

PENENTUAN DERAJAT OVALOSITOSIS BERDASARKAN PEMERIKSAAN MIKROSKOPIS DAN KONFIRMASI DNA

I Gusti Ayu Nyoman Danuyanti¹, Zainal Fikri¹, Rita Sopiatus¹
¹Dosen Poltekkes Kemenkes Mataram

Abstrak

Ovalositosis adalah penyakit hereditas asimtomatik yang diturunkan menurut pola autosomal dominan, ditandai dengan lebih dari 20% eritrosit berbentuk oval di dalam tubuh penderita. Keadaan asimtomatik ini terjadi karena mekanisme kompensasi dari tingginya retikulosit pada sebagian besar penderita ovalositosis. Bentuk klinis terdapat pada penderita heterozigot, sedangkan pada homozigot jarang ditemukan dan sifatnya letal. Ovalosit sangat kaku (rigid) dibandingkan eritrosit normal dan tidak fleksibel saat melewati kapiler yang lebih kecil dari diameter eritrosit sehingga mudah ruptur. Ovalosit juga resisten terhadap parasit malaria, sehingga frekuensi penderita ovalositosis lebih tinggi di daerah endemis malaria karena *survival* penderita tersebut untuk tinggal di daerah endemis malaria lebih tinggi daripada orang dengan bentuk eritrosit normal. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan derajat ovalositosis berdasarkan hasil pemeriksaan secara mikroskopis dan konfirmasi DNA sebagai standar atau acuan dalam menyimpulkan individu terindikasi ovalositosis. Sampel diambil dari penduduk yang tinggal di desa Sekotong Barat khususnya penduduk yang tinggal di dusun Kelep, Dasan Baru dan Batu Putih Kecamatan Sekotong, Lombok Barat yang sudah dilakukan pada bulan November 2009 sampai dengan Pebruari 2010. Metode pengambilan sampel yang digunakan adalah *random sampling* yang untuk pengambilan sampel darah kapiler sebagai hapusan darah, kemudian setelah hapusan darah dievaluasi dilakukan pengambilan sampel darah vena secara *purposive sampling* bagi individu yang terevaluasi positif ovalositosis diatas 10% baik laki-laki maupun perempuan serta bersedia sebagai subjek penelitian untuk dilakukan tes konfirmasi DNA. Hasil penelitian menunjukkan bahwa individu dengan kriteria ovalosit < 50% tidak menunjukkan adanya mutasi gena protein *band 3* sebagai indikator kelainan sel darah dalam hal ini ovalosit sehingga dapat disimpulkan individu tersebut negatif ovalositosis, sedangkan untuk individu dengan kriteria ovalosit \geq 50% menunjukkan hasil positif pada tes konfirmasi DNA.

Kata Kunci : Ovalositosis, mikroskopis, konfirmasi DNA.

THE DETERMINATION OF OVALOCYTOSIS ACCORDING TO MICROSCOPIC EXAMINATION AND DNA CONFIRMATION

Abstract

Ovalocytosis are asymptomatic hereditary disease inherited in an autosomal dominant pattern, characterized by more than 20% of erythrocytes oval inside the patient's body. This occurs because the asymptomatic state of compensatory mechanisms of the high reticulocyte in most patients with ovalocytosis. Clinical forms present in heterozygous patients, whereas the homozygous rare and lethal nature. Ovalosit very stiff (rigid) than normal erythrocytes and inflexible as it passes through the capillary which is smaller than the diameter of erythrocytes so easily rupture. Ovalosit also resistant to malaria parasites, so the higher the frequency of Southeast Asian ovalocytosis patients in malaria-endemic areas for the *survival* of the patient to live in malaria-endemic areas are higher than those with normal erythrocyte shape. The

purpose of this study was to determine the degree of Southeast Asian ovalocytosis based on the results of microscopic examination and confirmation of DNA as a standard or reference in the concluding individual are ovalocytosis. Samples taken from people living in the village of West Sekotong especially people living in hamlets Kelep, Dasan Baru and Batu Putih Subdistrict Sekotong, West Lombok has been done in November 2009 to February 2010. The sampling used method is *random sampling* for capillary blood sampling as the blood smear, and then after a blood smear evaluation of venous blood samples were taken by purposive sampling for individuals who positively evaluated Southeast Asian ovalocytosis over 10% of both men and women as well as willing as research subjects to be tested for DNA confirmation. The results showed that individuals with the criteria ovalosit <50% did not indicate the presence of mutations in genes *band 3* protein as an indicator of blood cell disorders in this case ovalosit so that it can be concluded that individual ovalocytosis negative, while for individuals with ovalosit criteria $\geq 50\%$ showed positive results on tests DNA confirmation.

Keywords: Ovalocytosis, microscopic, DNA confirmation

Pendahuluan

Ovalositosis adalah penyakit hereditas asimtomatik yang diturunkan menurut pola autosomal dominan, ditandai dengan lebih dari 20% eritrosit berbentuk oval di dalam tubuh penderita. Keadaan asimtomatik ini terjadi karena mekanisme kompensasi dari tingginya retikulosit pada sebagian besar penderita ovalositosis. Bentuk klinis terdapat pada penderita heterozigot, sedangkan pada homozigot jarang ditemukan dan sifatnya letal. Ovalosit sangat kaku (rigid) dibandingkan eritrosit normal dan tidak fleksibel saat melewati kapiler yang lebih kecil dari diameter eritrosit sehingga mudah ruptur. Ovalosit juga resisten terhadap parasit malaria, sehingga frekuensi penderita ovalositosis lebih tinggi di daerah endemis malaria karena *survival* penderita tersebut untuk tinggal di daerah endemis malaria lebih tinggi daripada orang dengan bentuk eritrosit normal. Di daerah endemis malaria frekuensi penderita ovalositosis dapat mencapai 30%^{1,2,3}.

Ovalositosis di Asia Tenggara (*Southeast Asian Ovalocytosis*/SAO) disebabkan oleh delesi gena protein *band 3* penyusun membran eritrosit. Secara molekuler penyebab SAO ini khusus dan tidak terdapat pada bentuk ovalositosis lain. Gena protein *band 3* ini terdapat pada lengan panjang kromosom 17 yang terdiri dari 20 ekson yang tersebar sepanjang 18–20 kb. Delesi sepanjang 27 bp terletak pada ekson 11, sehingga 9 asam amino hilang pada posisi 400 – 408 dari protein *band 3* eritrosit normal. Posisi 400–408 adalah bagian transmembran pertama protein *band 3* eritrosit. Delesi 9 asam amino meningkatkan rigiditas dan menurunkan deformabilitas membran eritrosit^{1,3,4}.

Nusa Tenggara Barat merupakan provinsi dengan daerah endemis malaria hampir merata di setiap kabupaten atau kota yang berada di wilayahnya. Pada tahun 2005, prevalensi tertinggi kasus malaria di Provinsi Nusa Tenggara Barat

adalah di Kabupaten Lombok Barat dengan jumlah populasi penduduk 767.250 jiwa dan kasus malaria 2,4% atau sekitar 18.242 jiwa (Anonim, 2008). Kecamatan Sekotong merupakan salah satu daerah endemis malaria di wilayah Kabupaten Lombok Barat. Berdasarkan data dari Puskesmas Sekotong dan Pelangan yang masuk wilayah Kecamatan Sekotong, prevalensi kejadian malaria tertinggi pada Desa Sekotong Timur dan Tengah adalah tahun 2003 yaitu 10,3% dan menurun menjadi 4,2% di tahun 2008. Untuk Desa Sekotong Barat kejadian malaria pada tahun 2003 mencapai 8,6% dan menurun pada tahun 2008 menjadi 5,3%⁵.

Penelitian yang dilakukan oleh Sutanto *et al.* (2001), menunjukkan prevalensi ovalositosis selama tiga periode pada daerah Kabupaten Lombok Barat yaitu tahun 1991, 1992 dan 1993 dengan populasi yang berbeda dan bervariasi antara 8,8% dalam satu kampung dan 1,9%-3,8% pada satu RT/RW di wilayah kampung tersebut. Identifikasi delesi gena protein *band 3* di pulau Lombok oleh Alimsardjono *et al.* (1997) menunjukkan delesi 27 nukleotida dalam ekson 11 gena protein *band 3* yang diambil pada 21 populasi ovalositosis. Hasil penelitian ini tidak spesifik menunjukkan identifikasi dan prevalensi ovalositosis pada kecamatan atau desa tertentu di Kabupaten Lombok Barat.

Bervariasinya prevalensi kejadian ovalositosis, maka pada penelitian ini dilakukan dengan mengambil darah kapiler penduduk Kecamatan Sekotong khususnya pada dusun Kelep, Dasan Baru dan Batu Putih untuk membuat hapusan darah yang akan diidentifikasi jenis sel darah merah sebagai evaluasi awal kejadian ovalositosis. Pemilihan ketiga dusun tersebut didasarkan pada survey pendahuluan yang diambil dari data Puskesmas Sekotong dan skrining langsung beberapa keluarga, menunjukkan hasil evaluasi darah lebih mengindikasikan ovalositosis dibandingkan dengan yang

normal serta tingkat kejadian malaria yang cenderung menurun pada daerah tersebut. Darah yang sudah terevaluasi ovalositosis secara mikroskopis kemudian dipertegas dengan analisa DNA untuk menyimpulkan pasien yang bersangkutan menderita ovalositosis. Penelitian ini lebih ditekankan pada *Cutt of point* ovalositosis berdasarkan pada pemeriksaan mikroskopis dan konfirmasi DNA.

Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian yang bersifat *observasional analitik*, bertujuan untuk mengetahui derajat ovalositosis berdasarkan hasil pemeriksaan secara mikroskopis dan konfirmasi DNA. Sampel diambil dari penduduk yang tinggal di desa Sekotong Barat khususnya penduduk yang tinggal di dusun Kelep, Dasan Baru dan Batu Putih Kecamatan Sekotong, Lombok Barat yang sudah dilakukan pada bulan September sampai dengan Desember 2012.

Metode pengambilan sampel yang digunakan adalah *random sampling* yang untuk pengambilan sampel darah kapiler sebagai hapusan darah, kemudian setelah hapusan darah dievaluasi dilakukan pengambilan sampel darah vena secara *purposive sampling* bagi individu yang terevaluasi positif ovalositosis diatas 10% baik laki-laki maupun perempuan serta bersedia sebagai subjek penelitian untuk dilakukan tes konfirmasi DNA. Tes konfirmasi DNA dimaksudkan untuk mempertegas kesimpulan ovalositosis dari hasil pemeriksaan hapusan darah. Untuk pengambilan sampel dilakukan pada penduduk yang tinggal dusun Kelep, Dasan Baru dan Batu Putih Kecamatan Sekotong, Lombok Barat, pemeriksaan hapusan darah tepi dilakukan di Laboratorium Prodia Mataram dan isolasi DNA berdasarkan hasil evaluasi hapusan darah tepi ($\geq 10\%$ ovalositosis) dilakukan pada laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran UGM Yogyakarta.

Data mengenai prevalensi ovalositosis diambil dari hasil pemeriksaan hapusan darah tepi secara mikroskopis dan konfirmasi DNA menggunakan metode *Guanidine isothiocyanate* penduduk Dusun Kelep, Dasan Baru dan Batu Putih kecamatan Sekotong, Lombok Barat. Data mengenai derajat ovalositosis berdasarkan hasil pemeriksaan secara mikroskopis dan konfirmasi DNA dianalisa secara deskriptif untuk menentukan individu yang positif ovalositosis pada penduduk dusun Kelep, Dasan Baru dan Batu Putih, Kecamatan Sekotong, Lombok Barat.

Hasil

Distribusi frekuensi hasil pemeriksaan derajat ovalosit pada subjek penderita ovalositosis dengan nilai 64,3% untuk derajat ovalosit dibawah 50% dan 35,7% untuk derajat ovalosit diatas 50% (n=28). Hasil distribusi frekuensi derajat ovalosit untuk subjek penderita ovalositosis secara lengkap ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Distribusi derajat ovalosit pada subjek penderita ovalosytosis

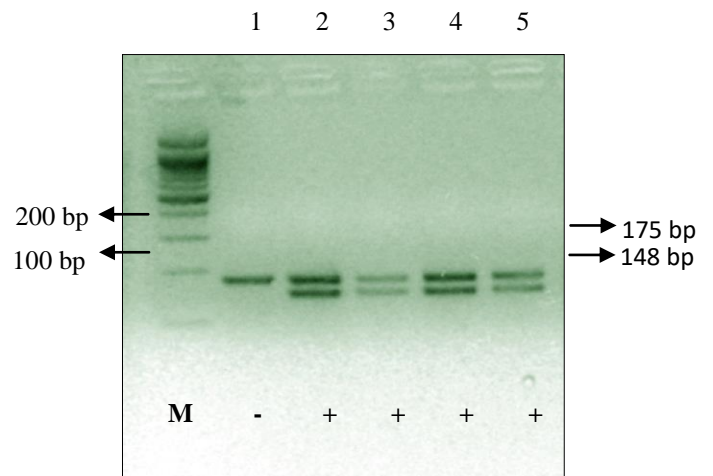
| No. | Derajat ovalosit | Jumlah | Persentase (%) |
|-------|------------------|--------|----------------|
| 1. | 20% | 14 | 50 |
| 2. | 25% | 1 | 3,6 |
| 3. | 30% | 1 | 3,6 |
| 4. | 40% | 2 | 7,1 |
| 5. | 50% | 1 | 3,6 |
| 6. | 60% | 3 | 10,7 |
| 7. | 65% | 1 | 3,6 |
| 8. | 85% | 1 | 3,6 |
| 9. | 90% | 2 | 7,1 |
| 10. | 100% | 2 | 7,1 |
| Total | | 28 | 100 |

Tabel 2. Distribusi frekuensi derajat ovalosit pada kelompok > 50% dan < 50% untuk subjek penderita ovalosytosis

| Variabel | Ovalosytosis n = 28 |
|----------------|------------------------|
| Ovalosit > 50% | 10 (35,7%) |
| Ovalosit < 50% | 18 (64,3%) |
| Total | 28 (100%) |

Derajat ovalosit digunakan sebagai skrining awal dengan variasi 20%-100% untuk penentuan ovalosytosis sebelum dianalisis secara molekuler dengan konfirmasi DNA pada individu yang terindikasi ovalosytosis secara mikroskopis.

Hasil genotyping gena protein *band 3* yang dilakukan dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dapat dilihat pada Gambar 1. Pada seluruh subjek penderita ovalosytosis dengan variasi ovalosit 20%-100% ditemukan 10 sampel dengan delesi 27 bp dan 18 sampel tanpa delesi gena protein *band 3* (n=28).



Gambar 1. Hasil genotyping delesi 27 bp gena protein *band 3*. M = Marker 100 bp Bioron *Blue Extended*. + = positif delesi sepanjang 27 bp yang memiliki 2 fragmen DNA yaitu 175 bp dan 148 bp. - = tidak

terjadi delesi sepanjang 27 bp dan hanya memiliki 1 fragmen DNA yaitu 175 bp. Fragmen DNA berukuran 148 bp menunjukkan delesi sepanjang 27 bp dari fragmen DNA normal yaitu 175 bp.

Pada subjek penderita ovalositosis, frekuensi delesi 27 bp gena protein *band 3* ditemukan sebesar 35,7% secara keseluruhan dari individu dengan hasil pemeriksaan hapusan darah mempunyai persentase ovalosit $\geq 50\%$ dan yang tidak terjadi delesi sebesar 64,3% (n=28) untuk individu yang persentase ovalosit $< 50\%$.

Pembahasan

1. Distribusi frekuensi hasil pemeriksaan derajat ovalosit pada subjek penderita ovalositosis di Sekotong, Lombok Barat.

Kriteria sampel yang dipilih sebagai subjek penderita ovalositosis adalah yang mempunyai derajat ovalosit 20%-100% dalam 1000 eritrosit. Hasil ini diperoleh melalui perhitungan morfologi eritrosit dengan bentuk oval yang dapat disertai stomatosis ataupun *irregular pale region* dalam 1000 eritrosit dengan menggunakan mikroskop perbesaran 1000X, diperoleh frekuensi derajat ovalosit untuk yang dibawah 50% adalah 64,3% dan $\geq 50\%$ sebesar 35,7% (n=28). Dari 28 orang subjek penderita ovalositosis dengan derajat ovalosit 20%-100%, distribusi frekuensi untuk masing-masing kelompok bervariasi yaitu 20% sebanyak 14(50%), 25%-50% sebanyak 5(17,85%), 60%-90% sebanyak 7(25%) dan 100% sebanyak 2(7,1%). Diagnosis ovalositosis berdasarkan gambaran morfologi eritrosit sangat dipengaruhi oleh pemeriksa (*observer*) dan kriteria yang digunakan. Hingga saat ini penentuan derajat ovalositosis belum ada kesepakatan bahwa yang disebut ovalositosis jika derajat ovalosit antara 1%-25%, 50%-90% atau diatas 90%⁶, sehingga pada penelitian ini akan dicari *cut of point* ovalositosis baik

secara mikroskopis yang dipertegas dengan konfirmasi DNA sehingga diharapkan ada standar untuk penentuan ovalositosis.

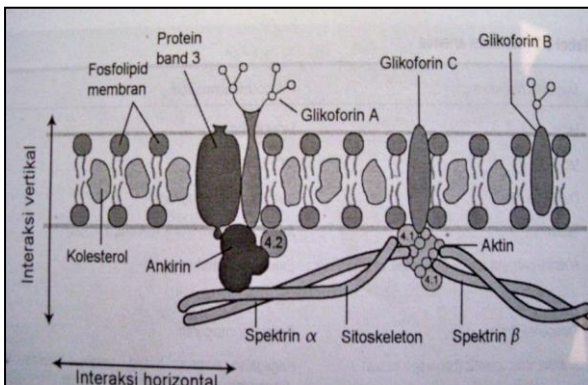
Penelitian yang dilakukan oleh Sutanto et al. (2001) di Lombok Barat menggunakan sampel dengan derajat ovalosit 50% atau lebih, sedangkan penelitian lain menggunakan derajat ovalosit 25% atau lebih untuk penentuan ovalositosis secara mikroskopik⁷. Peneliti menggunakan variasi derajat ovalosit 20%-100% didasarkan pada penelitian pendahuluan yang dilakukan untuk derajat ovalosit diatas 50% mempunyai frekuensi rendah yaitu 4% (n=50) dan sebagai acuan derajat ovalosit yang digunakan untuk penentuan ovalositosis secara molekuler dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR).

Secara mikroskopik derajat ovalosit yang dihasilkan pada penderita ovalositosis bervariasi, menunjukkan bahwa ovalositosis merupakan kelainan berupa abnormalitas pada sel darah merah yang penurunannya secara autosomal dominan. Secara teoritis risiko genetik pada penyakit hereditas dengan pola penurunan autosomal dominan adalah anak yang lahir dari pasangan penderita mempunyai kemungkinan menderita penyakit yang sama adalah 50%, sedangkan ciri yang lain adalah meskipun terjadi mutasi yang sama tetapi secara fenotip bervariasi^{3,8}.

Berdasarkan hasil genotiping gena protein *band 3*, untuk derajat ovalosit dibawah 50% tidak terjadi delesi 27 bp gena protein *band 3*, hal ini mungkin disebabkan karena kegagalan heterodimer spektrin membentuk heterotetramer. Spektrin adalah protein mayor dari komponen membran sitoskeleton eritrosit yang terdiri dari dua rantai (α dan β) yang saling mengelilingi untuk membentuk tetramer yang kemudian terkait pada aktin pada sisi ujung/ekor dan melekat pada protein *band 4.1* (interaksi horizontal).

Untuk interaksi vertikal, rantai spektrin β melekat pada ankirin yang berhubungan dengan protein *band 3* (Gambar 14). Penyebab lain adalah defisiensi atau disfungsi protein *band 4.1* dan glikoforin C yang juga dapat menyebabkan abnormalitas membran eritrosit menjadi bentuk oval^{9,10}.

Gambar 2. Interaksi protein penyusun membran eritrosit¹⁰.



2. Hasil genotyping dan distribusi frekuensi delesi 27 bp gena protein *band 3* pada subjek penderita ovalositosis dan non ovalositosis di Sekotong, Lombok Barat.

Berdasarkan hasil genotyping gena protein *band 3* yang dilakukan dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) menunjukkan bahwa seluruh subjek penderita ovalositosis dengan variasi ovalosit 20%-100% ditemukan 10 sampel dengan delesi 27 bp dan 18 sampel tanpa delesi gena protein *band 3* (n=28). Sampel dengan delesi 27 bp gena protein *band 3* memiliki derajat ovalosit 50%-100% secara mikroskopik, hal ini menunjukkan bahwa penentuan derajat ovalosit dibawah 50% untuk populasi di Sekotong, Lombok Barat setelah dianalisis dengan metode PCR tidak terjadi delesi 27 bp gena protein *band 3*. Sedangkan untuk kelompok non ovalositosis dengan morfologi eritrosit normal tidak ditemukan delesi 27 bp dari gena protein *band 3* (n=28).

Hasil elektroforesis produk PCR pada subjek penderita ovalositosis menghasilkan dua fragmen DNA berukuran 175 bp dan 148 bp. Fragmen DNA berukuran 148 bp menunjukkan delesi sepanjang 27 bp gena protein *band 3* dan hal ini menjelaskan bahwa penderita ovalositosis tersebut heterozigot^{1,3}.

Penelitian yang dilakukan oleh Alimsardjono *et al.* (1997) di Lombok juga menunjukkan hasil delesi 27 bp gena protein *band 3* pada subjek penderita ovalositosis. Penelitian lain di Indonesia dan beberapa daerah di Asia Tenggara seperti Bangka, Sumatera Selatan, Malaysia, Filipina dan Papua New Guinea mendapatkan bahwa Southeast Asian Ovalositosis (SAO) disebabkan oleh delesi 27 bp gena protein *band 3* dengan prevalensi bervariasi 5-30%³.

Distribusi frekuensi delesi 27 bp gena protein *band 3* pada subjek penderita ovalositosis adalah 35,7% dan yang tidak terjadi delesi sebesar 64,3% (n=28), sedangkan pada subjek non ovalositosis tidak ditemukan delesi 27 bp gena protein *band 3* (0%). Penelitian yang sama pada populasi di Lombok oleh Sutanto *et al.* (2001) menunjukkan prevalensi ovalositosis bervariasi yaitu 1,9%-3,8% (n=33). Penelitian lain di Indonesia ditemukan prevalensi ovalositosis 0%-27% (n=22), di Bangka Sumatera Selatan prevalensinya 38,5% (n=13), dan di Dayak dan Bugis prevalensi ovalositosis sangat rendah yang menunjukkan heterogenitas molekular *Southeast Asian Ovalositosis* (SAO)^{3,11}. Adanya delesi sepanjang 27 bp gena protein *band 3* menyebabkan 9 asam amino hilang pada posisi 400-408 dari protein *band 3* eritrosit normal yang mengakibatkan peningkatan rigiditas dan penurunan deformabilitas membran eritrosit, dan secara spesifik ditunjukkan dengan morfologi eritrosit berbentuk oval yang dapat disertai dengan bentuk

stomatosis dan *irregular pale region* pada sitoplasma eritrosit^{3,7,12}.

3. Penentuan derajat ovalositosis berdasarkan hasil pemeriksaan secara mikroskopis dan konfirmasi DNA.

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan terlihat bahwa individu dengan indikasi ovalositosis secara mikroskopis dengan kriteria ovalosit < 50% cenderung tidak menunjukkan adanya kelaianan atau mutasi gena protein *band 3* sebagai indikator kelaianan sel darah dalam hal ini ovalosit sehingga dapat disimpulkan individu tersebut negatif ovalositosis, sedangkan untuk individu dengan kriteria ovalosit \geq 50% menunjukkan hasil positif pada tes konfirmasi DNA yang ditunjukkan adanya mutasi protein *band 3* pada hasil genotipingnya.

Kesimpulan

1. Hasil identifikasi ovalositosis secara mikroskopis menunjukkan evaluasi \geq 50% ovalosit terdapat pada 35,7% individu dan < 50% ovalosit terdapat pada 64,3% individu.
2. Hasil pemeriksaan konfirmasi DNA menunjukkan sebesar 35,7% individu terindikasi ovalositosis.
3. Individu dengan kriteria ovalosit < 50% tidak menunjukkan adanya mutasi gena protein *band 3* sebagai indikator kelaianan sel darah dalam hal ini ovalosit sehingga dapat disimpulkan individu tersebut negatif ovalositosis, sedangkan untuk individu dengan kriteria ovalosit \geq 50% menunjukkan hasil positif pada tes konfirmasi DNA.

Saran

1. Penggunaan derajat ovalositosis sebagai skrining awal untuk *Southeast Asian Ovalocytosis* (SAO) sebaiknya menggunakan persentase ovalosit \geq 50%.

2. Penderita ovalositosis dianjurkan untuk mendapatkan asupan gizi yang cukup untuk mencegah anemia dan selalu berkonsultasi pada tenaga medis bagi penderita yang disertai dengan penyakit lain seperti hipertensi, diabetes mellitus dan kardiovaskuler supaya mendapatkan terapi yang tepat.
3. Dilakukan penelitian lanjutan kemungkinan terjadinya mutasi lain pada gena protein *band 3* untuk penentuan asidosis tubulus distal ginjal pada subjek penderita ovalositosis dengan jumlah sampel yang lebih besar dan mewakili beberapa wilayah khususnya di Nusa Tenggara Barat.

Daftar Pustaka

1. Alimsardjono H., Mukono I.S., Dachlan Y.P., Matsuo M., 1997. Deletion of twenty seven nucleotida within exon 11 of the band 3 gene identified in ovalocytosis in Lombok Island, Indonesia. *Jpn J Human Genet* 42(1):233-236.
2. Alper S.L., 2005. Molecular physiology of SLC4 anion exchanger. *Exp Physiol* 91(1):153-161.
3. Anonim, 2008. *Laporan Tahunan Malaria untuk Kabupaten Lombok Barat*. Subdin P2P Dinas Kesehatan Kab. Lombok Barat.
4. Bruce L.J., Wrong O., toyé A.M., young M.T., Ogle G., Ismail Z., Sinhas A.K., McMaster P., Hwaihwanjae I., Nash G.B., Hart S., Lavus E., Palmer R., Othman A., Unwin R.J., Tanner M.J.A., 2000. Band 3 mutations, renal tubular acidosis and Southeast Asian Ovalocytosis in Malaysia and Papua New guinea : Loss up to 95% band 3 transport in red cell. *J Biochem* 350:41-51.

5. Chasis J.A., and Mohandas N., 1986. Erythrocyte membrane deformability and stability : two distinct membrane properties that are independently regulated by skeletal protein associations. *J Cell Biol* 108:343-350.
6. Cheung J.C., Cordat E., Reithmeier R.A., 2005. Trafficking defects of the Southeast Asian Ovalocytosis deletion mutant of anion exchanger 1 membrane protein. *Biochem J* 390:137-144.
7. Darnell J., Lodish H., Baltimore D., 1990. *Molecular Cell Biology*. Sei Amec Book, New York, halaman 102-103.
8. Dlugowski A.R., Nash G.B., Wilson R.J.M., Reardon D.M., Gratzer W.B., 1992. Invasion of hereditary ovalocytes to intracellular ATP concentration. *Mol. Biochem Parasitol* 55:1-8.
9. Fujinaga J., Tan X., Casey J.R., 1999. Topologi of membrane domain of human erythrocyte anion exchange porotein, AE1. *J Biol Chem* 274:6626-6633.
10. Gandasoebrata R., 2004. *Penuntun Laboratorium Klinik*. Dian Rakyat, Jakarta, halamam 11-30.
11. Hartanto W.W., 2007. *Terapi Cairan dan Elektrolit Perioperatif*. FK. Univ. Padjajaran, halaman 15-25.
12. Hoffbrand A.V., Pettit J.E., Moss P.A.H., 2005. Kapita Selekt Hematologi edisi keempat. Penerbit Buku Kedokteran EGC Jakarta, halaman 51-65.
13. Jarolim P., Palek J., Amato D., Hassan K., Sapak P., Nurse G.T., Rubin H.L., Zhai S., Sahr K.E., Liu S.C., 1991. Deletion in erythrocyte band 3 gene in malaria-resistant Southeast Asian Ovalocytosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 88:11022-11026.
14. Sacher R.A. and McPherson R.A., 2002. *Tinjauan Klinis Hasil Pemeriksaan Laboratorium*. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, halaman 320-340.
15. Patria Y.S., Suryantoro P., Sofro A.S., 2002. Ovalositosis herediter – analisis molekular ovalositosis herediter Asia Tenggara (SAO) di Bangka, Sumatra Selatan. *B I Ked* 34(1):15-20.
16. Alimsardjono H., Mukono I.S., Dachlan Y.P., Matsuo M., 1997. Deletion of twenty seven nucleotida within exon 11 of the band 3 gene identified in ovalocytosis in Lombok Island, Indonesia. *Jpn J Human Genet* 42(1):233-236.
17. Anonim, 2008. *Laporan Tahunan Malaria untuk Kabupaten Lombok Barat*. Subdin P2P Dinas Kesehatan Kab. Lombok Barat.
18. Kimura M., Shimizu Y., Ishida W.S., Soemantri A., Tiwawech D., Romphruk A., Duangchan P., Ishida T., 1998. Twenty seven base pair deletion in erythrocyte band 3 protein gene responsible for Southeast Asian Ovalocytosis is not common among Southeast Asian. *Hum Biol* 70:993-1000.
19. Palek J., Lambert S., 1990. Genetics of red cell membrane skeleton. *Semin Hematol* 27:290-332.
20. Alper S.L., 2005. Molecular physiology of SLC4 anion exchanger. *Exp Physiol* 91(1):153-161.
21. Nathan D.G., Orkin S.H., Ginsburg D., Look A.T., 2005. *Hematology of Infancy and Childhood; Six edition*. Sounders an Imprint of Elsevier, halaman 531-600.
22. Hoffbrand A.V., Pettit J.E., Moss P.A.H., 2005. Kapita Selekt Hematologi edisi keempat. Penerbit Buku Kedokteran EGC Jakarta, halaman 51-65.

23. Sofro A.S.M., 1986. Ovalocytosis in Indonesia : distribution and its relation to the malarial hypothesis. *Medika* 10:954-958.
24. Yuwono, 2002. *Resistensi sel darah merah dengan Sotheast Asian Ovalocytosis terhadap malaria : variasi resistensi yang berhubungan dengan etnis dan geografis*. Tesis Magister Prodi Ilmu Biomedik, FKUI.