

## PERBEDAAN HASIL PEMERIKSAAN HB ELEKTROFORESIS DAN ONE TUBE FRAGILE OSMOTIC TEST PADA PASIEN TALASEMIA DI RSUD MAJALAYA

Clarissa Putri Diarsa<sup>1</sup>, Yekti Hediningsih<sup>2</sup>, Nabil Hajar<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Semarang

<sup>2</sup>Departemen Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Semarang

<sup>3</sup>Departemen Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Semarang

### ABSTRAK

Indonesia merupakan salah satu negara dengan kasus talasemia cukup tinggi. Perlu dilakukan skrining untuk menghentikan atau mengurangi angka kejadian talasemia, antara lain salah satunya menggunakan pemeriksaan Hb elektroforesis dan *One Tube Fragile Osmotic Test*. Penelitian ini merupakan penelitian observasional analitik dengan desain penelitian *cross-sectional*. Penelitian dilakukan di RSUD Majalaya. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah pasien yang pernah melakukan pemeriksaan Hb elektroforesis menurut data rekam medis di RSUD Majalaya sejumlah 24 pasien. Data yang digunakan adalah rekam medis Hb Elektroforesis dan data hasil pemeriksaan *One Tube Fragile Osmotic Test*. Uji statistik menggunakan uji *Chi-square*. Hasil yang didapatkan menunjukkan sebanyak 11 sampel (91,7%) dengan hasil pemeriksaan Hb Elektroforesis talasemia menunjukkan hasil positif pada OTFOT dan sebanyak 1 sampel (8,3%) dengan hasil pemeriksaan Hb Elektroforesis talasemia tetapi menunjukkan hasil negatif pada OTFOT. Ada pula didapatkan 9 sampel (75%) dengan hasil Hb elektroforesis yang menunjukkan tidak talasemia dengan OTFOT positif dan 3 sampel (25%) didapatkan hasil pemeriksaan Hb elektroforesis tidak talasemia dengan OTFOT negatif. Hasil uji *Chi-square* dengan *p-value* 0,590 ( $p > 0.05$ ) menunjukkan tidak ada perbedaan antara hasil pemeriksaan Hb elektroforesis dengan hasil pemeriksaan *One Tube Fragile Osmotic Test*.

Kata kunci : talasemia, hb elektroforesis, *one tube fragile osmotic test*, skrining

### ABSTRACT

Indonesia is one of the countries where thalassemia cases are quite high. Screening needs to be done to stop or reduce the incidence of thalassemia, one of which is by using Hb electrophoresis and *One Tube Fragile Osmotic Test*. This research is an analytic observational study with a research design *cross-sectional*. This research was conducted in Majalaya hospital. Sample used in this study were patients who had an electrophoretic Hb examination according to medical record data at Majalaya Hospital, a total of 24 patients. The data used are Hb Electrophoresis medical records and examination results data *One Tube Fragile Osmotic Test*. Statistical test using *Chi-square* test. The results obtained showed that as many as 11 samples (91.7%) with thalassemia Hb Electrophoresis examination results showed positive results on OTFOT and 1 sample (8.3%) with thalassemia Hb Electrophoresis examination results but showed negative results on OTFOT. There were also 9 samples (75%) with Hb electrophoresis results that showed non- thalassemia with positive OTFOT and 3 samples (25%) showed non-thalassemia Hb electrophoretic examination results with negative OTFOT. *Chi-square* test with *p-value* 0,590 ( $p > 0.05$ ) showed no difference between the results of the Hb electrophoresis examination and the results of the examination *One Tube Fragile Osmotic Test*.

Keywords: thalassemia, hb electrophoresis, *one tube fragile osmotic test*, screening

---

Korespondensi: yektipatklin@gmail.com

## Pendahuluan

Talasemia merupakan penyakit hemoglobinopati hereditas dengan angka prevalensinya cukup tinggi di dunia. WHO memperkirakan sekitar 7% populasi global merupakan pembawa sifat talasemia khususnya pada daerah tropis dan subtropis, atau bisa disebut dengan kawasan sabuk talasemia. Kawasan sabuk talasemia sendiri merupakan negara-negara dengan frekuensi gen talasemia yang tinggi. Kawasan tersebut terdiri atas kawasan Asia Tenggara, Mediterania, Timur tengah, Asia Selatan, Semenanjung Cina dan Kelautan Pasifik dengan prevalensi 12-50% kasus talasemia alpha dan 1-20% kasus talasemia beta.<sup>1,2</sup>

Kawasan Asia Tenggara, salah satunya Indonesia, memiliki angka kejadian kasus talasemia yang cukup tinggi. WHO menyatakan angka insidensi pembawa sifat atau *carrier* talasemia di Indonesia berkisar antara 6 sampai 10 persen dari total penduduk di Indonesia. Data dari Yayasan Thalassemia Indonesia menyatakan kasus talasemia *carrier* di Indonesia mengalami peningkatan sejak tahun 2012 dengan 4.896 kasus dan bertambah terus menerus hingga pada tahun 2018 ditemukan 8.761 kasus talasemia *carrier*. Tidak hanya kasus talasemia *carrier* yang mengalami peningkatan. Hasil data profil kesehatan Indonesia pada tahun 2019-2021 menunjukkan adanya peningkatan kasus talasemia beta mayor. Pada tahun 2019 didapatkan 9.121 kasus dan mengalami peningkatan pada tahun 2020 menjadi 10.531 kasus, serta mengalami peningkatan kembali pada tahun 2021 sebanyak 10.973 kasus. Dari banyaknya peningkatan kasus talasemia di Indonesia, provinsi Jawa Barat merupakan salah satu provinsi dengan angka kejadian talasemia yang cukup banyak. Berdasarkan data yang dimiliki oleh Yayasan Thalassemia Indonesia-Perhimpunan Orang tua Penderita Thalassemia (YTI-POPTI) pada tahun 2018 terdapat 3.264 kasus talasemia

di Jawa Barat. Hal ini menyatakan bahwa Jawa Barat menyumbang kasus talasemia sekitar 40% dari jumlah kasus talasemia di Indonesia.<sup>3-5</sup>

Talasemia sendiri adalah penyakit hereditas hemolitik yang menghasilkan mutasi gen globin didalam darah yang menyebabkan penurunan atau tidak diproduksinya rantai globin serta penurunan sintesis hemoglobin dan sel darah merah yang menyebabkan kematian pada individu akibat kekurangan darah atau anemia dan kelebihan zat besi dikarenakan transfusi darah terus menerus yang akan merusak berbagai organ.<sup>1</sup> Penurunan sifat talasemia terjadi secara autosomal resesif, yaitu dimana jika kedua orang tua atau salah satunya seorang penderita atau pembawa sifat talasemia maka anak yang dilahirkan akan beresiko menurunkan sifat talasemia.<sup>6</sup> Upaya untuk mencegah kenaikan angka prevalensi dan mendeteksi dini talasemia pada anak akibat penurunan sifat talasemia oleh keluarga perlu dilakukan skrining atau pemeriksaan talasemia.

Pemeriksaan yang dapat dilakukan untuk mengetahui diagnosis talasemia dengan dilakukannya pemeriksaan Hb elektroforesis yang merupakan *gold standard* dan pemeriksaan standar di Indonesia.<sup>1,7</sup> Pemeriksaan Hb Elektroforesis sendiri dapat menilai mutasi gen globin dengan memperhatikan kadar HbA, HbA<sub>2</sub>, HbE dan HbF. Selain pemeriksaan Hb elektroforesis, dalam beberapa studi terdapat pemeriksaan dengan prinsip larutan hipotonik yang jika dicampurkan dengan sel darah merah penderita talasemia sehingga didapatkan lisis. Penggunaan modifikasi dari sifat tersebut terciptalah pemeriksaan *One Tube Fragile Osmotic Test* (OTFOT).<sup>7</sup> Pemeriksaan ini masih jarang dilakukan di Indonesia tetapi telah dijadikan usulan laboratorium untuk *screening* talasemia di banyak negara berkembang. Beberapa negara di Asia Tenggara salah satunya Thailand, pemeriksaan ini menjadi

pemeriksaan dasar untuk mendeteksi sifat talasemia dan juga mendeteksi bawaan sifat talasemia pada pemeriksaan prenatal.<sup>4-6</sup> Selain itu, pemeriksaan ini dinilai mudah untuk dilakukan, cepat, efisien dan tidak memerlukan peralatan yang canggih.<sup>11</sup>

Berdasarkan pemaparan mengenai kedua pemeriksaan ini terdapat kemungkinan perbedaan hasil antara kedua pemeriksaan tersebut yang menyebabkan pemeriksaan OTFOT ini masih jarang dilakukan jarang di Indonesia. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan hasil pemeriksaan Hb elektroforesis dengan *One Tube Fragile Osmotic Test* (OTFOT) pada pasien talasemia khususnya di RSUD Majalaya yang merupakan salah satu rumah sakit rujukan talasemia di Jawa Barat.

#### Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode penelitian kuantitatif dengan jenis penelitian observasional analitik dengan desain penelitian *cross-sectional*. Lokasi pelaksanaan dan pengambilan sampel berada di RSUD Majalaya dan berlangsung pada bulan November 2022. Data yang diambil merupakan data rekam medis Hb Elektroforesis dan data hasil pemeriksaan *One Tube Fragile Osmotic Test*. Kajian etik pada penelitian ini diajukan dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Semarang No.084/EC/KEPK-FK/UNIMUS/2022. Teknik pengambilan sampel yang digunakan adalah *simple random sampling*<sup>12</sup> dan penentuan besar sampel ditentukan menggunakan rumus slovin<sup>12</sup> sehingga didapatkan jumlah sampel 24 orang pasien.

Sampel pada penelitian ini adalah pasien yang pernah melakukan pemeriksaan Hb elektroforesis di RSUD Majalaya pada bulan Juni-November 2022 yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi yang telah ditentukan. Kriteria inklusi pada penelitian ini adalah sampel

merupakan pasien yang melakukan pemeriksaan Hb Elektroforesis berdasarkan catatan rekam medis di RSUD Majalaya, pasien berusia lebih dari sama dengan satu tahun, dan bersedia untuk diambil darah kembali untuk pemeriksaan OTFOT. Kriteria eksklusi pada penelitian ini adalah pasien dengan riwayat transfusi darah kurang dari satu bulan dan kadar hemoglobin lebih dari sama dengan 11.<sup>13</sup>

Alat dan bahan yang digunakan untuk penelitian ini adalah data rekam medis pasien yang pernah melakukan pemeriksaan Hb elektroforesis di RSUD Majalaya dan pemeriksaan OTFOT dibutuhkan pipet mikro, kertas koran, tabung reaksi, larutan *saline* 0,35% sebanyak 5 ml dan darah sebanyak 2 ml. Berikut prosedur pemeriksaan OTFOT.

1. Darah diambil sebanyak 2 ml dari vena mediana cubiti.
2. Masukkan 5 ml larutan *saline* 0,35% ke dalam tabung reaksi .
3. Ambil darah 20 mikroliter menggunakan pipet mikro .
4. Masukkan darah kedalam tabung reaksi yang didalamnya terdapat larutan *saline*.
5. Campurkan seluruhnya sampai homogen dan diamkan selama 5 menit dalam suhu ruangan.
6. Lihat hasil reaksi yang terjadi dengan meletakan kertas koran di belakang tabung reaksi. Jika tulisan pada koran di belakang tabung reaksi dapat terbaca atau garis dapat terlihat jelas maka didapatkan hasil negatif dan jika tulisan tidak dapat terbaca atau garis tidak dapat terlihat jelas maka didapatkan hasil positif.<sup>7,14,15</sup>

Hasil pengamatan pada penelitian ini ditabulasikan menggunakan analisis univariat dan analisis bivariat. Pada analisis univariat menggunakan distribusi frekuensi dan untuk mengetahui sifat

karakteristik sampel akan dilakukan analisis menggunakan *Chi-square* dan *T test unpair*. Pada analisis bivariat menggunakan uji *Chi-square*.

Setelah melalui proses analisis data pada 24 sampel yang meliputi 12 pasien talasemia dan 12 pasien tidak talasemia menggunakan data rekam medis pemeriksaan Hb elektroforesis, diperoleh hasil sebagai berikut.

**Hasil Penelitian**

**Tabel 1.** Karakteristik Subyek Penelitian berdasarkan pemeriksaan Hb Elektroforesis

Karakteristik	Hb Elektroforesis		p- value
	Talasemia	Tidak Talasemia	
Usia-tahun (±SD)	7,25±5,42	13,08±9,21	0,072*
Perempuan – n (%)	3 (12,5%)	8 (33,3%)	0,100#
Laki-laki – n (%)	9 (37,5%)	4 (16,6%)	
Jenis Talasemia			
Talasemia beta minor	2 (16,7%)		
Talasemia beta intermedia	4 (33,3%)		
Talasemia beta mayor	1 (8,3%)		
HbE beta talasemia	2 (16,7%)		
Talasemia delta beta	3 (25%)		
Kelompok Anemia			
Anemia hemolitik autoimun	3 (25%)		
Anemia defisiensi besi	9 (75%)		

\*  $p > 0,05$ ; tidak ada perbedaan; uji *T Test Unpair*

#  $p > 0,05$ ; tidak ada perbedaan; uji *chi-square*

Tabel 1 menunjukkan pasien dengan terdiagnosis talasemia memiliki rata-rata usia 7,25±5,42 sedangkan, pada pasien dengan diagnosis tidak talasemia memiliki rata rata usia 13,08±9,21 dan didapatkan *p-value* 0,072 yang artinya tidak terdapat perbedaan karakteristik antar usia pada sampel penelitian. Berdasarkan karakteristik jenis kelamin, mayoritas pasien yang mengikuti penelitian ini terdiagnosis talasemia dengan jenis kelamin laki laki dengan

presentase 37,5%. Nilai *p-value* pada penelitian ini 0,100 , menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan karakteristik antara jenis kelamin pada sampel penelitian. Sebagian besar pasien yang terdiagnosis talasemia pada penelitian ini menderita talasemia beta intermedia dengan persentase 33,3% dan pada pasien dengan diagnosis tidak talasemia sebagian besar menderita anemia defisiensi besi dengan persentase 75%.

**Tabel 2.** Analisis Perbedaan Hasil Pemeriksaan Hb Elektroforesis dengan OTFOT

Hasil Hb Elektroforesis	Hasil OTFOT				Total		p- value
	Positif		Negatif		N	%	
	N	%	N	%			
Talasemia	11	91,7	1	8,3	12	100	0,590*
Tidak Talasemia	9	75	3	25	12	100	
Total	20	83,3	4	16,7	24	100	

\* $p > 0,05$ ; tidak ada perbedaan; uji *chi-square*

Tabel 2 memperlihatkan 11 (91,7%) dari 12 pasien talasemia dari pengujian Hb elektroforesis memiliki hasil positif pada pemeriksaan OTFOT, sedangkan terdapat 1 (8,3%) pasien talasemia

mendapatkan hasil negatif pada pemeriksaan OTFOT. Dari 12 pasien yang tidak terdeteksi talasemia dari pengujian Hb elektroforesis terdapat 9 pasien (75%) yang memiliki hasil positif

pada pemeriksaan OTFOT, 3 pasien (25%) lainnya memiliki hasil negatif pada OTFOT. Pada tabel didapatkan hasil uji *Chi-square* dengan *p-value* 0,590 yang menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan antara hasil pemeriksaan Hb elektroforesis dengan hasil pemeriksaan *One Tube Fragile Osmotic Test*.

### Pembahasan

Berdasarkan hasil analisis bivariat pada penelitian ini tidak terdapat perbedaan hasil antara pemeriksaan Hb elektroforesis dan *One Tube Fragile Osmotic Test*. Penelitian yang dilakukan oleh Ferdousi (2018), menyatakan bahwa tidak terdapat perbedaan pada pemeriksaan Hb elektroforesis dengan *One Tube Fragile Osmotic Test*.<sup>11</sup> Penelitian lain menjelaskan bahwa pemeriksaan Hb elektroforesis digunakan untuk mengidentifikasi dan mengukur hemoglobin normal (stabil) dan abnormal (tidak stabil) akibat mutasi gen globin<sup>16</sup>. Pribadi (2016) menjelaskan pemeriksaan OTFOT digunakan untuk melihat sel darah merah pasien mengalami lisis yang disebabkan perbandingan luas permukaan sel terhadap volume sel akibat rantai globin yang tidak stabil dikarenakan ada mutasi pada hemoglobin dalam darah.<sup>17</sup> Berdasarkan referensi yang didapatkan pemeriksaan OTFOT dapat dikatakan positif dan hasil Hb elektroforesis dikatakan talasemia jika rantai globin tidak stabil yang mengakibatkan adanya mutasi pada hemoglobin.

Faktor yang mempengaruhi hasil dari kedua pemeriksaan ini adalah adanya riwayat penyakit lain. Pada penelitian ini, terdapat pasien yang terdiagnosis talasemia melalui data rekam medis pemeriksaan Hb elektroforesis, tetapi saat dilakukan OTFOT didapatkan hasil negatif. Kemudian dilakukan observasi pada data rekam medis pada pasien yang mengalami kasus tersebut. Pasien dinyatakan menderita talasemia beta intermedia dengan riwayat anemia

hemolitik autoimun. Ferdousi *et.al* (2018) menemukan kasus yang sama bahwa pada 40 pasien yang terdeteksi talasemia melalui pemeriksaan Hb elektroforesis, 12 diantaranya didapatkan hasil OTFOT negatif.<sup>11</sup> Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Muhammad Chalid *et.al* (2019) dijelaskan bahwa peningkatan fragilitas osmotik yang menyebabkan negatif palsu pada OTFOT dapat ditemukan pada toksisitas obat atau zat kimia, anemia hemolitik autoimun, luka bakar dan leukemia limfositik kronis.<sup>18</sup>

Terdapat pula pasien yang terdiagnosis tidak talasemia melalui data rekam medis pemeriksaan Hb elektroforesis tetapi memiliki hasil OTFOT yang positif. Hasil observasi dari data rekam medis pasien ditemukan pasien mengalami kasus tersebut didapatkan pasien terdiagnosis anemia defisiensi besi. Kasus ini dijelaskan pada penelitian yang dilakukan oleh Wiwanitkit (2009), menyatakan hasil OTFOT positif palsu terjadi akibat pasien menderita anemia yang disebabkan oleh defisiensi B6, defisiensi asam folat, defisiensi besi, post splenektomi, polisitemia vera, ikterik obstruktif dan nekrosis hati akut-subakut.<sup>19</sup> Selain pasien dengan riwayat anemia defisiensi besi dan anemia hemolitik autoimun yang ditemukan pada penelitian ini, memiliki hasil yang sama antara data rekam medis Hb elektroforesis dan pemeriksaan OTFOT.

Faktor lain yang mempengaruhi hasil kedua pemeriksaan tersebut adalah nilai indeks eritrosit meliputi *Mean corpuscular volume* (MCV), *Mean corpuscular hemoglobin* (MCH), dan *Mean corpuscular hemoglobin concentration* (MCHC). Pada pasien yang terdeteksi talasemia, dalam penelitian ini didapatkan nilai indeks eritrosit yang rendah dibandingkan dengan standar. Nilai indeks eritrosit dikatakan rendah jika nilai MCV < 80 fL, MCH < 27 pg, dan MCHC < 32 g/dL.<sup>13</sup> Penelitian lain

menyatakan pada HbE talasemia menunjukkan hasil Hb elektroforesis yang tidak normal yaitu adanya HbA<sub>2</sub> dan HbF yang mengalami kenaikan, kadar HbA turun, dan adanya kadar HbE pada pasien menderita HbE talasemia. Terdapat pula hasil pemeriksaan indeks eritrosit yang mengalami penurunan dan saat dilakukan pengujian fragilitas osmotik didapatkan hasil darah pada penderita HbE talasemia mengalami lisis pada larutan NaCl dengan konsentrasi 0,35%.<sup>20,21</sup>

Pada penelitian ini didapatkan sampel pasien yang menderita anemia defisiensi besi dan anemia hemolitik autoimun. Sampel pasien yang menderita anemia defisiensi besi memiliki kadar indeks eritrosit yang cenderung menurun pada MCV dan MCH, serupa dengan pasien talasemia. Hal tersebut merupakan penyebab hasil positif palsu pada pemeriksaan OTFOT pasien yang tidak terdiagnosis talasemia berdasarkan rekam medis pemeriksaan Hb elektroforesis. Penelitian yang dilakukan oleh Setiawan (2019), didapatkan gambaran morfologi eritrosit yang sama dengan pasien talasemia yaitu hipokrom mikrositer, pasien dengan anemia defisiensi besi ditandai dengan kadar MCH, MCV dan MCHC yang menurun.<sup>22</sup>

Pasien dengan riwayat anemia hemolisis autoimun memiliki nilai indeks eritrosit yang mengalami peningkatan atau normal. Hal ini serupa dengan hasil penelitian yang dilakukan Rahadianto (2020) bahwa didapatkan 2 pasien terdiagnosis anemia hemolisis autoimun dengan nilai indeks eritrosit yang meningkat.<sup>23</sup> Penelitian Chalid *et.al* (2019) didapatkan fragilitas osmotik mengalami peningkatan pada anemia hemolisis autoimun dikarenakan indeks eritrosit yang cenderung mengalami peningkatan atau normal.<sup>12</sup> Hal ini menyebabkan pemeriksaan OTFOT didapatkan hasil negatif palsu pada pasien yang terdiagnosis talasemia berdasarkan

rekam medis pemeriksaan Hb elektroforesis.

### Simpulan dan Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan antara Hb elektroforesis dan *One Tube Fragile Osmotic Test* (OTFOT) pada pasien talasemia di RSUD Majalaya. Hal ini disebabkan karena kedua pemeriksaan tersebut dapat mengidentifikasi rantai globin yang tidak stabil. Penelitian ini hanya sebatas pemeriksaan pasien di rumah sakit, sehingga perlu dilakukan penelitian lain yang lebih difokuskan pada pemeriksaan OTFOT untuk dapat dipelajari lebih lanjut.

### Ucapan Terima Kasih

Penulis menyampaikan terimakasih kepada Universitas Muhammadiyah Semarang yang telah memberikan dukungan selama menjalankan penelitian ini. Penulis juga mengucapkan terimakasih kepada pihak rumah sakit yang telah memfasilitasi penelitian sehingga terbitlah artikel ilmiah ini. Semoga penelitian dapat menjadi referensi ilmiah yang bermanfaat.

### Daftar Pustaka

1. Rujito L. 2019. Buku referensi : Talasemia : Genetik dasar dan pengelolaan terkini. 1<sup>st</sup> ed. Purwokerto: Penerbit UNSOED Press.
2. Lee JS, Rhee TM, Jeon K, Cho Y, Lee SW, Han K Do, et al. Epidemiologic trends of thalassemia, 2006–2018: A nationwide population-based study. *Journal of Clinical Medicine*. 2022,11(9): 1-9.
3. Khikmah FA. dan Prijopranto HS. Prevalensi talasemia beta minor dengan menggunakan indeks mentzer pada pasien anemia suku sabu di RSUD sabu

- raijua. *Journals Ners Community*. 2022,13(2):301–306.
4. Kamil J, Gunantara T, Suryani YD. Analisis faktor-faktor yang memengaruhi kualitas hidup penderita talasemia anak di RSUD al-ihsan kabupaten bandung tahun 2019. *Jurnal Integrasi Kesehatan dan Sains*. 2020,2(2):140–144.
  5. Suhana, Kusumajaya H, Nurvinanda R. Faktor faktor yang berhubungan dengan kejadian talasemia beta mayor pada anak. *Jurnal Penelitian Perawat Profesional*. 2023,5(4):1713–1724.
  6. Thavorncharoensap M, Torcharus K, Nuchprayoon I, Riewpaiboon A, Indaratna K, Ubol BO. Factors affecting health-related quality of life in thai children with thalassemia. *BioMed Central Blood Disord*. 2010,10:1–10.
  7. Ismail M, Patel NG. Effectiveness of naked eye single tube osmotic fragility test for screening of  $\beta$ -thalassemia trait from north maharashtra region, india. *International Journal Community Medicine*. 2016,3(5):1255–1260.
  8. Pornprasert S, Tookjai M, Punyamung M, Pongpunyayuen P, Treesuwan K. Proficiency testing program for hemoglobin E, A2 and F analysis in thailand using lyophilized hemoglobin control materials. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 2018,56(4):1-7.
  9. Bancone G, Gilder ME, Chowwiwat N, Gornsawun G, Win E, Cho WW, et al. Prevalences of inherited red blood cell disorders in pregnant women of different ethnicities living along the thailand-myanmar border. *Wellcome Open Res*. 2017,2(27): 1-21
  10. Nopparatana C, Nopparatana C, Saechan V, Karnchanaopas S, Srewaradachpisal K. Prenatal diagnosis of  $\alpha$ - and  $\beta$ -thalassemias in southern thailand. *International Journal of Hematology*. 2020,11(2): 1-9.
  11. Ferdousi A, Ahmad M, Sharma J Das, Samad R, Ullah AZ. Role of naked eye single tube red cell osmotic fragility test (NESTROFT) in detecting beta-thalassemia trait. *Journal Bangladesh Coll Physicians Surg*. 2018,36(4):1-8.
  12. Yusuf M. 2017. Metode penelitian kuantitatif, kualitatif dan penelitian gabungan. Jakarta: Kencana.
  13. Pagana K, Pagana T, Pagana T. 2019. *Mosby's diagnostic & laboratory test reference*. Missouri: Elsevier.
  14. Verma S, Bhargava M, Mittal S, Gupta R. A rare cause of elevated fetal hemoglobin in a child: Homozygous delta-beta thalassemia. *Pediatric Hematology Oncology Journal*. 2021,6(4): 222-227.
  15. Allen A, Perera S, Perera L, Rodrigo R, Mettananda S, Matope A, et al. A “one-stop” screening protocol for haemoglobinopathy traits and iron deficiency in sri lanka. *Frontiers in Molecular Biosciences*. 2019,6(6):1–8.
  16. Setyaningrum A. 2020. Telaah pemeriksaan hb elektroforesis metode kapilarisasi untuk diagnosis thalassemia. [Skripsi]. Politeknik Kesehatan Jakarta III, Jakarta.
  17. Pribadi A, Mose J, Effendi J. MCV-MCH value and one tube osmotic fragility test (OTOFT) method for thalassemia trait detection in pregnancies. *Medicine Science | International Medical Journal*. 2016,5(2):384-

- 392.
18. Chalid D MG, Sugiarto C, Sadeli L. 2015. Morfologi eritrosit pada sediaan apus darah tepi (SADT) sampel dengan hasil pemeriksaan one tube osmotic fragility test (OTFOT) positif. [Skripsi]. Universitas Kristen Maranatha, Bandung.
  19. Wiwanitkit V. Resistance to fragility test of red blood cell in thalassemia and reduction of osmotic force at cell surface. *Iranian Journal of Medicine Hypotheses and Ideas*. 2009,3(1):1-2.
  20. Zainuddin V, Abdullah AA, Arif M. Talasemia beta hemoglobin E. *Indonesia Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory*. 2016,22(1):309-312.
  21. Nurul, Aman A, Ratna G. Kajian keluarga thalasemia  $\beta$ -hemoglobin E. *Indonesia Journal of Clinical Pathology Medicine Laboratory*. 2018,13(3):104-108.
  22. Setiawan A, Merta IW, Sudarmanto IG. Gambaran indeks eritrosit dalam penentuan jenis anemia pada penderita gagal ginjal kronik di RSUD sanjiwani gianyar. *Meditory*. 2019, 7(2):130–137.
  23. Rahadianto, Arthamin M. Autoimmune Hemolytic Anemia (AIHA) and Hypereosinophillia in Multiple Myeloma Patients in Saiful Anwar Hospital, Malang. *Hang Tuah Medical Journal*. 2020, 18(1):100–113.