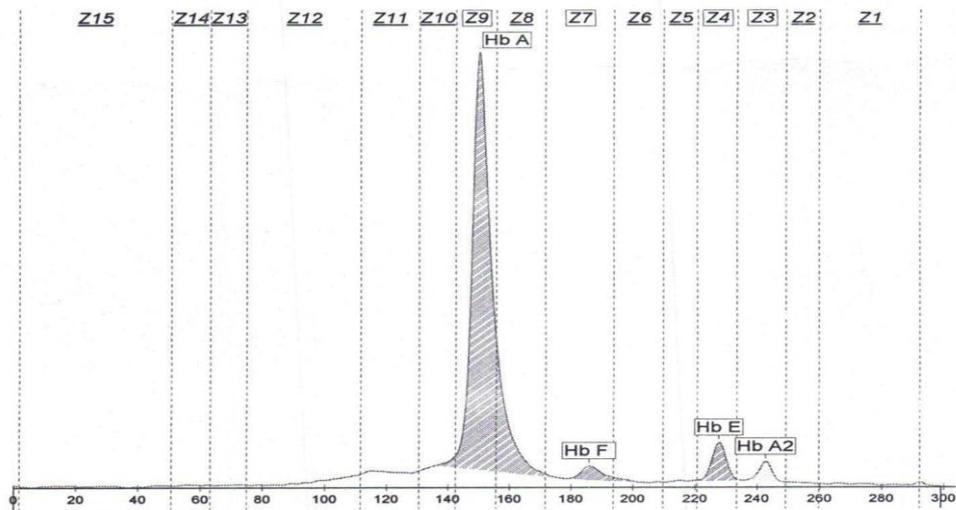
Selanjutnya, dilakukan pemeriksaan fraksi hemoglobin pada spesimen darah penderita talasemia. Spesimen darah dari 3 orang pasien talasemia dengan usia 4 tahun, 8 tahun, dan 13 tahun. Berikut adalah elektroforegram hasil pemeriksaan

fraksi hemoglobin spesimen darah pasien talasemia. Gambar 2A menunjukkan spesimen pertama, gambar 2B menunjukkan spesimen kedua, dan gambar 2C menunjukkan spesimen ketiga.

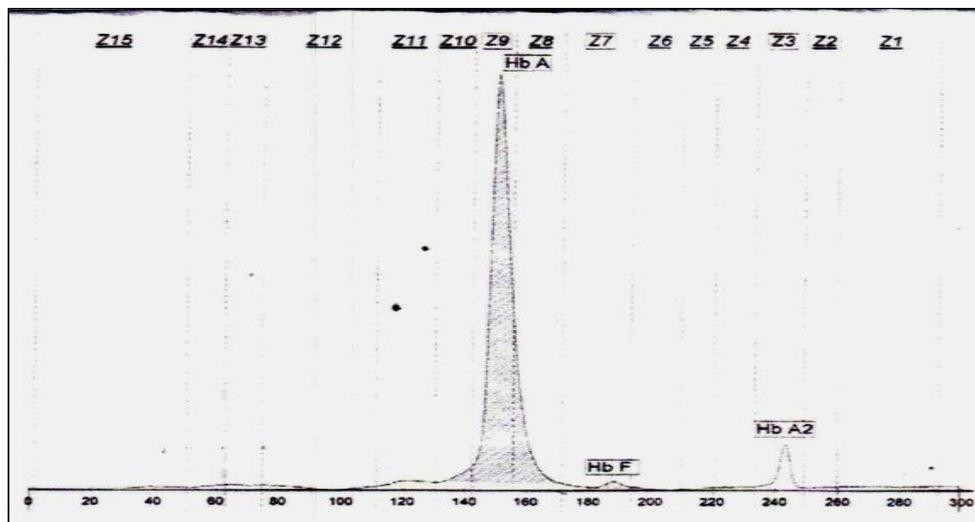
2A



2B



2C



Gambar 2A-C. Elektroforegram Fraksi Hemoglobin Spesimen Pertama, Kedua, dan Ketiga Pasien Talasemia

Berdasarkan gambar 1 dan 2.A., fraksi HbA₂ pada fraksi hemoglobin normal dan spesimen pertama berada di zona 3 (ZA₂) yaitu zona HbA₂ dengan retensi waktu 24-25 menit. Fraksi HbA₂ spesimen pertama memiliki puncak yang lebih tinggi dibandingkan puncak HbA₂ fraksi hemoglobin normal. Fraksi HbF pada spesimen pertama berada pada zona 7 (ZF) yaitu zona HbF dengan retensi waktu 18-20 menit. Fraksi HbF spesimen pertama memiliki puncak yang tinggi tetapi untuk fraksi hemoglobin normal tidak ditemukan puncak HbF. Fraksi HbA pada fraksi hemoglobin normal dan spesimen pertama berada di zona 9 (ZA) yaitu zona HbA. Retensi waktu pada zona 9 untuk fraksi hemoglobin normal yaitu 11-19 menit sedangkan untuk hemoglobin talasemia yaitu 9-17 menit. Fraksi HbA spesimen pertama memiliki puncak yang lebih pendek dibandingkan puncak HbA fraksi hemoglobin normal. Pada spesimen pertama ditemukan hemoglobin varian yaitu HbE pada zona 4 dengan retensi waktu 22-23,8 menit serta memiliki puncak yang tinggi tetapi pada fraksi hemoglobin normal tidak ditemukan puncak HbE.

Berdasarkan gambar 2.B. puncak HbA₂ untuk fraksi hemoglobin normal

pada spesimen 2 berada pada zona 3 (ZA₂) yaitu zona HbA₂ dengan retensi waktu 24-25 menit. Fraksi HbA₂ spesimen kedua berada pada zona 3 memiliki puncak yang lebih pendek dibandingkan puncak HbA₂ fraksi hemoglobin normal. Fraksi HbF untuk spesimen kedua berada pada zona 7 (ZF) yaitu zona HbF. Fraksi HbF spesimen kedua memiliki puncak dengan retensi waktu 18-20 menit sedangkan untuk fraksi hemoglobin normal tidak ditemukan puncak pada zona HbF. Fraksi HbA untuk fraksi hemoglobin normal dan talasemia berada pada zona 9 (ZA) yaitu zona HbA dengan retensi waktu yang berbeda. Untuk fraksi hemoglobin normal memiliki retensi waktu dari 11-19 menit sedangkan untuk spesimen kedua memiliki retensi waktu dari 9-18 menit. Fraksi HbA spesimen kedua memiliki puncak yang lebih pendek dibandingkan puncak HbA fraksi hemoglobin normal. Pada spesimen kedua ditemukan hemoglobin varian yaitu HbE pada zona 4 dengan retensi waktu 22-23,8 menit dan memiliki puncak yang tinggi tetapi tidak ditemukan puncak HbE pada fraksi hemoglobin normal.

Pada gambar 2.C. Fraksi hemoglobin spesimen 3 berada di zona 3 (ZA₂) yaitu zona HbA₂ dengan retensi waktu 24-25

menit. Fraksi HbA₂ spesimen ketiga memiliki puncak yang lebih tinggi dibandingkan puncak HbA₂ fraksi hemoglobin normal. Fraksi HbF pada spesimen ketiga berada pada zona 7 (ZF) yaitu zona HbF. Fraksi HbF spesimen ketiga memiliki puncak HbF dengan retensi waktu 18-20 menit sedangkan untuk fraksi hemoglobin normal tidak ditemukan puncak pada zona HbF. Fraksi

HbA pada fraksi hemoglobin normal dan spesimen ketiga berada pada zona 9 (ZA) yaitu zona HbA, tetapi retensi waktu untuk fraksi hemoglobin normal yaitu 11-19 menit sedangkan retensi waktu untuk spesimen ketiga dimulai dari 11- 18 menit. Fraksi HbA spesimen ketiga memiliki puncak yang lebih pendek dibandingkan puncak HbA standar fraksi hemoglobin.

Tabel 1. Kuantifikasi Fraksi Hemoglobin

No	Kode spesimen	Usia	HbA (%)	HbA ₂ (%)	HbF(%)	HbE(%)
1.	Spesimen pertama	4 tahun	59,9%	4,3%	14,7%	21,1%
2.	Spesimen kedua	8 tahun	88,7%	2,5%	3,2%	5,6%
3.	Spesimen ketiga	13 tahun	93,8%	4,9%	1,3%	-

Berdasarkan tabel 1 dijelaskan bahwa spesimen pertama dengan usia 4 tahun memiliki kadar HbA sebesar 59,9% berada dibawah rentang normal karena kadar HbA normal usia 2 – 6 tahun adalah 95,9% - 97,9%. Kadar HbA₂ sebesar 4,3% berada diatas rentang normal dikarenakan kadar HbA₂ untuk usia 2 – 6 tahun adalah 2,2% - 3,2%. Kadar HbF sebesar 14,7% berada diatas rentang normal karena kadar HbF untuk usia 2 – 6 tahun adalah 0,0% - 1,6%. Pada spesimen pertama ditemukan hemoglobin varian yaitu HbE dengan kadar yang tinggi sebesar 21,1%.

Pada spesimen kedua dengan usia 8 tahun dengan kadar HbA sebesar 88,7% berada dibawah rentang normal karena kadar HbA normal untuk usia 6– 17 tahun adalah 96,4% - 98,2%. Kadar HbA₂ sebesar 2,5% berada pada rentang normal dikarenakan kadar normal HbA₂ untuk usia 6 – 17 tahun sebesar 1,9% - 3,3%. Kadar HbF sebesar 3,2% berada diatas rentang normal karena kadar normal HbF untuk usia 6 – 17 tahun adalah 0,0% – 0,0%. Pada spesimen kedua ditemukan hemoglobin varian yaitu HbE dengan kadar yang cukup tinggi sebesar 5,6%.

Spesimen ketiga dengan usia 13 tahun memiliki kadar HbA sebesar 93,8%, kadar tersebut berada dibawah rentang normal karena rentang normal untuk usia 6 – 17 tahun adalah 96,4% - 98,2%. Kadar HbA₂ pada spesimen ketiga sebesar 4,9%, kadar tersebut berada diatas rentang normal karena rentang normal untuk usia 6 – 17 tahun adalah 1,9% - 3,3%. Dan kadar HbF pada spesimen ketiga sebesar 1,3%, kadar tersebut berada diatas rentang normal karena rentang normal untuk usia 6 – 17 tahun adalah 0,0% - 0,0%. Pada spesimen ketiga tidak terdeteksi hemoglobin varian seperti HbE.

Spesimen pertama memiliki kadar HbA sebesar 59,9% berada dibawah rentang normal dari 95,9% - 97,9%. Kadar HbA₂ sebesar 4,3% berada diatas rentang normal dari 2,2% - 3,2%. Serta kadar HbF sebesar 14,7% berada diatas rentang normal dari 0,0% - 1,6%. Pada Fraksi hemoglobin Gambar 2.A. terjadi penurunan pada kadar HbA ($\alpha_2\beta_2$) dikarenakan adanya mutasi pada gen pengkode globin β yaitu gen HBB yang terletak pada lengan kromosom 11 di posisi 15.4. Keadaan ini mengakibatkan berlebihnya produksi rantai globin α sehingga berdampak pada kadar HbA₂ ($\alpha_2\delta_2$) dan kadar HbF ($\alpha_2\gamma_2$) mengalami peningkatan. Serta ditemukan hemoglobin abnormal pada Hemoglobin yang

ditunjukkan pada gambar 2.A. yaitu HbE. HbE adalah salah satu hemoglobin varian yang terjadi karena adanya mutasi pada gen globin β yaitu pergantian asam glutamat menjadi lisin pada posisi 26 dari rantai globin β (Tangvarasittichai, 2011). HbE biasa ditemukan pada hemoglobin E trait, hemoglobin E/ β talasemia dan sickle cell/hemoglobin E disease (SE *genotype*).

Pada spesimen kedua yang ditunjukkan gambar 2.B. diketahui bahwa kadar HbA sebesar 88,7% berada dibawah rentang normal dari 96,4% - 98,2%. Kadar HbA₂ sebesar 2,5% berada di rentang normal dari 1,9% - 3,3%. Kadar HbF sebesar 3,2% berada diatas rentang normal dari 0,0% - 0,0% serta kadar hemoglobin varian HbE sebesar 5,6%. Pada gambar 2.B., terjadi penurunan fraksi hemoglobin pada kadar HbA ($\alpha_2\beta_2$) dikarenakan adanya mutasi pada gen pengkode globin β yaitu gen HBB yang terletak pada lengan kromosom 11 di posisi 15.4^{11,12}. Keadaan ini mengakibatkan berlebihnya produksi rantai globin α sehingga berdampak pada kadar HbF ($\alpha_2\gamma_2$) yang mengalami peningkatan. Kadar HbA₂ ($\alpha_2\delta_2$) normal diduga karena terdeteksinya kekurangan zat besi sehingga kadar HbA₂ tidak meningkat. Beberapa kasus β -talasemia ditemukan dengan defisiensi besi sehingga kadar HbA₂ turun ke kisaran normal¹³. Selain itu, ditemukan hemoglobin

abnormal pada darah dengan hasil pada Gambar 2.B. yaitu HbE. HbE adalah salah satu hemoglobin varian yang terjadi karena adanya mutasi pada gen globin β yaitu pergantian asam glutamat menjadi lisin pada posisi 26 dari rantai globin β^5 . HbE biasa ditemukan pada hemoglobin E trait, hemoglobin E/ β talasemia dan sickle cell/hemoglobin E disease (SE *genotype*).

Pada spesimen darah ketiga yang ditunjukkan pada gambar 2.C. didapatkan kadar HbA sebesar 93,8% berada dibawah rentang normal karena rentang normal dari 96,4% - 98,2%. Kadar HbA2 sebesar 4,9% berada diatas rentang normal dari 1,9% - 3,3%. Kadar HbF pada spesimen ketiga sebesar 1,3%, kadar tersebut berada diatas rentang normal dari 0,0% - 0,0%. Pada spesimen ketiga terjadi penurunan pada kadar HbA ($\alpha 2\beta 2$) dikarenakan adanya mutasi pada gen pengkode globin β yaitu gen HBB yang terletak pada lengan kromosom 11 di posisi 15.4. Keadaan ini mengakibatkan berlebihnya produksi rantai globin α sehingga berdampak pada kadar HbA2 ($\alpha 2\delta 2$) dan kadar HbF ($\alpha 2\gamma 2$) mengalami peningkatan². Pada spesimen ketiga tidak ditemukan hemoglobin abnormal seperti HbE yang merupakan salah satu hemoglobin varian^{11,12}.

KESIMPULAN

Dari ketiga spesimen penderita talasemia diketahui spesimen pertama memiliki kadar HbA ($\alpha 2\beta 2$) menurun, kadar HbA2 ($\alpha 2\delta 2$) dan kadar HbF ($\alpha 2\gamma 2$) meningkat serta ditemukan hemoglobin varian yaitu HbE. Pada spesimen kedua diketahui kadar HbA ($\alpha 2\beta 2$) mengalami penurunan dari rentang normal, kadar HbA2 ($\alpha 2\delta 2$) berada pada rentang normal dan kadar HbF ($\alpha 2\gamma 2$) meningkat serta ditemukan hemoglobin varian yaitu HbE. Pada spesimen ketiga diketahui kadar HbA($\alpha 2\beta 2$) mengalami penurunan dari rentang normal, kadar HbA2 ($\alpha 2\delta 2$) dan kadar HbF ($\alpha 2\gamma 2$) meningkat, tetapi tidak ditemukan hemoglobin varian pada spesimen ketiga.

Fraksi Hemoglobin penderita talasemia memiliki banyak variasi. Ada penderita talasemia yang memiliki kombinasi dengan hemoglobin varian HbE, ada penderita talasemia dengan kekurangan zat besi dan kombinasi dengan HbE serta ada penderita talasemia yang tidak memiliki hemoglobin varian ataupun dengan kekurangan zat besi.

DAFTAR PUSTAKA

1. Jaringan Pemberitaan Pemerintah. WHO: 6-10% Masyarakat Indonesia Memiliki Keturunan Thalassemia

- [Online]. 2017 Mei 8 [cited 2017 Juli 19]; Available from: URL: <https://jpp.go.id/humaniora/kesehatan/305925-pengidap-thalasemia-di-indonesia-capai-8-011-kasus>
- Health Technology Assessment Indonesia. Pencegahan Thalassemia [Hasil Kajian HTA tahun 2009]. Dirjen Bina Pelayanan Medik Kementerian Kesehatan RI; 2010.
 - Galanello R dan Origa R. Beta Thalassemia. BioMed Central Ltd. 2010. doi.org/10.1186/1750-1172-5-11.
 - Hassan R, Alatas H. Buku Kuliah 1 Ilmu Kesehatan Anak. Jakarta: Percetakan Infomedika. 2002.
 - Tangvarasittichai Surapon. Thalassemia Syndrome. In book: Advances in the Study of Genetic Disorders : 2011.
 - Nugraha Gilang. Panduan Pemeriksaan Laboratorium Hematologi Dasar. Jakarta timur: Trans Info Media; 2015.
 - Rujito Lantip, Siswandari Wahyu, Setyono Joko, Suyyana Lina, Basalamah Muhamad. Deteksi Pembawa Sifat Thalassaemia di Banyumas Menggunakan Capillary Electrophoresis Detection of Thalassaemia Carrier Using Capillary Electrophoresis in Banyumas District. Journal of The Indonesian Medical Association, 64 (6) 2014 : 275-280
 - Jenkins M dan Ratnaike S. Review Capillary Electrophoresis of Hemoglobin. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. Clin Chem Lab Med. 2003 Jun;41(6):747-54.
 - Whatley H. Basic Principles and Modes of Capillary Electrophoresis. In Book : Clinical and Forensic Applications of Capillary Electrophoresis pp 21-58. 2001.
 - Mantikou E, Hartevelde CL, Giordano PC. Newborn Screening for Hemoglobinopathies Using Capillary Electrophoresis Technology: Testing the Capillary Neonat Fast Hb device. Clinical biochemistry; 2010.
 - Agarwal, AM. Laboratory Diagnosis of Hemoglobinopathies and Thalassemia. Medical Director, Hematopathology and RBC Laboratory : University of Utah Department of Pathology. 2014.
 - Alauddin, dkk. HbA2 levels in normal, -thalassaemia and hemoglobin E carriers by capillary electrophoresis. Malaysian J Pathol 2012;34(2):161-164.
 - Keramati MR, Maybodi NT. The Effect of Iron Deficiency Anemia (IDA) on the HbA₂ Level and Comparison of Hematologic Values Between IDA and Thalassemia Minor. International Journal of Hematology and Oncology 2007;17(3).