

Tesis

**PERBEDAAN HITUNG SEL LIMFOSIT T CD4+ PADA
PASIEN TRANSFUSI BERULANG BERDASARKAN
KEJADIAN ALLOIMUNISASI ERITROSIT**



Oleh:

Dian Jenova
NBP. 1750307208

Pembimbing:

- 1. Dr. Zelly Dia Rofinda, dr., Sp.PK(K)**
- 2. Desywar, dr., Sp.PK. MARS**

**PROGRAM STUDI PATOLOGI KLINIS PROGRAM SPESIALIS I
FAKULTAS KEDOKTERAN UNAND/ RSUP Dr. M. DJAMIL
PADANG
2022**



**PERBEDAAN HITUNG SEL LIMFOSIT T CD4+ PADA
PASIEN TRANSFUSI BERULANG BERDASARKAN
KEJADIAN ALLOIMUNISASI ERITROSIT**

Oleh:

Dian Jenova

**Tesis ini diajukan untuk memenuhi syarat guna memperoleh gelar Dokter
Spesialis Patologi Klinik Program Studi Patologi Klinik Program Spesialis I**

Menyetujui:

Pembimbing I	Dr. Zelly Dia Rofinda, dr. Sp.PK(K)	
Pembimbing II	Desywar, dr. Sp.PK. MARS	



LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini Saya menyatakan bahwa:

1. Karya tulis ini adalah asli dan belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik (sarjana, magister, dan doktor), baik di Universitas Andalas maupun di perguruan tinggi lain.
2. Karya ini adalah murni gagasan, rumusan dan penelitian Saya sendiri, dengan arahan tim pembimbing.
3. Dalam karya tulis ini tidak terdapat karya dan pendapat yang telah ditulis atau dipublikasikan orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai acuan dalam naskah dengan disebutkan nama pengarang dan dicantumkan dalam daftar pustaka.
4. Pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan jika dikemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidakbenaran dalam pernyataan ini, maka Saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar yang telah diperoleh karena karya tulis ini, serta sanksi lainnya sesuai dengan norma yang berlaku di perguruan tinggi ini.

Padang, Agustus 2022

Yang menyatakan,



KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahiim

Assalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Alhamdulillahillobbil'alamiin, puji syukur kehadiran Allah SWT, karena atas rahmat dan karunia-Nya, penulis dapat menyelesaikan tesis ini. Sholawat dan salam kepada Rasulullah Muhammad SAW yang telah menjadi tauladan bagi umatnya. Penulisan tesis ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Dokter Spesialis Patologi Klinik di Fakultas Kedokteran Universitas Andalas. Penulis menyadari bahwa tesis ini hanya dapat diselesaikan dengan bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, untuk itu penulis sampaikan rasa hormat yang tulus dan ucapan terima kasih kepada:

Rektor Universitas Andalas yang terdahulu, Prof. Dr. Tafdil Husni, SE, MBA dan Rektor Universitas Andalas Prof. Dr. Yuliandri, SH, MH. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Andalas yang terdahulu, Prof. Dr. Wirnsma Arif Harahap, dr., Sp.B(Onk), Dr. Rika Susanti, dr., Sp.FM(K), dan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Dr. Afriwardi, dr., SH, Sp.KO, MA, atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk mengikuti Program Studi Patologi Klinis Program Spesialis I Universitas Andalas.

Kepada Direktur Utama RSUP Dr. M. Djamil Padang, Dr. Yusirwan Yusuf, dr., MARS, Sp.B, Sp.BA(K) atas kesempatan yang diberikan dalam menggunakan fasilitas rumah sakit selama menjadi peserta Program Pendidikan Dokter Spesialis Program Studi Patologi Klinis Program Spesialis I. Ketua Tim Koordinasi Pelaksana PPDS Fakultas Kedokteran Universitas Andalas terdahulu, Prof. Dr. Eva

Decroli, dr., Sp.PD(KEMD), FINASIM, dan Ketua Tim Koordinasi Pelaksana PPDS, Irvan Medison, dr., Sp.P(K), FISR atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk menjadi PPDS Program Studi Patologi Klinik Program Spesialis I Fakultas Kedokteran Universitas Andalas.

Kepada yang terhormat Dr. Efrida, dr., Sp.PK(K), M.Kes, Ketua Bagian Patologi Klinik terdahulu, Konsultan Patologi Klinik, dan Wakil Dekan I Fakultas Kedokteran Universitas Andalas. Terima kasih atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk mengikuti Program Pendidikan Dokter Spesialis Program Studi Patologi Klinik Program Spesialis I. Terima kasih telah meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan, arahan, dorongan semangat, dan ide-ide selama penulis menjalani pendidikan.

Kepada yang terhormat Syofiati, dr., Sp.PK sebagai Kepala Departemen Patologi Klinik dan Kedokteran Laboratorium. Terima kasih atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk mengikuti Program Pendidikan Dokter Spesialis Program Studi Patologi Klinik Program Spesialis I. Terima kasih atas bimbingan, arahan, dan dorongan semangat selama penulis menjalani pendidikan.

Kepada yang terhormat Dr. Zelly Dia Rofinda, dr., Sp.PK(K) sebagai Ketua Program Studi Patologi Klinik dan Konsultan Patologi Klinik serta Pembimbing I tesis ini. Terima kasih atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk mengikuti Program Pendidikan Dokter Spesialis Program Studi Patologi Klinik Program Spesialis I. Terima kasih atas bimbingan, arahan, dorongan semangat, dan ide-ide selama penulis menjalani pendidikan hingga tesis ini dapat diselesaikan.

Kepada yang terhormat Prof. Dr. Ellyza Nasrul, dr., Sp.PK(K) sebagai Guru Besar dan Konsultan Patologi Klinik. Terima kasih atas kesempatan yang diberikan

kepada penulis untuk mengikuti Program Pendidikan Dokter Spesialis Program Studi Patologi Klinik Program Spesialis I. Terima kasih atas ilmu, bimbingan, arahan, nasehat, dan dorongan semangat selama penulis menjalani pendidikan.

Kepada yang terhormat Prof. Rismawati Yaswir, dr., Sp.PK(K) sebagai Guru Besar dan Konsultan Patologi Klinik. Terima kasih atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk mengikuti Program Pendidikan Dokter Spesialis Program Studi Patologi Klinik Program Spesialis I. Terima kasih telah meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan, arahan, dorongan semangat, dan ide-ide selama penulis menjalani pendidikan.

Kepada yang terhormat Prof. Hanifah Maani, dr., Sp.PK(K) sebagai Guru Besar dan Konsultan Patologi Klinik, terima kasih atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk mengikuti Program Pendidikan Dokter Spesialis Program Studi Patologi Klinik Program Spesialis I. Terima kasih atas ilmu, bimbingan, arahan, nasehat, dan dorongan semangat selama penulis menjalani pendidikan.

Kepada yang terhormat H. Lillah, dr., Sp.PK(K) (alm) sebagai staf pengajar dan Konsultan Patologi Klinik. Terima kasih atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk mengikuti Program Pendidikan Dokter Spesialis Program Studi Patologi Klinik Program Spesialis I. Terima kasih atas ilmu, bimbingan, arahan, nasehat, dan dorongan semangat selama penulis menjalani pendidikan.

Kepada yang terhormat Desywar, dr., Sp.PK, MARS sebagai Sekretaris Program Studi Patologi Klinik dan staf pengajar Patologi Klinik serta Pembimbing II tesis ini. Terima kasih telah meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan, arahan, dorongan semangat, dan ide-ide selama penulis menjalani Program

Pendidikan Dokter Spesialis Program Studi Patologi Klinik Program Spesialis I hingga tesis ini dapat diselesaikan

Kepada yang terhormat Deswita Sari, dr., Sp.PK sebagai Kepala Instalasi Laboratorium Sentral yang telah membantu, memberikan saran dan menyediakan fasilitas yang dibutuhkan kepada penulis selama melakukan penelitian. Terima kasih untuk motivasi, saran, arahan, dan dukungan selama penulis menjalani pendidikan.

Kepada yang terhormat Husni, dr., Sp.PK(K) sebagai Sekretaris Program Studi Patologi Klinik yang terdahulu dan Konsultan Patologi Klinik. Terima kasih atas bimbingan akademik, ilmu, motivasi, dan dorongan semangat selama penulis menjalani Program Pendidikan Dokter Spesialis Program Studi Patologi Klinik Program Spesialis I.

Kepada yang terhormat Dr. Rikarni, dr., Sp.PK(K) sebagai staf pengajar dan Konsultan Patologi Klinik. Terima kasih atas ilmu, bimbingan, nasehat, dan motivasi selama penulis menjalani Program Pendidikan Dokter Spesialis Program Studi Patologi Klinik Program Spesialis I.

Penghargaan, rasa hormat dan ucapan terima kasih kepada semua guru penulis di Bagian Patologi Klinik yaitu Tuty Prihandani, dr., Sp.PK, Desiekawati, dr., Sp.PK, Dr. Dwi Yulia, dr. Sp.PK, Elfira Yusri, dr., Sp.PK(K), Yoshie Anto Chicamy, dr., Sp.PK, Nanda Oktavia, dr., SpPK, Dr. Almurdi, DMM, M.Kes, dan Dra. Dian Pertiwi, MS atas keikhlasan meluangkan waktu memberikan ilmu dan bimbingan dalam mempelajari ilmu Patologi Klinik. Penghargaan, rasa hormat dan ucapan terima kasih kepada Eugeny Alia, dr., Sp.PK, dan Aziz Djamal, dr., MSc, DTM&H, Sp.MK terima kasih atas bimbingannya terutama dalam mempelajari

mikrobiologi. Terima kasih atas ilmu dan bimbingan selama penulis menjalani pendidikan. Terima kasih atas kesediaannya meluangkan waktu untuk memberikan ilmu ditengah kesibukan Ibu dan Bapak.

Penghargaan dan ucapan terima kasih kepada Raveinal, dr., Sp.PD-KAI sebagai Ketua Program Studi Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, Eifel Faheri, dr., Sp.PD-KHOM sebagai pembimbing selama penulis menjalani stase Ilmu Penyakit Dalam, dan seluruh staf pengajar Ilmu Penyakit Dalam atas kesempatan dan bimbingannya selama menjalani stase Ilmu Penyakit Dalam.

Penghargaan dan ucapan terima kasih kepada Widyawarman., dr., sebagai Kepala Unit Transfusi Darah PMI Kota Padang beserta seluruh staf atas bimbingannya selama penulis menjalani stase di Palang Merah Indonesia Kota Padang. Terima kasih kepada Dr. Ricvan Dana Nindrea, SKM. M.Kes sebagai pembimbing statistik yang telah membantu metodologi dan statistik penelitian ini. Terima kasih kepada seluruh analis kesehatan dan karyawan/wati Instalasi Laboratorium Sentral RSUP Dr. M. Djamil Padang atas bantuan dan kerjasamanya selama penulis menjalani pendidikan ini.

Kepada suami Nanang Pramayudi yang setia mendampingi dalam suka dan duka. Suami, sahabat, dan penyemangat terbaik yang selalu bersedia mendengarkan segala keluh kesah, terima kasih atas segala cinta, pengertian, kekuatan, kesabaran, dan pengorbanan tiada batas yang telah diberikan. Mohon maaf atas segala kewajiban yang belum terpenuhi seutuhnya. Kepada dua kesayangan ibu Khadeeja Askana Sakhi dan Abdillah Fadhil Hakim sebagai penyemangat terbesar dalam menyelesaikan pendidikan ini. Terima kasih atas pengertian dan kesabarannya.

Peluk cium dan maaf untuk semua perhatian dan waktu yang terabaikan selama ibu menjalani pendidikan.

Kepada Papa Jasmir dan Mama Noviar serta Bapak Suhrawardi dan Ibu Andi Ratu, terima kasih atas segala doa, dukungan, pengorbanan, dorongan semangat, bantuan moril dan materil yang tak pernah putus sehingga menjadi kekuatan terbesar ananda dalam menjalani pendidikan ini. Semoga Allah SWT membalas segala kebaikan yang telah papa, mama, bapak dan ibu berikan. Terima kasih kepada adik-adik, kakak ipar dan seluruh keluarga atas segala do'a dan dukungan moril serta materil sehingga penulis dapat menjalani dan menyelesaikan pendidikan ini.

Ucapan terima kasih kepada rekan-rekan PPDS Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, terkhusus kepada saudari seangkatan Januari 2018 Jesi Anggraini, dr., Sp.PK, Syarifah Tridani Fitria, dr., Sp.PK, Febrita Joniarti., dr. yang telah menjadi teman dalam suka dan duka selama menjalani masa pendidikan. Terima kasih telah berkenan menjadi tempat berkeluh kesah, tempat bertukar pikiran, memberi semangat dan dukungan, tidak hanya sebagai teman tetapi juga sebagai saudara selama penulis menjalani pendidikan ini

Terima kasih kepada Hevrina Yuvani, dr., teman rasa saudara yang telah menjadi penyemangat, tempat bertukar pikiran, memberi semangat dan dukungan selama penulis menjalani pendidikan, mendampingi disaat menghadapi ujian OSCE dan ujian nasional. Terima kasih kepada Yumi Oktaviani, dr., sebagai *chief* residen dan Umar Syarif, dr., sebagai wakil *chief* residen serta kakak, adik dan seluruh teman-teman PPDS Patologi Klinik yang telah membantu penulis dan memberikan beragam kenangan selama penulis menjalani pendidikan. Terima

kasih atas bantuan Mulya Eltario, dr., Sp.PK, Hesty Rhanda A, dr., Sp.PK, Fiona Septi Mulya, dr., Sp.PK, Sri Nurul Huda, dr., Reni Asprilia, dr., teman seangkatan 2004 FK Unand dan kembali dipertemukan ketika menjalani pendidikan Patologi Klinik ini.

Akhir kata mohon maaf apabila ada kekhilafan dan kesalahan yang kurang berkenan di hati. Semoga tesis ini dapat memberi manfaat bagi kita semua. Aamiin.

Wassalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh



Padang, Agustus 2022

Dian Jenova

PERBEDAAN HITUNG SEL LIMFOSIT T CD4+ PADA PASIEN TRANSFUSI BERULANG BERDASARKAN KEJADIAN ALLOIMUNISASI ERITROSIT

ABSTRAK

Latar Belakang: Transfusi eritrosit merupakan salah satu komponen terapi penting pasien penyakit hematologi meliputi anemia aplasia, *myelodysplastic syndrome*, penyakit mieloproliferatif kronik, keganasan hematologi, serta hemoglobinopati (talasemia mayor dan penyakit sel sabit). Risiko paling umum transfusi eritrosit ber-ulang adalah terjadinya proses alloimunisasi yang dapat menyebabkan kesulitan uji silang serasi, kesulitan dan keterlambatan penyediaan darah yang kompatibel, ter-jadinya reaksi transfusi hemolitik, peningkatan kebutuhan transfusi serta peningka-tan morbiditas dan mortalitas. Perkembangan alloantibodi setelah terpapar antigen eritrosit non-ABO *non-self* merupakan suatu proses kompleks yang dipenga-ruhi oleh berbagai faktor dan melibatkan interaksi antara *antigen presenting cells* (APC), sel limfosit T CD4+, dan sel limfosit B. Tujuan penelitian ini adalah menge-tahui perbedaan hitung sel limfosit T CD4+ pada pasien transfusi berulang berdasarkan kejadian alloimunisasi eritrosit.

Metode: Penelitian analitik dengan rancangan potong lintang dilakukan terhadap 16 pasien penyakit hematologi usia ≥ 18 tahun rawatan bagian Ilmu Penyakit Dalam RSUP Dr. M. Djamil Padang dengan riwayat transfusi *packed red cell* (PRC) minimal 3 unit pada Juli 2021- Juni 2022. Alloantibodi positif ditentukan dari hasil *indirect Coomb's test* positif. Hitung sel limfosit T CD4+ dilakukan dengan metode *immunoassay with fluorescence imaging optic*. Data dianalisis dengan uji parametrik t tidak berpasangan, bermakna secara statistik jika nilai $p < 0,05$.

Hasil: Rerata umur subjek penelitian 44,3 tahun, rentang 23-69 tahun. Subjek penelitian sama banyak laki-laki dan perempuan, masing-masing 8 orang (50%). Rerata hitung sel limfosit T CD4+ seluruh subjek penelitian didapatkan 975 (634) sel/ μ L dengan rentang hitung sel 84-2403 sel/ μ L. Rerata hitung sel limfosit T CD4+ kelompok alloantibodi positif didapatkan 474 (397) sel/ μ L. Rerata hitung sel limfosit T CD4+ kelompok alloantibodi negatif didapatkan 1275 (560) sel/ μ L. Uji statistik menunjukkan perbedaan hitung sel limfosit T CD4+ yang bermakna antara 2 kelompok ($p = 0,009$).

Simpulan: Terdapat perbedaan bermakna hitung sel limfosit T CD4+ pasien penyakit hematologi yang mendapat transfusi berulang berdasarkan kejadian alloimunisasi eritrosit. Hitung sel limfosit T CD4+ pasien dengan alloantibodi positif lebih rendah dibanding kelompok alloantibodi negatif.

Kata Kunci: transfusi berulang, alloimunisasi eritrosit, alloantibodi, sel limfosit T CD4+.

DIFFERENCES OF CD4+ T-LYMPHOCYTE COUNT IN REPEATEDLY TRANSFUSION PATIENTS BASED ON RED BLOOD CELLS ALLOIMMUNIZATION

ABSTRACT

Background: Red blood cell transfusion is an essential therapy in hematological disease patients, including aplastic anemia, myelodysplastic syndrome, chronic myeloproliferative disease, hematological malignancies, and hemoglobinopathies (thalassemia major and sickle cell disease). The most common risk of repeatedly red blood cell transfusion is red blood cell alloimmunization. That can cause difficulty in crossmatching, difficulty and delay in supplying compatible blood, hemolytic transfusion reactions, increased transfusion requirements, higher morbidity, and mortality. Various factors and interactions between antigen presenting cells (APCs), CD4+ T lymphocytes, and B lymphocytes influenced the development of alloantibodies after exposure to non-self non-ABO red blood cell antigens in a complex way. This study aimed to determine differences in the CD4+ T lymphocytes count in patients with repeated transfusion based on red blood cell alloimmunization.

Methods: This study was analytic with a cross-sectional design conducted on 16 hematological disease patients aged ≥ 18 years with a history of red blood cell transfusion of at least three units in July 2021-June 2022. Positive alloantibodies referred to a positive indirect Coomb's test. Immunoassay with fluorescence imaging optic method performed to count CD4+ T. Data were analyzed using unpaired parametric t-test, significant if $p < 0.05$.

Results: Mean age was 44.3 years, and the range was 23-69 years. The number of subjects in this study is equal between men and women, with eight people in each gender (50%). The mean CD4+ T lymphocyte cell count in all subjects was 975 (634) cells/ μ L with a range of 84-2403 cells/ μ L. The mean CD4+ T lymphocyte cell count in the positive alloantibody group was 474 (397) cells/ μ L. The mean CD4+ T lymphocyte cell count in the negative alloantibody group was 1275 (560) cells/ μ L. The statistical test showed a significant difference in CD4+ T lymphocyte cell count between the two groups ($p = 0.009$).

Conclusion: CD4+ T lymphocyte cell count of repeated transfusions in hematological disease patients had a significant difference based on red blood cell alloimmunization. Patients with positive alloantibody have CD4+ T lymphocyte cells count lower than the negative alloantibody group.

Keywords: repeated transfusion, red blood cell alloimmunization, alloantibody, CD4+ T lymphocytes.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.	i
LEMBAR PERSETUJUAN.	ii
LEMBAR PERNYATAAN.	iv
KATA PENGANTAR.	v
ABSTRAK.	xii
ABSTRACT.	xiii
DAFTAR ISI.	xiv
DAFTAR GAMBAR.	xvi
DAFTAR TABEL.	xvii
DAFTAR SINGKATAN.	xviii
DAFTAR LAMPIRAN.	xix
BAB 1 PENDAHULUAN.	1
1.1 Latar Belakang.	1
1.2 Rumusan Masalah.	6
1.3 Tujuan Penelitian.....	6
1.3.1 Tujuan Umum.	6
1.3.2 Tujuan Khusus.	6
1.4 Manfaat Penelitian.	7
1.4.1 Bagi Ilmu Pengetahuan.	7
1.4.2 Bagi Klinisi.	7
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.	8
2.1 Transfusi Darah.....	8
2.2 Sistem Golongan Darah.	9
2.2.1 Antigen Golongan Darah.	9
2.2.2 Antibodi Golongan Darah.	11
2.2.3 Klasifikasi Sistem Golongan Darah.	12
2.2.3.1 Sistem Golongan Darah ABO.	12
2.2.3.2 Sistem Golongan Darah Rhesus.	13
2.3 Aloimunisasi Eritrosit.	13
2.3.1 Epidemiologi Alloimunisasi Eritrosit.....	15
2.3.2 Faktor Risiko Alloimunsasi Eritrosit.	17
2.3.2.1 Faktor Risiko Terkait Donor dan Produk Darah.	18
2.3.2.2 Faktor Risiko Terkait Resipien.	18
2.3.2.2.1 Genetik.	18
2.3.2.2.2 Inflamasi.	19
2.3.3 Patogenesis Alloimunisasi Eritrosit.	20
2.3.3.1 Sel Limfosit T CD4+.	22
2.4 Pemeriksaan Laboratorium Alloimunisasi Eritrosit.	25
2.4.1 Pemeriksaan Golongan Darah.	25
2.4.2 <i>Coomb's Test</i>	26
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL PENELITIAN.	28
3.1 Kerangka Konseptual.	28
3.2 Penjelasan Kerangka Konseptual.	29
3.3 Hipotesis Penelitian.	29

BAB 4 METODE PENELITIAN	30
4.1 Desain Penelitian	30
4.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	30
4.3 Populasi dan Sampel.	30
4.3.1 Populasi Penelitian.	30
4.3.2 Sampel Penelitian.	30
4.3.2.1 Besar Sampel.	31
4.3.2.2 Cara Pengambilan Sampel.	32
4.3.2.3 Bahan Penelitian.	32
4.4 Alur Penelitian.	32
4.5 Definisi Operasional.	33
4.6 Prosedur Kerja.	33
4.6.1 Pemeriksaan Pendahuluan	33
4.6.2 Pemeriksaan Hitung Sel Limfosit CD4+	34
4.6.2.1 Prinsip Pemeriksaan.....	34
4.6.2.2 Praanalitik.	34
4.6.2.3 Analitik.	34
4.6.2.5 Interpretasi Hasil.	35
4.6.3 Pemeriksaan <i>Indirect Coomb's Test</i>	35
4.6.3.1 Prinsip Pemeriksaan.	35
4.6.3.2 Praanalitik.	35
4.6.3.3 Analitik.	35
4.6.3.4 Interpretasi Hasil.	36
4.7 Pengolahan dan Analisis Data.	37
BAB 5 HASIL PENELITIAN.	38
5.1 Karakteristik Subjek Penelitian.	38
5.2 Hitung Sel Limfosit T CD4+ pada Pasien Transfusi Berulang.	41
5.3 Perbedaan Hitung Sel Limfosit T CD+ pada Pasien Transfusi Berulang dengan Alloantibodi Positif dan Alloantibodi Negatif.	41
BAB 6 PEMBAHASAN.	42
6.1 Karakteristik Subjek Penelitian.	42
6.2 Hitung Sel Limfosit T CD4+ pada Pasien Transfusi Berulang.	48
6.3 Perbedaan Hitung Sel Limfosit T CD4+ pada Pasien Transfusi Berulang dengan Alloantibodi Positif dan Alloantibodi Negatif.	49
6.4 Keterbatasan Penelitian.	52
BAB 7 SIMPULAN DAN SARAN.	53
7.1 Simpulan.	53
7.2 Saran.	53
DAFTAR PUSTAKA	
LAMPIRAN	

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Model Membran Eritrosit yang Membawa Antigen Golongan Darah.....	10
Gambar 2.2 Faktor-Faktor yang Berpotensi Berperan dalam Pembentukan Alloantibodi.	19
Gambar 2.3 Diagram Pembentukan Alloantibodi Terhadap Antigen Golongan Darah.	22
Gambar 2.4 <i>Coomb's Test/ Anti-Human Globulin Test.</i>	27
Gambar 3.1 Kerangka Konseptual Penelitian.	28
Gambar 4.1 Alur Penelitian.	32
Gambar 4.2 Reaksi Aglutinasi Metode <i>Column Agglutination Test.</i>	36



DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1	Sistem Golongan Darah Menurut ISBT 2021. 13
Tabel 2.2	Tingkat Aloimunisasi Eritrosit pada Berbagai Gangguan He- matologi dan Keganasan. 16
Tabel 2.3	Subtipe Sel Limfosit. 24
Tabel 2.4	Prosedur Rutin Uji Pratretransfusi. 26
Tabel 5.1	Karakteristik Subjek Penelitian. 38
Tabel 5.2	Subjek Penelitian Alloantibodi Positif dan Alloantibodi Negatif. 40
Tabel 5.3	Perbedaan Hitung Sel Limfosit T CD4+ pada Pasien Transfu- si Berulang dengan Alloantibodi Positif dan Alloantibodi Ne- gatif. 41



DAFTAR SINGKATAN

AA	: anemia aplasia
AABB	: American Association of Blood Bank
Ab	: antibodi
AC	: <i>autocontrol</i>
Ag	: antigen
AHG	: <i>anti human globulin</i>
AIDS	: <i>acquired immune deficiency syndrome</i>
ALL	: <i>acute lymphoblastic leukaemia</i>
AML	: <i>acute myeloid leukaemia</i>
APC	: <i>antigen presenting cell</i>
BCR	: <i>B cells receptors</i>
C3d	: <i>complement</i>
CML	: <i>chronic myeloid leukaemia</i>
DCT	: <i>direct Coomb's test</i>
EDTA	: <i>ethylenediaminetetraacetic acid</i>
FDA	: Food and Drug Administration
FFP	: <i>fresh frozen plasma</i>
Glut-1	: <i>glucose transporter-1</i>
Hb	: hemoglobin
HIV	: <i>human immunodeficiency virus</i>
HLA	: <i>human leukocyte antigen</i>
ICT	: <i>indirect Coomb's test</i>
IFN γ	: interferon γ
IgG	: <i>immuglobulin G</i>
IgM	: <i>immunoglobulin M</i>
IL	: interleukin
ISBT	: International Society of Blood Transfusion
KV	: koefisien variasi
MDS	: <i>myelodysplastic syndrome</i>
MHC	: <i>major histocompatibility complex</i>
MPN	: <i>myeloproliferative neoplasms</i>
PD1	: <i>programmed cell death protein 1</i>
PDL-1	: <i>programmed cell death ligand 1</i>
POCT	: <i>point of care testing</i>
PRC	: <i>packed red cells</i>
Rh	: rhesus
SHOT	: Serious Hazard of Transfusion
TC	: <i>thrombocyte concentrate</i>
TCR	: <i>T-cell receptors</i>
Tc	: <i>T cytotoxic</i>
Th	: <i>T helper</i>
TRALI	: <i>transfusion related acute lung injury</i>
Treg	: <i>T regulator</i>
WB	: <i>whole blood</i>
WHO	: World Health Organization
WRC	: <i>washed red cell</i>

DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1 Keterangan Lolos Kaji Etik
- Lampiran 2 Uji Ketelitian Pemeriksaan Hitung Limfosit T CD4+
- Lampiran 3 Statistik Penelitian
- Lampiran 4 Organisasi Penelitian
- Lampiran 5 Surat Pernyataan



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Transfusi darah adalah prosedur terapi yang paling sering dilakukan pada 15% pasien rawat inap (Panch *et al.*, 2019). Transfusi eritrosit selalu diindikasikan pada kadar Hb <7 g/dL terutama pada anemia akut. Transfusi eritrosit diberikan pada kadar Hb 7-10 g/dL apabila ditemukan hipoksia atau hipoksemia yang bermakna secara klinis dan laboratorium (Kemenkes, 2015). Transfusi eritrosit merupakan salah satu komponen terapi penting pasien dengan penyakit hematologi meliputi anemia aplasia, *myelodysplastic syndrome*, penyakit mieloproliferatif kronik, keganasan hematologi, hemoglobinopati (talasemia mayor dan penyakit sel sabit) (Bhuva and Vachhani, 2017; Valle Neto *et al.*, 2018; Mangwana *et al.*, 2019).

Alloimunisasi dalam konteks kedokteran transfusi mengacu pada pembentukan antibodi terhadap antigen eritrosit non-ABO *non-self* setelah paparan melalui kehamilan, transfusi, atau transplantasi karena perbedaan genetik antara donor dan pasien. Antibodi yang terbentuk disebut alloantibodi. Perkembangan alloantibodi eritrosit memiliki konsekuensi klinis yang penting, terutama pada pasien yang membutuhkan transfusi berulang (Gehrie and Tormey, 2014; Hendrickson and Tormey, 2016; Bhuva and Vachhani, 2017).

Pasien transfusi berulang didefinisikan sebagai pasien yang telah menerima setidaknya tiga unit konsentrat eritrosit (Bhuva and Vachhani, 2017; Rodrigues *et al.*, 2017). Penelitian prospektif yang dilakukan pada pasien bedah menunjukkan 6-10% pasien menghasilkan antibodi eritrosit setelah menerima dua hingga empat

unit konsentrat eritrosit pada saat transfusi pertama (Schonewille *et al.*, 2015; Brand, 2016).

Alloantibodi yang signifikan secara klinis adalah antibodi yang dapat menurunkan kelangsungan hidup eritrosit yang ditransfusikan sehingga menyebabkan peningkatan kebutuhan transfusi, peningkatan morbiditas dan mortalitas yang signifikan (Pandey *et al.*, 2014; Leisch *et al.*, 2017; Pessoni *et al.*, 2018). Pembentukan alloantibodi dapat menyebabkan reaksi transfusi hemolitik diperantarai imun tipe akut/lambat, serta penyakit hemolitik janin dan bayi baru lahir (Sood *et al.*, 2013; Fridawati dkk, 2016; Tormey and Hendrickson, 2019).

Reaksi transfusi hemolitik merupakan 5% kasus dari reaksi transfusi berat dan merugikan yang terjadi pada sekitar 1% transfusi (Panch *et al.*, 2019). Data Food and Drug Administration (FDA) menunjukkan antibodi *non*-ABO adalah penyebab utama kedua kematian terkait transfusi di Amerika Serikat tahun 2005-2013. Data Serious Hazard of Transfusion (SHOT) Inggris juga mengidentifikasi reaksi transfusi hemolitik dan alloimunisasi sebagai komplikasi transfusi paling umum tahun 2012 (Bolton-Maggs and Cohen, 2013; Gehrie and Tormey, 2014).

Alloantibodi akan mengganggu pemeriksaan uji silang serasi sehingga pemilihan komponen darah yang kompatibel untuk transfusi berikutnya menjadi sulit dan terlambat. Alloantibodi memiliki dampak ekonomi yang sangat besar karena pemilihan komponen darah yang kompatibel memerlukan banyak pemeriksaan yang akan meningkatkan pembiayaan (Sood *et al.*, 2013; Tormey and Hendrickson, 2019; Gerritsma *et al.*, 2021).

Faktor risiko yang berperan dalam terbentuknya alloantibodi meliputi jumlah dan frekuensi transfusi, kehamilan, imunogenisitas antigen, respons dan status imun pasien, penyakit yang mendasari, etnis, dan perbedaan pola antigenik donor dan pasien (Valle Neto *et al.*, 2018; Mangwana *et al.*, 2019). Frekuensi alloimunisasi eritrosit terjadi 0,1-1,37% per unit eritrosit yang ditransfusikan tergantung kondisi klinis dan pengobatan pasien (Leisch *et al.*, 2017).

Berbagai keadaan klinis dan populasi pasien dikaitkan dengan kejadian alloimunisasi yang lebih sering. Pasien yang cenderung membentuk alloantibodi disebut *responder*. Pasien yang tidak memiliki kecenderungan membentuk alloantibodi meskipun terpapar antigen golongan darah *non-self* berulang kali disebut *non responder* (Gehrie and Tormey, 2014).

Frekuensi dan spesifisitas antibodi eritrosit bervariasi sesuai dengan keragaman genetik populasi. Alloimunisasi terjadi pada populasi umum 0,3–2%, individu dengan riwayat transfusi sebelumnya 1,4%-4,24%, pasien keganasan hematologi seperti *myelodysplastic syndrome* 44%, penyandang talasemia 20% dan pasien penyakit sel sabit 18,7 % (Pessoni *et al.*, 2018).

Budhiaty dan Triyono, (2013) mendapatkan prevalensi alloantibodi pada pasien transfusi berulang (pasien talasemia, gagal ginjal kronis dan keganasan) banding pasien transfusi tidak berulang adalah 9,41% banding 1,17% ($p=0,034$). Valle Neto *et al.*, (2018) mendapatkan alloantibodi eritrosit pada 24/153 (15,69%) pasien transfusi berulang. Penelitian Magwana *et al.*, (2019) mendapatkan alloantibodi setelah transfusi berulang pada 18/5886 pasien keganasan (78% keganasan organ padat dan 22% keganasan hematologi).

Alloantibodi harus dipastikan keberadaannya dalam darah pasien sebelum memilih eritrosit yang akan ditransfusikan (Mangwana *et al.*, 2019). Skrining alloantibodi dilakukan melalui *indirect Coomb's test* (ICT) dengan mereaksikan plasma pasien terhadap reagen sel eritrosit golongan darah O menggunakan *gel card* atau *solid phase*. Antibodi pendeteksi yang digunakan adalah *anti-human globulin G* (AHG) (Tormey and Hendrickson, 2019). Hasil ICT positif ditemukan pada 28/1169 pasien yang menerima transfusi darah (Pessoni *et al.*, 2018). Skrining alloantibodi 2–4 bulan setelah transfusi akan mendeteksi sebagian besar antibodi primer (Schonewille *et al.*, 2015; Brand, 2016).

Perkembangan alloantibodi setelah terpapar antigen eritrosit *non-self* dipengaruhi oleh fungsi sel limfosit T pasien dan status penyakit yang mendasari (Dinardo *et al.*, 2013). Respons imun terhadap antigen eritrosit yang ditemui selama transfusi terjadi ketika sel limfosit T CD4+ pasien merespons peptida yang berasal dari protein eritrosit donor yang telah diproses oleh *antigen presenting cell* (APC) resipien dan dipresentasikan melalui *major histocompatibility complex* (MHC) kelas II (Zimring and Hudson, 2016).

Skrining alloantibodi terhadap 44 pasien keganasan hematologi didapatkan pasien yang mengalami alloimunisasi dibandingkan kelompok kontrol memiliki persentase sel limfosit T CD4+ lebih rendah, sel limfosit T CD8+ lebih tinggi, rasio CD4/CD8 rendah (0,7 banding 1,6, $p=0,003$), persentase sel limfosit B lebih tinggi (30% banding 20%, $p=0,003$) dan penurunan hitung sel limfosit T CD4+ *regulator* (3 banding 12 sel/ μ L, $p= 0,043$) (Molina-Aguilar *et al.*, 2019).

Penelitian Nickel *et al.*, (2015) terhadap 90 orang anak dengan penyakit sel sabit mendapatkan 26/90 pasien (29%) mengalami alloimunisasi. Kelompok alloimunisasi ditemukan peningkatan persentase sel limfosit T CD4+ memori dan penurunan sel limfosit T CD4+ *naive* secara signifikan dibanding pasien non-alloimunisasi (57% banding 49%, $p=0,0047$) serta tanpa perbedaan signifikan sub tipe sel imun atau parameter laboratorium lainnya diantara dua kelompok.

Penelitian menunjukkan bahwa alloimunisasi terkait penyakit hematologi disebabkan karena perubahan keseimbangan sistem imun (Yazdanbakhsh, 2016). Analisis sub tipe sel limfosit T CD4+ dan limfosit T CD8+ dalam *murine model* mendapatkan bahwa alloimunisasi menyebabkan penurunan hitung sel limfosit T CD4+ (Patel *et al.*, 2012). Peningkatan sel limfosit B memori (CD19+, CD38+) ditemukan pada pasien talasemia anak yang mengalami alloimunisasi dibandingkan pasien non-alloimunisasi setelah transfusi berulang menunjukkan perubahan sistem imun yang diinduksi oleh antigen eritrosit (Zahran *et al.*, 2016).

Rumah Sakit Umum Pusat (RSUP) Dr. M. Djamil Padang merupakan rumah sakit rujukan provinsi Sumatera Barat. Data transfusi pasien dewasa dengan penyakit hematologi dan angka kejadian reaksi transfusi pada pasien penyakit hematologi dewasa belum diketahui dengan pasti. Penelitian yang menggambarkan perubahan imunologi terkait dengan proses alloimunisasi terhadap antigen eritrosit pada manusia masih terbatas khususnya pada pasien dewasa dengan penyakit hematologi. Spesifikasi peran sel limfosit T CD4+ dalam alloimunisasi eritrosit masih perlu dipelajari lebih lanjut. Penelitian alloimunisasi eritrosit diperlukan untuk mengoptimalkan terapi transfusi dan mengembangkan strategi untuk mencegah alloimunisasi.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan pemaparan pada latar belakang, maka dirumuskan masalah penelitian sebagai berikut:

1. Berapakah hitung sel limfosit T CD4+ pada pasien transfusi berulang dengan alloantibodi positif?
2. Berapakah hitung sel limfosit T CD4+ pada pasien transfusi berulang dengan alloantibodi negatif?
3. Apakah terdapat perbedaan hitung sel limfosit T CD4+ pada pasien transfusi berulang dengan alloantibodi positif dan alloantibodi negatif?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui perbedaan hitung sel limfosit T CD4+ pada pasien transfusi berulang berdasarkan kejadian alloimunitisasi eritrosit.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui hitung sel limfosit T CD4+ pada pasien transfusi berulang dengan alloantibodi positif.
2. Mengetahui hitung sel limfosit T CD4+ pada pasien transfusi berulang dengan alloantibodi negatif.
3. Mengetahui perbedaan hitung sel limfosit T CD4+ pada pasien transfusi berulang berdasarkan kejadian alloimunitisasi eritrosit.

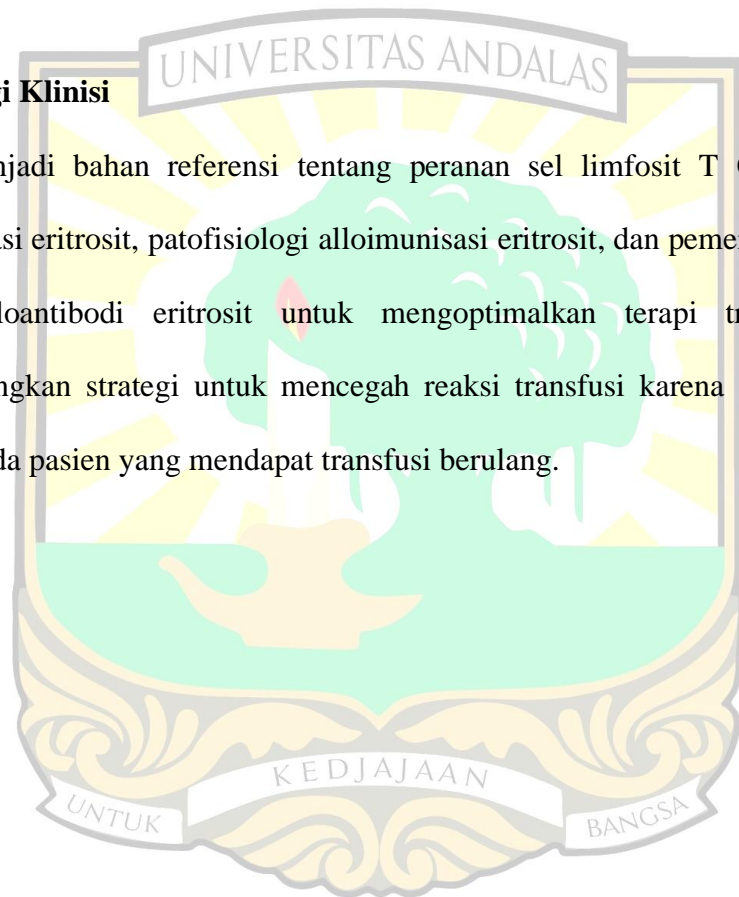
1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi Ilmu Pengetahuan

Menambah wawasan mengenai peranan sel limfosit T CD4+ dalam alloimunisasi eritrosit, memahami patofisiologi alloimunisasi eritrosit, dan memberikan data dasar penelitian lanjutan mengenai sel limfosit T CD4+ dan alloimunisasi eritrosit.

1.4.2 Bagi Klinisi

Menjadi bahan referensi tentang peranan sel limfosit T CD4+ dalam alloimunisasi eritrosit, patofisiologi alloimunisasi eritrosit, dan pemeriksaan untuk deteksi alloantibodi eritrosit untuk mengoptimalkan terapi transfusi dan mengembangkan strategi untuk mencegah reaksi transfusi karena alloimunisasi eritrosit pada pasien yang mendapat transfusi berulang.



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Transfusi Darah

Transfusi darah adalah pemberian seluruh komponen darah atau produk turunan hasil olahan darah dari donor ke pasien yang mengalami kekurangan sel darah. Tujuan transfusi darah adalah mengembalikan volume darah normal, mengganti kekurangan komponen darah, meningkatkan oksigenasi, mempertahankan hemostasis, penyembuhan penyakit dan pemulihan kesehatan (Mulyantari dan Yasa, 2016; Rowley *et al.*, 2017).

Transfusi darah merupakan salah satu praktik yang paling banyak dilakukan di dunia. Pasien rawat inap di Amerika Serikat sebanyak 10% menerima transfusi darah setiap tahun dan lebih dari 11 juta eritrosit ditransfusikan (Ellingson *et al.*, 2017; Tormey and Hendrickson, 2019; Ido and Oliveira, 2020). Transfusi darah sering dilakukan sebagai perawatan suportif pada bedah kardiovaskular, transplantasi, trauma masif, penyakit hematologi, kondisi yang berhubungan dengan komplikasi kehamilan dan anemia (McCullough, 2012).

Darah dan komponen darah yang digunakan untuk transfusi berupa darah lengkap/*whole blood* (WB), *packed red cell* (PRC), konsentrat trombosit /*thrombocyte concentrate* (TC), plasma beku segar/*fresh frozen plasma* (FFP) dan kriopresipitat (Cooling, 2014). Transfusi eritrosit terutama diberikan untuk meningkatkan oksigenasi jaringan pada kasus anemia simptomatis atau kehilangan darah akut karena trauma atau pembedahan (Marik, 2015; Cushing and DeSimone, 2019; Strauss, 2019).

Transfusi darah meskipun dikaitkan dengan penyelamatan nyawa namun memiliki risiko terjadinya alloimunitisasi terhadap satu atau lebih antigen eritrosit. Transfusi darah yang aman secara serologis merupakan persyaratan penting dalam pelayanan transfusi darah (Mangwana *et al.*, 2019).

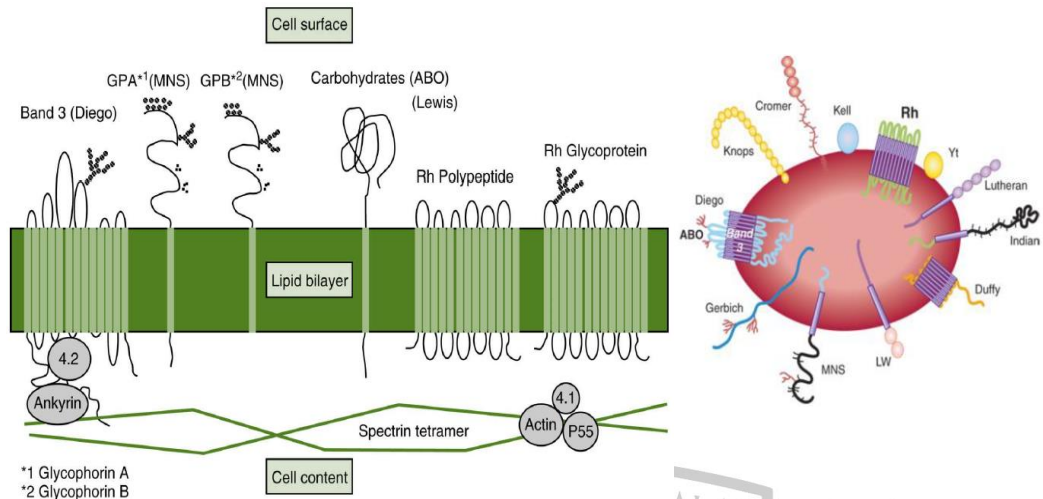
2.2 Sistem Golongan Darah

Sistem golongan darah terdiri dari sekelompok antigen yang dikode oleh satu atau lebih alel lokus gen berdekatan dan sangat jarang terjadi *crossing over* gen. Gen golongan darah sebagian besar terletak pada kromosom otosomal yang diwariskan secara langsung menurut hukum Mendel. Alel golongan darah sebagian besar bersifat kodominan dan mengekspresikan antigen yang sesuai. Sistem golongan darah ditentukan oleh antigen pada membran sel tertentu dan antibodi dalam serum (Harmening *et al.*, 2019; Leger, 2019; Ido and Oliveira, 2020).

2.2.1 Antigen Golongan Darah

Eritrosit dibentuk oleh lapisan ganda lipid semipermeabel yang didukung oleh sitoskeleton protein. Membran eritrosit terdiri dari karbohidrat yang terikat protein (glikoprotein) atau lipid (glikolipid) yang tersusun secara asimetris dan terdapat dalam glikokaliks seluler. Komposisi biokimia permukaan eritrosit adalah 8% karbohidrat, 40% lipid dan protein 52% (Leger, 2019; Ido and Oliveira, 2020).

Antigen golongan darah ditentukan oleh karbohidrat atau asam amino yang melekat pada glikoprotein/ glikolipid pada membran eritrosit seperti ditampilkan pada Gambar 2.1 (Howard, 2017). Antigen golongan darah terletak dalam kompleks makromolekul membran yang berfungsi sebagai transporter, komponen struktural, enzim, reseptor, dan molekul *adhesi* (Leger, 2019; Hodgkins, 2020; Ido and Oliveira, 2020).



Gambar 2.1 Model Membran Eritrosit yang Membawa Antigen Golongan Darah. Antigen eritrosit adalah molekul yang membentuk bagian membran lipid bilayer eritrosit atau memanjang dari permukaan sel eritrosit (Howard, 2017).

Antigen golongan darah yang tersusun dari karbohidrat berikatan dengan protein transmembran didalam kompleks makromolekul membran eritrosit. Band 3 (transportasi anion) dan Glut-1 (transportasi glukosa) mendukung sebagian besar sistem golongan darah yang memiliki antigen karbohidrat ABH (Daniels, 2013a; Hodgkins, 2020). Golongan darah ABO, Lewis, P, dan I termasuk golongan darah yang tersusun dari karbohidrat (Leger, 2019).

Protein transmembran mempunyai epitop peptida seperti glikoforin A membawa antigen peptida M dan N, glikoforin B membawa antigen Ss yang termasuk dalam sistem golongan darah MNS. Glikoforin minor C dan D membawa antigen sistem Gerbich (Daniels, 2013b; Daniels 2013c). Sistem golongan darah MNS, Duffy, Kell, Kidd, dan Lutheran merupakan sistem golongan darah yang juga signifikan dalam kedokteran transfusi karena sering ditemukan antibodi terhadap antigen golongan darah ini (Leger, 2019).

2.2.2 Antibodi Golongan Darah

Antibodi golongan darah dapat terbentuk secara alami atau sebagai respons imun setelah paparan antigen *non-self* melalui transfusi darah atau kehamilan (Howard, 2017; Ido and Oliveira, 2020). Antibodi yang terjadi secara alami dikenal sebagai antibodi *regular*, ditemukan pada individu yang tidak pernah terpapar antigen melalui transfusi atau kehamilan. Antibodi ini sebagian besar termasuk dalam kelas imunoglobulin M (IgM) (Tormey and Hendrickson, 2019; Ido and Oliveira, 2020).

Antigen karbohidrat cenderung menimbulkan antibodi kelas IgM. Antibodi IgM bereaksi optimal pada suhu kamar (22-24°C) atau lebih rendah, tidak melewati sawar plasenta, mengaktifkan sistem komplemen pada suhu 37°C sehingga menyebabkan hemolisis. Sistem golongan darah dengan antibodi IgM adalah sistem ABO, Hh, li, Lewis, MN dan P (Ido and Oliveira, 2020).

Antibodi *irregular* diproduksi sebagai respons imun terhadap antigen eritrosit *non-self* karena terjadinya sensitisasi setelah kontak dengan antigen eritrosit dalam kasus kehamilan atau transfusi darah sebelumnya. Antibodi ini sebagian besar adalah imunoglobulin kelas IgG yang bereaksi optimal pada suhu 37°C, dapat melewati sawar plasenta dan menyebabkan reaksi hemolitik yang signifikan. Antigen polipeptida menimbulkan antibodi kelas IgG. Keberadaan alloantibodi yang signifikan secara klinis dalam darah pasien harus dipastikan sebelum memilih komponen darah untuk transfusi (Mangwana *et al.*, 2019; Tormey and Hendrickson, 2019; Ido and Oliveira, 2020).

2.2.3 Klasifikasi Sistem Golongan Darah

International Society of Blood Transfusion (ISBT) mengklasifikasikan lebih dari 700 antigen eritrosit yang telah ditemukan saat ini ke dalam 43 sistem golongan darah seperti ditunjukkan dalam Tabel 2.1. Golongan darah yang paling penting dalam transfusi adalah golongan darah ABO dan Rhesus (Harmening, 2019; ISBT, 2021). Transfusi eritrosit rutin diberikan dengan memperhatikan kompatibilitas golongan darah ABO dan Rh D secara eksklusif antara donor dan pasien, sehingga pembentukan alloantibodi terutama dikaitkan dengan antigen eritrosit lainnya (Molina-Aguilar *et al.*, 2019).

2.2.3.1 Sistem Golongan Darah ABO

Sistem golongan darah ABO ditemukan pertama kali oleh Karl Lansteiner tahun 1901. Sistem golongan darah ABO ditentukan dengan ada atau tidak adanya antigen (Ag) A dan atau B yang diekspresikan pada membran eritrosit serta ada atau tidak adanya antibodi (Ab) A dan atau B di dalam serum/plasma pasien (Harmening *et al.*, 2019).

Antibodi sistem golongan darah ABO disebut antibodi alami atau *regular* karena terbentuk tanpa riwayat paparan sebelumnya melalui transfusi atau kehamilan. Pembentukan antibodi golongan darah ABO diduga karena rangsangan pasif seperti paparan antigen lingkungan, makanan, atau terutama bakteri usus, yang mengandung gula di membran selnya yang mirip dengan struktur gula yang terdapat pada membran sel eritrosit (Ido and Oliveira, 2020).

2.2.3.2 Sistem Golongan Darah Rhesus

Sistem golongan darah Rhesus (Rh) merupakan sistem golongan darah terpenting kedua dalam pelayanan transfusi. Identifikasi golongan darah dalam sistem ini menurut ada atau tidak adanya antigen D yang diklasifikasikan sebagai Rh positif (adanya antigen D) dan Rh negatif (tidak ada antigen D) (Ido and Oliveira, 2020). Istilah Rh positif dan Rh negatif rutin digunakan ketika menyebutkan jenis golongan darah (Johnson and Wiler, 2012).

Tabel 2.1 Sistem Golongan Darah Menurut ISBT

No	Nama Sistem	Simbol	Jumlah Antigen	No	Nama Sistem	Simbol	Jumlah Antigen
1	ABO	ABO	4	23	Indian	IN	6
2	MNS	MNS	50	24	Ok	OK	3
3	PIPK	PIPK	3	25	Raph	RAPH	1
4	Rh	RH	55	26	John Milton Hagen	JMH	8
5	Lutheran	LU	27	27	I	I	1
6	Kell	KEL	36	28	Globoside	GLOB	2
7	Lewis	LE	6	29	Gill	GIL	1
8	Duffy	FY	5	30	Rh-associated glycoprotein	RHAG	4
9	Kidd	JK	3	31	FORS	FORS	1
10	Diego	DI	22	32	JR	JR	1
11	Yt	YT	5	33	LAN	LAN	1
12	Xg	XG	2	34	Vel	VEL	1
13	Scianna	SC	9	35	CD59	CD59	1
14	Dombrock	DO	10	36	Augustine	AUG	4
15	Colton	CO	4	37	Kanno	KANNO	1
16	Lansteiner-Wiener	LW	3	38	SID	SID	1
17	Chido/Rodgers	CH/RG	9	39	CTL2	CTL2	2
18	H	H	1	40	PEL	PEL	1
19	Kx	XK	1	41	MAM	MAM	1
20	Gerbich	GE	13	42	EMM	EMM	1
21	Cromer	CROM	20	43	ABCC1	ABCC1	1
22	Knops	KN	12				

*ISBT: International Society of Blood Transfusion

(ISBT, 2021)

2.3 Alloimunisasi Eritrosit

Prosedur transfusi dapat menyebabkan berbagai reaksi merugikan sehingga meningkatkan morbiditas dan/atau mortalitas (Ido and Oliveira, 2020). Transfusi berulang memaparkan individu pada berbagai risiko meliputi infeksi, kelebihan zat

besi, dan alloimunisasi. Salah satu risiko transfusi berulang adalah pembentukan alloantibodi terhadap satu atau lebih antigen imunogenik pada eritrosit donor akibat disparitas genetik antara donor dan pasien yang disebut proses alloimunisasi (Tangvarasittichai, 2017; Molina-Aguilar *et al.*, 2019).

Alloimunisasi dalam konteks ilmu kedokteran transfusi didefinisikan sebagai pembentukan antibodi *irregular* terhadap antigen eritrosit selain antibodi dalam sistem golongan darah ABO setelah kehamilan, transfusi, atau transplantasi (Gehrie and Tormey, 2014; Tangvarasittichai, 2017). Reaksi ini dapat berupa reaksi imunologi tipe akut atau lambat dan menyebabkan manifestasi klinis ringan hingga berat pada pasien. Insiden komplikasi berat lebih rendah namun menyebabkan risiko fatal bagi pasien, sedangkan efek samping ringan sering terjadi dalam praktik transfusi terutama pada pasien dengan transfusi berulang (Ido and Oliveira, 2020).

Transfusi eritrosit saat ini umumnya diberikan hanya dengan memperhatikan kompatibilitas golongan darah ABO dan Rhesus D antara donor dan pasien, sehingga pembentukan alloantibodi terutama berkaitan dengan antigen eritrosit lainnya. Risiko alloimunisasi lebih tinggi pada pasien hemoglobinopati, keganasan hematologi, dan pasien kanker yang menerima kemoterapi (Mangwana *et al.*, 2019; Molina-Aguilar *et al.*, 2019).

Alloimunisasi dapat terjadi akibat alloantigen yang terdapat pada eritrosit, leukosit dan trombosit (Tangvarasittichai, 2017; Pessoni *et al.*, 2018). Alloantibodi sel darah bermakna secara klinis jika antibodi tersebut dapat menimbulkan reaksi transfusi hemolitik atau penurunan umur eritrosit yang ditransfusikan (antibodi *irregular* eritrosit), *febrile non-hemolytic transfusion reactions* (alloantibodi

leukosit), atau transfusi trombosit refrakter (alloantibodi trombosit) (Walker and Hamilton, 2014; Tangvarasittichai, 2017).

Tingkat signifikansi klinis antibodi dengan spesifisitas yang sama bervariasi. Beberapa antibodi menyebabkan penghancuran eritrosit yang tidak kompatibel dalam beberapa jam atau bahkan menit, sedangkan yang lain mengurangi kelangsungan hidup eritrosit menjadi hanya beberapa hari, dan yang lainnya tidak memperpendek umur eritrosit secara nyata (Walkers and Hamilton, 2014).

Alloantibodi yang terbentuk dapat mempersulit terapi transfusi secara signifikan, mengakibatkan reaksi transfusi hemolitik akut ataupun tipe lambat dan membatasi transfusi berikutnya yang aman (Gehrie and Tormey, 2014; Tangvarasittichai, 2017). Pemberian transfusi darah menjadi semakin sulit atau bahkan tidak dapat dilakukan pada pasien yang mengalami alloimunisasi terhadap beberapa antigen eritrosit karena kesulitan dalam uji silang serasi sehingga meningkatkan morbiditas dan mortalitas (Zimring and Hudson, 2016; Tangvarasittichai, 2017).

2.3.1 Epidemiologi Alloimunisasi Eritrosit

Sekitar 1 dari 70 orang mendapat transfusi di Amerika Serikat setiap tahun dan 3%-10% kasus menunjukkan respons antibodi terhadap alloantigen eritrosit (Zimring and Hudson, 2016). Frekuensi alloimunisasi pada transfusi eritrosit secara keseluruhan 2-6%. Frekuensi alloimunisasi bervariasi antar negara, etnis, dan berbagai kondisi pasien yang membutuhkan transfusi. Pasien dengan penyakit hematologi cenderung untuk mendapatkan transfusi eritrosit berulang karena kondisi klinis dan terkait efek terapi. Penyakit hematologi merupakan penyakit yang berkaitan dengan sel darah dan organ yang terlibat dalam hemtopoiesis

(sumsum tulang, lien dan kelenjar limfe). Hasil penelitian alloimunisasi pada berbagai kelompok pasien terangkum dalam Tabel 2.2 (Hendrickson and Tormey, 2016).

Tabel 2.2 Tingkat Alloimunisasi Eritrosit pada Berbagai Gangguan Hematologi dan Keganasan

Penyakit/ Gangguan	Tingkat alloimunisasi (%)
<i>Acute lymphoblastic leukaemia</i>	< 1
<i>Acute myeloid leukaemia</i>	3-16
Anemia Aplasia	11-14
Transplantasi sel progenitor hematopoietik	1-4
Limfoma Hodgkin	< 1
Limfoma non-Hodgkin	2-3
<i>Myelodisplasia syndrome</i>	15-59
Tumor padat	1-10
Penyakit sel sabit	19-43
Talasemia	5-45

(Hendrickson and Tormey, 2016).

Alloimunisasi terhadap antigen golongan darah non-ABO dapat menyebabkan berbagai komplikasi dalam manajemen pasien dan menimbulkan kesulitan dalam menyediakan darah yang kompatibel tepat waktu (Nickel *et al.*, 2015; Hendrickson and Tormey, 2016). Alloantibodi sistem golongan darah non-ABO yang sering diperiksa di Asia antara lain alloantibodi terhadap sistem golongan darah Rh (antibodi D, C, c, E, e), MNS (antibodi M, N, S, s, Mia), P1PK (antibodi P1), Kell (antibodi K, k), Lewis (antibodi Lea, Leb), Duffy (antibodi Fya, Fyb), dan Kidd (antibodi Jka, Jkb) (Tangvarasittichai, 2017; Trudell, 2019).

Reaksi transfusi hemolitik akibat inkompatibilitas non-ABO (14%) dan inkompatibilitas ABO (7,5%) dicatat sebagai penyebab utama ketiga kematian terkait transfusi di Amerika Serikat pada tahun 2015 setelah cedera paru akut terkait transfusi/*transfusion related acute lung injury* (TRALI) dan sindrom *overload* (Stendahl *et al.*, 2020).

2.3.2 Faktor Risiko Alloimunisasi Eritrosit

Persyaratan utama proses alloimunisasi adalah paparan antigen eritrosit donor yang tidak ada pada pasien. Antigen ini memiliki kemampuan untuk merangsang pembentukan antibodi yang dapat menyebabkan reaksi transfusi hemolitik yang berpotensi serius (Hendrickson and Tormey, 2016; Bhuvana and Vachhani, 2017). Komponen utama untuk terjadinya alloimunisasi dalam kasus transfusi bersifat kompleks meliputi: (i) perbedaan pola antigen eritrosit antara donor dan pasien, (ii) respons imun pasien, (iii) efek imunomodulator transfusi eritrosit alogenetik pada sistem kekebalan tubuh pasien dan (iv) faktor genetik (Zimring *et al.*, 2012; Sood *et al.*, 2013; Tangvarasittichai, 2017).

Pasien yang mendapat transfusi eritrosit tidak semua akan mengalami alloimunisasi. Individu yang mengalami alloimunisasi setelah satu atau lebih transfusi disebut *responder*, sedangkan individu yang mendapat transfusi berulang dan tidak pernah mengalami alloimunisasi disebut *non-responder*. Individu yang membentuk lebih dari satu alloantibodi setelah mendapat satu atau lebih transfusi darah disebut *hyper-responder*. Mekanisme penyebab terjadinya perbedaan ini belum diketahui pasti diduga karena pengaruh faktor genetik dan non-genetik (Gehrie and Tormey, 2014; Nickel *et al.*, 2015).

Hasil penelitian Fridawati dkk., (2016) di Indonesia menemukan faktor risiko terbentuknya alloantibodi pada pasien talasemia meliputi faktor usia pasien, jumlah komponen darah yang diterima setiap kali transfusi, dan lama masa waktu menerima transfusi darah ($p < 0,05$). Faktor lain seperti interval transfusi, etnis pasien, jenis komponen darah *packed red cell* (PRC) atau *washed red cell* (WRC) ti-

dak bermakna secara statistik sebagai faktor risiko timbulnya alloantibodi ($p > 0,05$).

2.3.2.1 Faktor Risiko Terkait Donor dan Produk Darah

Kemampuan antigen untuk menstimulasi respons imun disebut sebagai imunogenisitas, dan kemampuan antigen untuk bereaksi dengan antibodi disebut sebagai antigenisitas. Imunogenisitas dan antigenisitas suatu antigen dipengaruhi oleh ukuran, bentuk, rigiditas, dosis dan densitas antigen pada membran sel eritrosit (Prigent *et al.*, 2014).

Kondisi inflamasi meningkatkan imunogenisitas antigen. Faktor proinflamasi yang terdapat dalam produk darah dapat berasal dari dua sumber yaitu terjadinya pelepasan molekul inflamasi selama penyimpanan produk darah yang tidak dilakukan pengurangan leukosit dan dari donor yang memiliki kadar faktor proinflamasi tinggi yang menetap atau terakumulasi dalam produk darah. Produk darah seperti eritrosit atau trombosit juga dapat mengandung residu leukosit yang dapat mencetuskan alloimunisasi terkait dengan *human leukocyte antigen* (HLA) (Prigent *et al.*, 2014).

2.3.2.2 Faktor Risiko Terkait Resipien

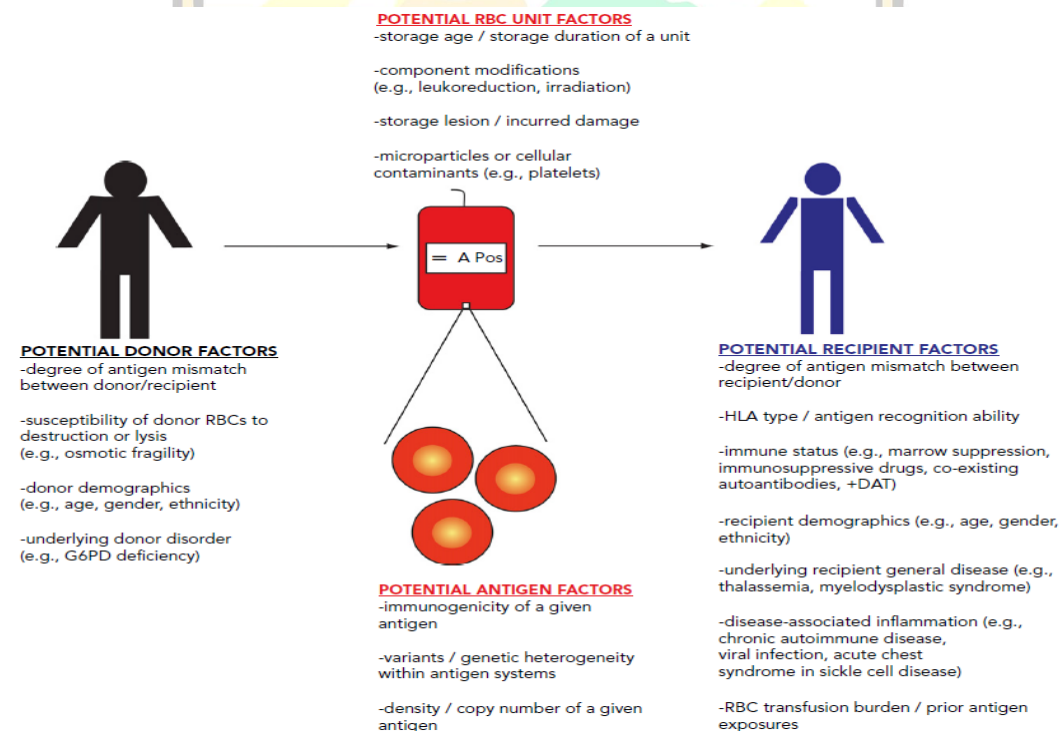
2.3.2.2.1 Genetik

Genetik dan perbedaan regulasi imun berperan pada risiko alloimunisasi. *Human leukocyte antigen* (HLA) mengkode *major histocompatibility complex* (MHC). Risiko alloimunisasi eritrosit lebih rendah pada pasien yang memiliki alel HLA kelas II HLA-DQ2, HLA-DQ3, dan HLA-DQ5, sementara HLA-DQ7, HLA-DRB1*04, dan HLA-DRB1*15 memiliki risiko tinggi. Alloimunisasi eritrosit yang telah diketahui berhubungan dengan HLA-DRB1 antara lain anti-D, anti-K, anti-

Fya, anti-Jka dan anti-Mia (Gerritsma *et al.*, 2021; Linder and Chou, 2021). Penelitian kohort di Brazil terhadap pasien penyakit sel sabit ditemukan TNF- α , IL-1b, dan gen polimorfisme HLA-DRB1 lebih banyak pada pasien dengan alloimunitisasi (Sippert *et al.*, 2017; Campbell–Lee, 2020).

2.3.2.2 Inflamasi

Keadaan inflamasi saat transfusi eritrosit memengaruhi kejadian alloimunitisasi pada pasien. Transfusi pada kondisi inflamasi akan meningkatkan presentasi antigen eritrosit oleh sel dendritik dan respons sel limfosit T dibandingkan pada kondisi tanpa inflamasi. Kondisi medis dan patologi pasien berkontribusi untuk memicu inflamasi. Inflamasi akut berhubungan dengan risiko alloimunitisasi eritrosit yang lebih tinggi. Inflamasi kronis dapat menyebabkan disregulasi sistem imun (Kormoczi and Mayr, 2014; Linder and Chou, 2021). Berbagai faktor risiko terkait pembentukan alloantibodi eritrosit ditampilkan dalam Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Faktor-Faktor yang Berpotensi Berperan dalam Pembentukan Alloantibodi (Hendrickson and Tormey., 2019).

2.3.3 Patogenesis Alloimunisasi Eritrosit

Produksi antibodi spesifik pada alloimunisasi eritrosit terjadi segera setelah darah donor yang mengandung antigen masuk ke dalam aliran darah pasien. Tingkat alloimunisasi dipengaruhi oleh jumlah transfusi yang diterima, perbedaan antigen donor dan pasien, respons imun pasien, dan imunogenisitas antigen (Carrucio and Lerret, 2019; Ido and Oliveira, 2020).

Proses pembentukan alloantibodi merupakan suatu proses kompleks yang melibatkan interaksi antara *antigen presenting cells* (APC), sel limfosit T, dan sel limfosit B. *Antigen-presenting cell* (APC) akan memproses antigen (protein) menjadi peptida-peptida kecil dan mempresentasikannya ke sel limfosit T CD4⁺ (Zimring and Hudson, 2016).

Antigen golongan darah sebagian besar merupakan polimorfisme asam amino tunggal protein membran eritrosit yang berbeda antara donor dan pasien. *Antigen-presenting cells* (APC) seperti makrofag dan sel dendritik akan menangkap alloantigen (protein) yang masuk ke dalam tubuh dan mencernanya menjadi peptida yang lebih kecil. Peptida tersebut kemudian akan dipresentasikan pada permukaan APC melalui molekul *antigen-presenting protein*: MHC kelas I dan II (Ryder *et al.*, 2014; Fassano *et al.*, 2015; Zimring and Hudson, 2016).

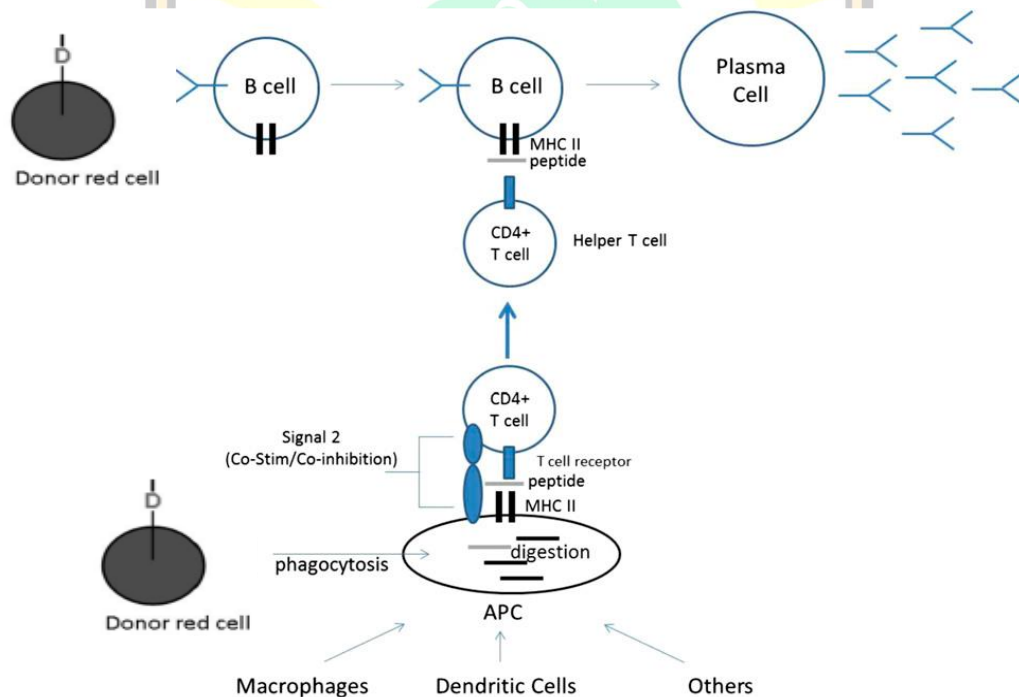
Reseptor sel limfosit T CD4⁺ membutuhkan bantuan protein membran sel yang dikenal sebagai molekul *major histocompatibility complex* (MHC) dalam mengenali antigen asing pada permukaan selnya. Dua kelas utama molekul MHC: MHC kelas I dan MHC kelas II. Molekul MHC kelas I ditemukan pada sebagian besar sel berinti dalam tubuh, dan molekul MHC kelas II ditemukan pada sebagian

besar APC. Komplek MHC kelas II akan berinteraksi dengan reseptor sel limfosit T CD4+/T-cell receptor (TCR) (Carrucio and Lerret, 2019; Abbas *et al.*, 2020).

Sel limfosit T CD4+ akan mengenali kompleks MHC kelas II/peptida pada APC melalui TCR dan dapat teraktivasi jika lingkungan mikro mendukung (kondisi inflamasi). Aktivasi sel limfosit T CD4+ melalui pengenalan kompleks MHC kelas II/peptida oleh TCR (sinyal 1) tidak cukup untuk menstimulasi sel limfosit T CD4+ agar berdiferensiasi menjadi sel limfosit T *helper*. Stimulus tambahan dari molekul stimulator APC (sinyal 2) dan sekresi berbagai sitokin proinflamasi (sinyal 3) dibutuhkan untuk aktivasi sel limfosit T CD4+ menjadi sel limfosit T *helper* secara bersama-sama (Ryder *et al.*, 2014; Fassano *et al.*, 2015; Zimring and Hudson, 2016).

Sel limfosit B mengekspresikan gen imunoglobulin pada permukaan sel sebagai reseptor sel B/B-cell receptor (BCR). Ikatan BCR-antigen dengan afinitas yang cukup akan menyebabkan endositosis BCR beserta antigen tersebut. Antigen kemudian akan diproses menjadi peptida kecil dan dipresentasikan melalui MHC kelas II sel limfosit B membentuk kompleks MHC kelas II/peptida. Kompleks MHC kelas II/peptida sel limfosit B identik dengan kompleks MHC kelas II/peptida APC sehingga dapat dikenali secara spesifik oleh TCR sel limfosit T CD4+. Interaksi sel limfosit T CD4+ dan sel limfosit B akan menstimulasi produksi sitokin (IL-1, IL-2 dan IL-4) dan menyebabkan proliferasi dan diferensiasi sel limfosit B menjadi sel plasma yang menghasilkan imunoglobulin (alloantibodi) dalam jumlah besar serta konversi IgM menjadi IgG (Ryder *et al.*, 2014; Fassano *et al.*, 2015; Zimring and Hudson, 2016).

Antigen karbohidrat dapat mengaktivasi sel limfosit B secara langsung tanpa bantuan/interaksi dengan sel limfosit T seperti pada sistem golongan darah ABO. Antigen tersebut dapat mengaktivasi sel limfosit B untuk menghasilkan IgM dan menyebabkan konversi kelas imunoglobulin terhambat sehingga antibodi terhadap antigen karbohidrat umumnya berupa IgM. Antigen golongan darah lain yang berupa protein memerlukan interaksi sel limfosit B dengan sel limfosit T CD4+ untuk menghasilkan antibodi (Ryder *et al.*, 2014; Fassano *et al.*, 2015; Zimring and Hudson, 2016). Diagram proses pembentukan alloantibodi dapat dilihat pada Gambar 2.3.



Gambar 2.3 Diagram Pembentukan Alloantibodi Terhadap Antigen Golongan Darah (Zimring and Hudson, 2016).

Keterangan: MHC II: *major histocompatibility complex* kelas II, TCR: *T-cell receptors*.

2.3.3.1 Sel Limfosit T CD4+

Sel limfosit T adalah komponen yang sangat penting dalam sistem imun seluler (Abbas *et al.*, 2020). Sistem imun diperantarai sel limfosit T terlibat dalam

respons terhadap infeksi jamur, virus, parasit intraseluler, transplantasi jaringan, dan tumor (Turgeon, 2018; Carrucio and Lerret, 2019). Analisis laboratorium biasanya membedakan subtype limfosit menjadi sel limfosit T *helper* (CD4+), sel limfosit T *cytotoxic* (CD8+), dan sel limfosit B (Stevens, 2017). Sel limfosit T dikelompokkan berdasarkan fungsi dan sitokin yang dihasilkannya menjadi sel limfosit T *helper* (Th) menghasilkan IL-4 dan sel limfosit T *cytotoxic* (Tc) menghasilkan IFN γ . Sel limfosit Th dikelompokkan lebih lanjut menjadi sel limfosit Th1, Th2, dan Th17 yang memiliki respons terhadap sitokin berbeda. Sel limfosit Th berperan penting dalam mengatur respons imun adaptif terutama dengan menyekresi sitokin dan kemokin yang mengaktifkan dan/atau merekrut sel imun (Turgeon, 2018; Carrucio and Lerret, 2019; Abbas *et al.*, 2020).

Peranan sel limfosit Th (CD4+) dalam sistem imun meliputi: aktivasi proliferasi dan diferensiasi sel limfosit B menjadi sel plasma untuk menghasilkan antibodi, menginduksi makrofag untuk mengembangkan aktivitas mikrobisida, merekrut neutrofil, eosinofil, dan basofil ke tempat infeksi dan peradangan, menghasilkan sitokin dan kemokin serta mengkoordinasikan berbagai respons imun (Turgeon, 2018).

Pemeriksaan sel limfosit T CD4+ berguna dalam mengevaluasi status imun pasien dan stadium infeksi. Identifikasi sel limfosit T atau sel limfosit B digunakan dalam diagnosis beberapa keadaan berikut meliputi keganasan seperti leukemia dan limfoma, penyakit defisiensi imun yang melibatkan sel limfosit T/limfosit B atau keduanya dan penyakit defisiensi imun didapat/ *acquired immunodeficiency syndrome* (AIDS) (Stevens, 2017).

Baku emas untuk pemeriksaan sel limfosit adalah dengan *flow cytometry*. *Flow cytometry* adalah sistem otomatis untuk mengidentifikasi sel berdasarkan hamburan cahaya oleh sel di dalam cairan yang mengalir dalam satu aliran setelah ditembak dengan sinar laser. *Flow cytometry* dapat memisahkan sel limfosit menjadi berbagai subtype dengan menggunakan antibodi monoklonal berlabel terhadap antigen permukaan spesifik. Beberapa antigen yang sering diperiksa pada sel limfosit T meliputi CD2, CD3, CD4, dan CD8, sedangkan pada sel limfosit B meliputi CD19, CD20, CD22, dan imunoglobulin permukaan. Antibodi fluoresen digunakan untuk menyaring subtype sel limfosit B, sel limfosit Th, dan sel limfosit T *cytotoxic*. Setiap antibodi memiliki fluoresen penanda yang berbeda (Stevens, 2017). Subtype sel limfosit T berdasarkan fungsi dan imunofenotip ditampilkan dalam Tabel 2.3.

Tabel 2.3 Subtype Sel Limfosit

Jenis	Fungsi	Reseptor Antigen	Penanda	Persentase dari Total Limfosit*		
				Darah	KGB	Limpa
Limfosit $\alpha\beta$ Limfosit Th CD4+	Diferensiasi sel B Aktivasi makrofag	$\alpha\beta$ heterodimer Spesifisitas kompleks peptide MHC II	CD3+, CD4+, CD8-	35-60	50-60	50-60
Limfosit T sitotoksik CD8+	Menghancurkan sel terinfeksi mikroba/ sel tumor	$\alpha\beta$ heterodimer Spesifisitas kompleks peptide MHC I	CD3+, CD4-, CD8+	15-40	15-20	10-15
<i>Tregulator/ Treg</i>	Supresi fungsi sel lain (regulasi respons imun, <i>self-tolerance</i>)	$\alpha\beta$ heterodimer	CD3+, CD4+, CD25+	0,5-2	5-10	5-10
Limfosit B	Produksi antibodi	Antibodi permukaan berbagai spesifisitas untuk berbagai molekul	Reseptor Fc: MHC II, CD19, CD 21	5-20	20-25	40-45

(adaptasi dari Abbas *et al.*, 2020).

Proses presentasi antigen melibatkan aktivitas sel limfosit T, produksi sitokin, dan *human leukocyte antigen* (HLA) (Vingert *et al.*, 2015; Campbell–Lee, 2020). Penelitian Vingert *et al.*, (2015) terhadap pasien penyakit sel sabit mendapatkan persentase sel limfosit T CD4+ memori lebih rendah pada pasien non alloimunisasi dibandingkan dengan pasien dengan alloimunisasi serta ditemukan ekspresi spontan IL-10 oleh sel limfosit T CD4+ pada pasien alloimunisasi.

2.4 Pemeriksaan Laboratorium Alloimunisasi Eritrosit

Alloantibodi eritrosit dicurigai terdapat pada pasien ketika ditemukan diskrepansi golongan darah ABO, hasil pemeriksaan skrining antibodi positif, atau terdapat inkompatibilitas *crossmatch*. Metode paling umum yang digunakan untuk skrining dan identifikasi antibodi adalah *indirect Coomb's test* menggunakan *anti human globulin* (AHG) (Arinsburg, 2019a).

2.4.1 Pemeriksaan Golongan Darah

Uji pratransfusi adalah serangkaian pemeriksaan untuk memastikan kompatibilitas dan mencegah reaksi transfusi hemolitik diperantarai imun yang dilakukan sebelum produk darah ditransfusikan pada pasien (Blaney and Howard, 2013). Uji pratransfusi meliputi pemeriksaan golongan darah ABO dan Rh, skrining antibodi dan *crossmatch* (Tabel 2.4) (Wolf, 2019).

Prinsip pemeriksaan golongan darah adalah memeriksa antigen pada membran eritrosit dengan menggunakan antibodi (antisera) yang sudah diketahui pasti golongannya (tersedia secara komersil) dikenal sebagai *forward grouping*, serta memeriksa antibodi yang ada pada serum berdasarkan antigen yang sudah diketahui sebelumnya (*backward grouping*). Kedua pemeriksaan ini harus selalu dilakukan sebelum transfusi karena yang satu dapat menjadi kontrol terhadap yang

lainnya (Harmening *et al*, 2019). Pemeriksaan golongan darah dilakukan baik pada donor maupun pada pasien. Pemeriksaan golongan darah ulang tetap harus dilakukan pada semua unit darah sebelum ditransfusikan (Mulyantari dan Yasa, 2016).

Tabel 2.4 Prosedur Rutin Uji Pratransfusi

Jenis Pemeriksaan	Tujuan	Sumber Antigen	Sumber Antibodi
Pemeriksaan golongan darah ABO dan Rh (<i>forward grouping</i>)	Mendeteksi adanya antigen A, B, dan D	Sel darah merah pasien	Anti- A, Anti-B, Anti-D komersial
Pemeriksaan serum ABO (<i>reverse grouping</i>)	Deteksi antibodi ABO	Suspensi sel donor	Serum atau plasma pasien
Skrining Antibodi	Mendeteksi antibodi dengan antigen spesifik pada sel darah merah	Sel panel	Serum atau plasma pasien
<i>Crossmatching</i>	Menentukan kompatibilitas serologi antara donor dan pasien sebelum transfusi	Sel darah merah donor dan pasien	Serum atau plasma donor dan pasien

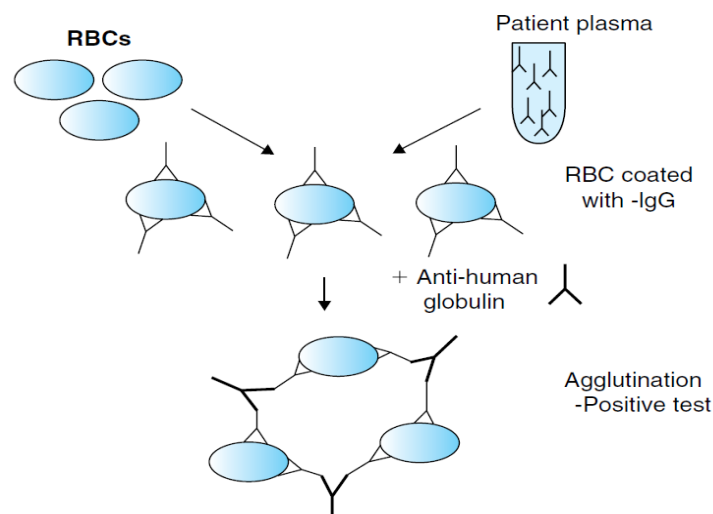
(Stoe, 2011; Blaney and Howard, 2013; Trudell, 2019)

2.4.2 *Coomb's Test*

Coomb's test digunakan untuk mendeteksi eritrosit yang dilapisi oleh antibodi imunoglobulin G (IgG). Pemeriksaan ini menggunakan antibodi sekunder yang ditujukan terhadap globulin manusia/*anti-human globulin* (AHG) yang menempel dan dapat menyebabkan aglutinasi eritrosit yang tersensitisasi (Gambar 2.4). Kandungan AHG dapat berupa anti-IgG saja (monospesifik) atau mengandung anti-IgG dan anti-C3d (polispesifik). Reagen AHG digunakan untuk: (i) mendeteksi antibodi yang menyelubungi eritrosit secara *in vivo* melalui *direct Coomb's test* (DCT) atau (ii) menunjukkan reaksi aglutinasi *in vitro* antara eritrosit dan antibodi melalui *indirect Coomb's test* (ICT) (Arinsburg, 2019b).

Pemeriksaan ICT digunakan untuk deteksi/ skrining antibodi, identifikasi antibodi, *crossmatch*, dan fenotip eritrosit. Pemeriksaan skrining dan identifikasi antibodi adalah suatu pemeriksaan untuk mendeteksi antibodi *irregular* selain antibodi sistem golongan darah ABO (Blaney and Howard, 2013; Trudell, 2019).

Antibodi terhadap eritrosit dapat berupa alloantibodi dan/atau otoantibodi. (Walker and Hamilton, 2014). Pemeriksaan *indirect Coomb's test* (ICT) dan *autocontrol* (AC) dilakukan untuk membedakan kedua antibodi eritrosit tersebut. Bila ditemukan hasil ICT positif sedangkan AC negatif, maka antibodi yang menyebabkan ICT positif ini adalah alloantibodi (Trudell, 2019).

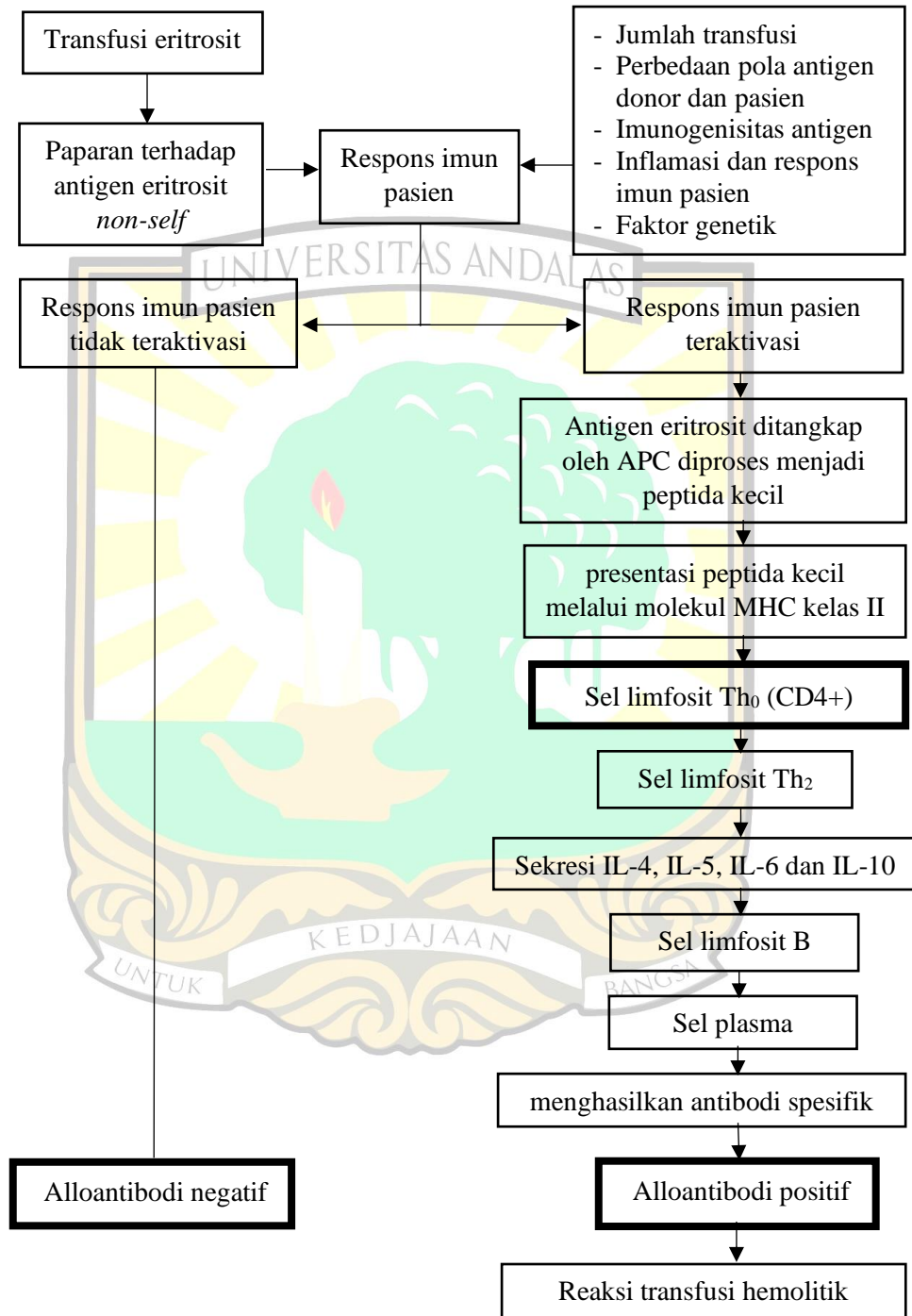


Gambar 2.4. *Coomb's Test / Anti-Human Globulin Test* (Arinsburg, 2019b)

BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual Penelitian



Keterangan:

□ : parameter yang diteliti

Gambar 3.1 Kerangka Konseptual Penelitian

3.2 Penjelasan Kerangka Konseptual Penelitian

Darah yang mengandung antigen *non-self* masuk ke dalam aliran darah pasien. Pembentukan alloantibodi merupakan suatu proses kompleks yang melibatkan interaksi antara *antigen-presenting cell* (APC), sel limfosit T, dan sel limfosit B. Faktor-faktor yang terlibat dalam terjadinya proses alloimunisasi eritrosit meliputi jumlah transfusi yang diterima, perbedaan pola antigen eritrosit donor dan pasien, imunogenisitas antigen, kondisi inflamasi dan respons imun pasien, serta faktor genetik.

Antigen-presenting cells (APC) seperti makrofag dan sel dendritik akan menangkap antigen *non-self* yang masuk ke dalam tubuh dan memprosesnya menjadi peptida yang lebih kecil. Peptida tersebut kemudian dipresentasikan pada permukaan APC melalui molekul MHC kelas II. Molekul MHC kelas II akan berinteraksi dengan reseptor sel limfosit T/*T-cell receptor* (TCR) pada sel limfosit Th₀ (CD4⁺). Sel limfosit Th₀ CD4⁺ berpolarisasi menjadi sel limfosit Th₂ akibat rangsangan dari berbagai sitokin dan molekul yang dilepaskan oleh APC.

Sel limfosit Th₂ akan melepaskan sitokin (IL-4, IL-5, IL-6 dan IL-10), menyebabkan proliferasi dan diferensiasi sel limfosit B menjadi sel plasma yang akan menghasilkan antibodi spesifik terhadap antigen eritrosit yang dikenal sebagai alloantibodi. Paparan berulang terhadap antigen yang sama pada transfusi berikutnya akan menyebabkan jumlah alloantibodi yang dihasilkan akan lebih banyak. Alloantibodi yang terbentuk dapat menyebabkan reaksi transfusi hemolitik.

3.3 Hipotesis Penelitian

Terdapat perbedaan hitung sel limfosit T CD4⁺ pada pasien transfusi berulang dengan alloantibodi positif dan alloantibodi negatif.

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian analitik dengan rancangan potong lintang.

4.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Unit Transfusi Darah Rumah Sakit RSUP Dr. M. Djamil Padang dan Laboratorium Sentral RSUP Dr. M. Djamil Padang. Penelitian dilakukan mulai bulan Juli 2021 sampai Juni 2022.

4.3 Populasi dan Sampel Penelitian

4.3.1 Populasi Penelitian

Populasi adalah pasien penyakit hematologi dengan riwayat mendapat transfusi berulang yang dirawat di bagian Ilmu Penyakit Dalam RSUP Dr. M. Djamil Padang.

4.3.2 Sampel Penelitian

Sampel penelitian adalah bagian dari populasi yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi.

Kriteria Inklusi

- Usia \geq 18 tahun
- Telah didiagnosis oleh klinisi dengan penyakit hematologi
- Telah mendapat minimal transfusi 3 unit *packed red cells*
- Setuju mengikuti penelitian ini

Kriteria Eksklusi

- Kadar *C-reactive protein* > 100 mg/dL
- Hasil *direct coomb's test* dan *auto control* positif
- Pasien dengan infeksi virus HIV, Hepatitis B dan Hepatitis C

4.3.2.1 Besar Sampel

Besar sampel ditentukan dengan rumus beda rerata 2 populasi

(Dahlan, 2016).

$$n1 = n2 = 2 \left(\frac{(Z\alpha + Z\beta) s}{x1 - x2} \right)^2$$

$$s^2 = \frac{[(n1-1) s1^2 + (n2-1) s2^2]}{(n1-1) + (n2-1)}$$

Keterangan:

- $n1$: Jumlah sampel kelompok pasien dengan alloantibodi positif
- $n2$: Jumlah sampel kelompok pasien dengan alloantibodi negatif
- α : Kesalahan tipe satu, ditetapkan 5%,
- $Z\alpha$: Nilai standar alfa 5% = 1,96
- β : Kesalahan tipe 2, ditetapkan 20%
- $Z\beta$: Nilai standar beta 20% = 0,84
- s : Simpang baku gabungan, dihitung dengan menggunakan persamaan
- $s1$: Simpang baku kelompok 1 berdasarkan kepustakaan = 2099,646
(Shebl *et al.*, 2018)
- $s2$: Simpang baku kelompok 2 berdasarkan kepustakaan = 181,980
(Shebl *et al.*, 2018)
- $n1$: jumlah kelompok 1 berdasarkan kepustakaan = 20 (Shebl *et al.*, 2018)
- $n2$: jumlah kelompok 2 berdasarkan kepustakaan = 20 (Shebl *et al.*, 2018)

x_1-x_2 : rerata hitung limfosit CD4+ kelompok 1 dan kelompok 2 = 3084,119
(Shebl *et al.*, 2018)

Dengan rumus diatas didapatkan besar sampel minimal untuk masing-masing kelompok adalah 4 sampel.

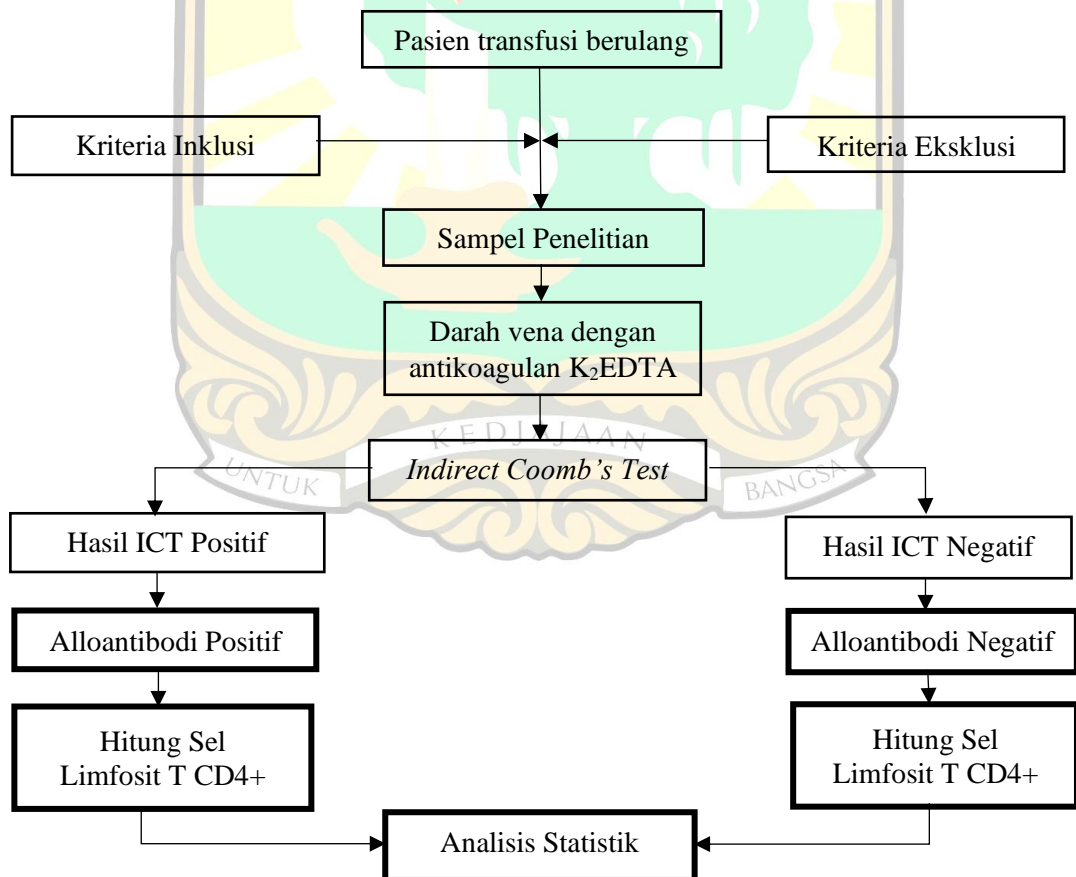
4.3.2.2 Cara Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan dengan metode *consecutive sampling*.

4.3.2.3 Bahan Penelitian

Bahan penelitian adalah sampel darah vena dengan antikoagulan K₂EDTA untuk pemeriksaan hitung limfosit T CD4+ dan pemeriksaan *Coomb's test*.

4.4 Alur Penelitian



Gambar 4.1 Alur Penelitian

4.5 Definisi Operasional

1. Sel Limfosit T CD4+

Definisi : subtipe dari sel limfosit yang memiliki penanda CD4+ yang beredar dalam sirkulasi

Cara ukur : *immunoassay with fluorescence imaging optic*

Alat ukur : *point of care testing (POCT)*

Hasil ukur : sel/ μL

Skala ukur : rasio

2 Kejadian alloimunitisasi eritrosit

Definisi : terdapatnya alloantibodi eritrosit dalam serum pasien akibat paparan terhadap antigen eritrosit melalui transfusi dan kehamilan

Cara ukur : *indirect Coomb's test*

Alat ukur : *gel card*

Hasil ukur : alloantibodi positif jika terjadi aglutinasi
alloantibodi negatif jika tidak terjadi aglutinasi

Skala ukur : nominal

4.6 Prosedur Kerja

4.6.1 Pemeriksaan Pendahuluan

Kontrol kualitas dilakukan terhadap pemeriksaan hitung sel limfosit T CD4+ sebelum dilakukan pemeriksaan sampel. Kontrol yang dipakai untuk pemeriksaan hitung sel limfosit T CD4+ pada alat Pima Alere CD4+ adalah kontrol *low* dan kontrol normal. Uji ketelitian dilakukan secara *within run* dan *between day* untuk mendapatkan koefisien variasi (KV) sebelum melakukan penelitian. Kontrol

kualitas pemeriksaan *indirect Coomb's test* dilakukan dengan melakukan pemeriksaan *in duplicate*.

4.6.2 Pemeriksaan Hitung Sel Limfosit T CD4+ (Alere, 2014)

4.6.2.1 Prinsip Pemeriksaan

Pemeriksaan hitung sel limfosit T CD4+ dilakukan dengan alat POCT dengan prinsip *immunoassay with fluorescence imaging optic* ditujukan untuk pengukuran kuantitatif *in vitro* sel limfosit T CD4+ CD3+ (sel T-*helper*) dalam darah vena. Menggunakan antibodi monoklonal spesifik yang telah dilabel dengan pewarna fluoresens berbeda. Antibodi pertama adalah *anti-human CD3 monoclonal antibody* berikatan dengan pewarna pertama dan antibodi kedua adalah *anti-human CD4+ monoclonal antibody* yang berikatan dengan pewarna kedua. Sel limfosit T CD4+ dalam sampel akan berikatan dengan antibodi monoklonal berlabel fluoresens dalam *catridge*. Sinyal fluoresens dideteksi dengan *on-board camera* dan dianalisis dengan *software algorithm on board*.

4.6.2.2 Praanalitik

Sampel yang digunakan adalah sampel darah vena dengan antikoagulan K₂EDTA. Penyimpanan sampel pada suhu kamar stabil hingga maksimal 48 jam setelah pengambilan.

4.6.2.3 Analitik

Alat dan bahan yang akan digunakan diletakkan diatas meja kerja. Reagen dan sampel dikondisikan dalam suhu ruang. Sampel darah K₂EDTA dimasukkan ke dalam *catridge* CD4+ yang selanjutnya dimasukkan ke dalam alat. Sampel darah akan melarutkan reagen kering yang ditempel didalam *catridge* dan berinteraksi

dengan antibodi monoklonal spesifik CD3+ dan CD4+ dengan label warna *fluorescence* berbeda. Waktu analisis adalah \pm 20 menit. Hasil analisis ditampilkan dalam bentuk angka.

4.6.2.4 Interpretasi Hasil

Hasil yang dikeluarkan alat berupa hitung sel/ μ L. Rentang hitung limfosit T CD4+ normal adalah 500-1600/ μ L.

4.6.3 Pemeriksaan *Indirect Coomb's Test*

4.6.3.1 Prinsip Pemeriksaan

Pemeriksaan *indirect Coomb's test (ICT)* menunjukkan reaksi *in vitro* antara eritrosit dan antibodi, digunakan untuk pemeriksaan skrining antibodi. Alloantibodi yang terdapat dalam plasma pasien akan bereaksi dengan antigen spesifik pada sel eritrosit golongan O. Reagen polispesifik dalam *gel card* (anti-IgG dan anti C3b) akan berikatan dengan sel eritrosit golongan O yang sudah diselubungi oleh antibodi dalam plasma pasien membentuk reaksi aglutinasi. Terjadinya aglutinasi menunjukkan adanya alloantibodi dalam plasma pasien.

4.6.3.2 Praanalitik

Sampel yang digunakan adalah sampel darah dalam tabung dengan antikoagulan K₂EDTA. Sampel stabil pada suhu 2-8 °C disimpan selama 72 jam.

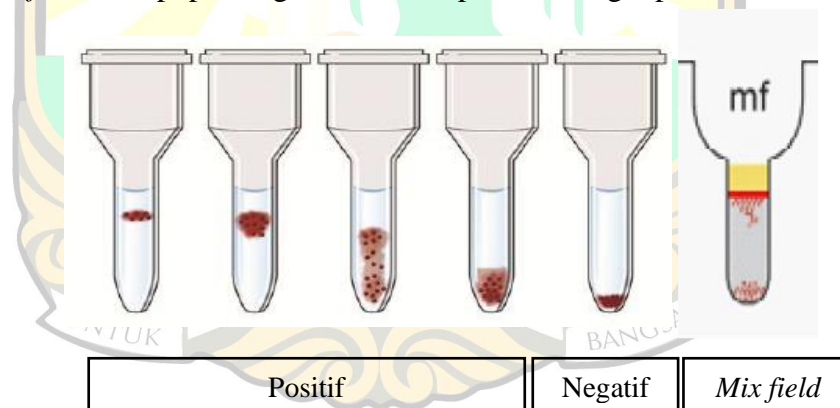
4.6.3.3 Analitik

Metode pemeriksaan yang digunakan adalah metode *column agglutination test/ gel test*. Reagen suspensi sel eritrosit 1 % golongan darah O dan sampel pasien dipastikan berada dalam suhu ruangan sebelum digunakan. Identitas pasien dituliskan pada *gel card*. Tulis tanda ICT, DCT dan AC pada masing-masing

microtube. Reagen sel eritrosit 1% golongan darah O dihomogenkan sebelum dimasukkan sebanyak 50 µL pada *microtube* ICT. Tambahkan 25 µL plasma pasien pada *microtubes* ICT. Reagen sel eritrosit 1% pasien dihomogenkan sebelum dimasukkan sebanyak 50 µL pada *microtube* DCT dan AC. Tambahkan 25 µL plasma pasien pada *microtubes* AC. Inkubasi *gel card* pada suhu 37°C selama 15 menit. Sentrifugasi *gel card* selama 10 menit 1000 rpm dalam sentrifus khusus. Baca reaksi dengan mengamati adanya aglutinasi dan hemolisis. Catat hasil reaksi pada setiap tabung pemeriksaan.

4.6.3.4 Interpretasi Hasil

- Positif: eritrosit beraglutinasi membentuk garis pada permukaan gel atau tersebar di dalam gel
- Negatif: seluruh eritrosit berkumpul di bagian dasar *microtube*
- *Mix field* atau populasi ganda: di interpretasi sebagai positif



Gambar 4.2. Reaksi Aglutinasi Metode *Column Agglutination Test*

(Walker and Harmening, 2019)

- Aglutinasi positif pada *microtube* ICT tanpa disertai aglutinasi pada *microtube* AC menunjukkan alloantibodi positif.
- Aglutinasi positif pada *microtube* DCT dan AC menunjukkan otoantibodi positif.

4.7 Pengolahan dan Analisis Data

Data penelitian dianalisis menggunakan program komputer. Data numerik disajikan dalam bentuk rerata (standar deviasi) dan median (nilai minimum-maksimum). Data kategorik disajikan dalam bentuk frekuensi dan proporsi (persentase). Data numerik dilakukan uji normalitas menggunakan uji Saphiro-Wilk ($n \leq 50$) didapatkan data terdistribusi normal selanjutnya dilakukan uji statistik dengan uji parametrik t tidak berpasangan. Kemaknaan secara statistik adalah nilai $p < 0,05$ dengan interval kepercayaan (IK) 95 % (Dahlan, 2016).



BAB 5

HASIL PENELITIAN

Penelitian dilakukan secara potong lintang terhadap 16 pasien yang memiliki riwayat transfusi PRC besar sama tiga unit berdasarkan data *Laboratory Information System* (LIS) Unit Transfusi Darah RSUP Dr. M Djamil Padang. Pemeriksaan yang dilakukan adalah hitung sel limfosit T CD4+ dan *indirect Coomb's test*. Pemeriksaan sampel dilakukan di Laboratorium Sentral RSUP Dr. M Djamil Padang dan Unit Transfusi Darah RSUP Dr. M. Djamil Padang. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan program komputer.

5.1 Karakteristik Subjek Penelitian

Karakteristik subjek penelitian ditampilkan pada Tabel 5.1.

Tabel 5.1 Karakteristik Subjek Penelitian

Variabel	f (%)	Rerata (SD)	Median (min-maks)
Jenis Kelamin			
Laki-laki	8 (50,0)		
Perempuan	8 (50,0)		
Usia (tahun)		44,3(17)	
Golongan darah			
A rhesus positif	6 (37,5)		
B rhesus positif	3 (18,8)		
AB rhesus positif	2 (12,5)		
O rhesus positif	5 (31,3)		
Diagnosis			
<i>Acute myeloid leukaemia</i>	6 (37,5)		
<i>Chronic myeloid leukaemia</i>	2 (12,5)		
<i>Myelodysplastic syndrome</i>	2 (12,5)		
<i>Multiple myeloma</i>	2 (12,5)		
Anemia aplasia	1 (6,3)		
Talasemia	2 (12,5)		
<i>Acute lymphoblastic leukaemia</i>	1 (6,3)		
Jumlah transfusi			
<i>Packed red cell/ PRC</i> (unit)		11(5)	
Parameter hematologi			
Hemoglobin (g/dL)		8,6 (2,0)	
Hitung leukosit ($\times 10^3$ sel/ μ L)			13,19 (1,00-170,68)
Hitung limfosit absolut ($\times 10^3$ sel/ μ L)			2,89 (0,17-134,80)

Subjek penelitian sama banyak antara laki-laki dan perempuan masing-masing 50,0%, rerata usia subjek yaitu 44,3(17) tahun. Diagnosis terbanyak subjek penelitian yaitu *acute myeloid leukaemia* (37,5%). Rerata jumlah transfusi PRC subjek adalah 11(5) unit. Rerata hemoglobin subjek yaitu 8,6 (2,0) g/dL. Median hitung leukosit subjek yaitu $13,19 \times 10^3$ sel/ μ L dengan hitung sel minimum $1,00 \times 10^3$ sel/ μ L dan hitung sel maksimum $170,68 \times 10^3$ sel/ μ L). Median hitung limfosit absolut subjek yaitu $2,89 \times 10^3$ sel/ μ L dengan hitung minimum $0,17 \times 10^3$ sel/ μ L dan hitung maksimum $134,80 \times 10^3$ sel/ μ L.

Subjek penelitian alloantibodi positif dan alloantibodi negatif ditampilkan pada Tabel 5.2. Tabel 5.2 diketahui pada subjek dengan alloantibodi positif lebih banyak berjenis kelamin perempuan (66,7%). Rerata usia subjek dengan alloantibodi positif yaitu 41,1(17) tahun sedangkan dengan alloantibodi negatif yaitu 46,1(18) tahun. Golongan darah subjek terbanyak dengan alloantibodi positif yaitu A rhesus positif dan O rhesus positif (33,3%) sedangkan alloantibodi negatif paling banyak yaitu golongan darah A (40,0%). Diagnosis terbanyak pada subjek dengan alloantibodi positif yaitu *chronic myeloid leukaemia* dan *myelodysplastic syndrome* (33,3%).

Median jumlah transfusi PRC pada subjek dengan alloantibodi positif yaitu 10 unit dengan jumlah minimum 4 unit dan jumlah maksimum 17 unit lebih sedikit dibandingkan subjek dengan alloantibodi negatif yaitu 12 unit dengan jumlah minimum 4 unit dan jumlah maksimum 18 unit. Median kadar hemoglobin pada subjek alloantibodi positif yaitu 9,00 g/dL dengan kadar minimum 5,8 g/dL dan kadar maksimum 11,8 g/dL sedangkan subjek alloantibodi negatif yaitu 8,65 g/dL dengan kadar minimum 5,1 g/dL dan kadar maksimum 11,9 g/dL.

Tabel 5.2 Subjek Penelitian Alloantibodi Positif dan Alloantibodi Negatif

Variabel	Alloantibodi positif (n=6)			Alloantibodi negatif (n=10)		
	f (%)	Rerata (SD)	Median (min-maks)	f (%)	Rerata (SD)	Median (min-maks)
Jenis Kelamin						
Laki-laki	2 (33,3)			6 (60,0)		
Perempuan	4 (66,7)			4 (40,0)		
Usia		41,1(17)			46,1(18)	
Golongan Darah,						
A rhesus positif	2 (33,3)			4 (40,0)		
B rhesus positif	1 (16,7)			2 (20,0)		
AB rhesus positif	1 (16,7)			1 (10,0)		
O rhesus positif	2 (33,3)			3 (30,0)		
Diagnosis						
Acute myeloid leukaemia	1 (16,7)			5 (50,0)		
Chronic myeloid leukaemia	2 (33,3)			0		
Myelodysplastic syndrome	2 (33,3)			0		
Multiple myeloma	0			2 (20,0)		
Anemia aplasia	1 (16,7)			0		
Talasemia	0			2 (20,0)		
Acute lymphoblastic leukaemia	0			1 (10,0)		
Jumlah transfusi,						
Packed red cell/PRC (unit)			10(4-17)			12 (4-18)
Parameter hematologi,						
Hemoglobin (g/dL)			9,0 (5,8-11,8)			8,7 (5,1-11,9)
Hitung leukosit (x10 ³ sel/μL)			10,24 (1,00-139,35)			14,22 (4,78-170,68)
Hitung limfosit absolut (x10 ³ sel/μL)			1,39 (0,17-11,15)			4,19 (1,39-134,80)

Median hitung leukosit pada subjek alloantibodi positif yaitu $10,24 \times 10^3$ sel/μL dengan hitung sel minimum $1,00 \times 10^3$ sel/μL dan hitung sel maksimum $139,35 \times 10^3$ sel/μL. Median hitung leukosit pada subjek alloantibodi negatif yaitu $8,65 \times 10^3$ sel/μL dengan hitung sel minimum $5,1 \times 10^3$ sel/μL dan hitung sel maksimum $11,9 \times 10^3$ sel/μL. Median hitung limfosit absolut pada subjek dengan alloantibodi positif yaitu $1,39 \times 10^3$ sel/μL dengan hitung sel minimum $0,17 \times 10^3$ sel/μL dan hitung sel maksimum $11,15 \times 10^3$ sel/μL. Median hitung limfosit absolut

subjek alloantibodi negatif yaitu $4,19 \times 10^3$ sel/ μ L dengan hitung sel minimum $1,39 \times 10^3$ sel/ μ L dan hitung sel maksimum $34,80 \times 10^3$ sel/ μ L.

5.2 Hitung Sel Limfosit T CD4+ pada Pasien Transfusi Berulang

Rerata hitung sel limfosit T CD4+ subjek dalam penelitian ini adalah 975(634) sel/ μ L dengan rentang hitung sel minimum- maksimum adalah 84-2403 sel/ μ L. Rerata hitung sel limfosit T CD4+ pada kelompok alloantibodi positif didapatkan 474 (397) sel/ μ L. Rerata hitung sel limfosit CD4+ pada kelompok alloantibodi negatif didapatkan 1275 (560) sel/ μ L. Hasil pemeriksaan hitung sel limfosit T CD4+ pada pasien alloantibodi positif dan alloantibodi negatif yang mendapat transfusi berulang ditampilkan pada Tabel 5.3.

5.3 Perbedaan Hitung Sel Limfosit T CD4+ pada Pasien Transfusi Berulang dengan Alloantibodi Positif dan Alloantibodi Negatif

Perbedaan hitung sel limfosit T CD4+ pada pasien transfusi berulang dengan alloantibodi positif dan alloantibodi negatif ditampilkan pada Tabel 5.3.

Tabel 5.3 Perbedaan Hitung Sel Limfosit T CD4+ pada Pasien Transfusi Berulang dengan Alloantibodi Positif dan Alloantibodi Negatif

Hitung sel Limfosit T CD4+ (sel/ μ L)	Rerata (SD)	<i>p</i> -value
Alloantibodi positif	474(397)	0,009
Alloantibodi negatif	1275(560)	

Rerata nilai hitung sel limfosit T CD4+ pada subjek dengan alloantibodi positif adalah 474 (397) sel/ μ L lebih rendah dibandingkan alloantibodi negatif 1275 (560) sel/ μ L. Berdasarkan hasil uji statistik dengan menggunakan uji parametrik t tidak berpasangan diketahui terdapat perbedaan hitung sel limfosit T CD4+ pada pasien transfusi berulang dengan alloantibodi positif dan alloantibodi negatif ($p < 0,05$).

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 Karakteristik Subjek Penelitian

Subjek penelitian ini sama banyak antara laki-laki dan perempuan (50%) dengan rerata usia 44,3(17) tahun. Penelitian Das *et al.*, (2021) menemukan rerata usia pasien transfusi berulang adalah 41,4 tahun sedangkan penelitian Sood *et al.*, (2013) terhadap pasien transfusi berulang dengan rentang usia 1-85 tahun mendapatkan rerata usia subjek 42,4 tahun.

Penelitian Elkhalfa *et al.*, (2021) terhadap 142 pasien transfusi berulang mendapatkan laki-laki sebanyak 82 (57,7%) orang dan perempuan sebanyak 60 (42,3%) orang. Penelitian Handa *et al.*, (2020) terhadap 100 orang dengan transfusi berulang mendapatkan laki-laki sebanyak 36 (36%) orang dan perempuan 64 (64%) orang. Kebutuhan transfusi berulang pada pasien penyakit hematologi berdasarkan umur dan jenis kelamin belum banyak dilaporkan.

Diagnosis terbanyak pasien yang mendapat transfusi berulang pada penelitian ini adalah *acute myeloid leukemia* (AML) sebanyak 37,5%. Hasil penelitian ini mirip dengan penelitian Elrahman dan Mirghani (2017) terhadap pasien leukemia dengan transfusi berulang mendapatkan diagnosis AML sebanyak 34,2%.

Pasien hemato-onkologi di Amerika Serikat menggunakan sekitar 15% dari total darah yang ditransfusikan (Elemery *et al.*, 2017). Penelitian retrospektif yang dilakukan Valle Neto *et al.*, (2018) terhadap pasien yang mendapat transfusi sedikitnya tiga unit eritrosit mendapatkan pasien dengan penyakit hemato-onkologi (leukemia

akut, *multiple myeloma*, *myelodysplastic syndrome*) sebanyak 68 (44,44%) pasien, hemoglobinopati (anemia sel sabit dan talasemia) sebanyak 64 (41,83%) pasien dan gagal ginjal kronik sebanyak 21 (13,73%) pasien.

Pasien AML lebih sering mendapat transfusi berulang karena pada leukemia akut terjadi penekanan produksi eritrosit di sumsum tulang menyebabkan terjadi anemia sehingga meningkatkan kebutuhan transfusi eritrosit (Elrahman and Mirghani, 2017). Transfusi berperan penting dalam perawatan suportif pasien penyakit hematologi. Kemoterapi atau radioterapi intensif menyebabkan pasien mengalami sitopenia sehingga sering membutuhkan dukungan transfusi eritrosit sebagai salah satu terapi suportif sampai pasien pulih dari efek terapi (Elemary *et al.*, 2017).

Penelitian ini mendapatkan subjek yang mengalami alloimunisasi 6/16 (37,5%) pasien. Penelitian retrospektif yang dilakukan Valle Neto *et al.*, (2018) mendapatkan alloimunisasi terjadi pada 17/153 (11,11%) pasien terdiri dari pasien hemoglobinopati 17,18% dan hemato-onkologi 11,76%. Baia *et al.*, (2016) menunjukkan tingkat alloimunisasi pada pasien hematologi 3,63% dan penelitian prospektif yang dilakukan oleh Sood *et al.*, (2013) mendapatkan alloantibodi pada pasien hemato-onkologi sebanyak 2,46%. Penelitian potong lintang yang dilakukan oleh Zaman *et al.*, (2014), mendapatkan prevalensi alloimunisasi pada pasien hemato-onkologi 1,9%. Penelitian lain melaporkan tingkat alloimunisasi di antara pasien keganasan hematologi lebih tinggi (41,6%) dibandingkan populasi pasien lainnya (Gehrie and Tormey, 2014).

Risiko paling umum terkait transfusi eritrosit berulang adalah terjadinya proses alloimunisasi yang dapat menyebabkan keterlambatan penyediaan darah yang kompatibel pada pasien dan dapat mengakibatkan reaksi transfusi hemolitik sehingga

meningkatkan morbiditas serta mortalitas (Rajeev *et al.*, 2021). Alloantibodi eritrosit yang signifikan secara klinis dapat terbentuk pada 6%-36% pasien transfusi berulang. Risiko alloimunisasi lebih tinggi pada pasien dengan hemoglobinopati, keganasan hematologi, gagal ginjal dengan dialisis dan wanita dengan riwayat kehamilan yang berat (Bhuva and Vachhani, 2017; Elkhalfa *et al.*, 2021).

Kelompok dengan alloantibodi positif dalam penelitian ini lebih banyak perempuan (66,7%). Faktor risiko termasuk jenis kelamin, usia dan jumlah total unit yang ditransfusikan dianalisis untuk mencari faktor risiko signifikan yang terkait dengan perkembangan alloimunisasi. Pengaruh jenis kelamin terhadap kejadian alloimunisasi eritrosit masih kontroversial. Beberapa penelitian telah menemukan perempuan lebih berisiko mengalami alloimunisasi dibanding laki-laki (Gehrie and Tormey, 2014).

Penelitian Sood *et al.*, (2013) dan Bhuva *et al.*, (2017) menemukan tidak ada hubungan yang signifikan secara statistik antara jenis kelamin dan alloimunisasi yang diamati. Rofinda *et al.*, (2022) juga melaporkan dalam suatu metaanalisis tidak terdapat perbedaan jenis kelamin dalam alloimunisasi eritrosit pada transfusi berulang. Penelitian kohort retrospektif terhadap 29.128 pasien transfusi berulang mendapatkan alloimunisasi terjadi pada 79 (0,27%) pasien dengan laki-laki sebanyak 42 (53,16%) dan perempuan 47 (46,84%) pasien, tidak berbeda signifikan secara statistik (Pereira Bueno *et al.*, 2021). Penelitian Elkhalfa *et al.*, (2021) mendapatkan pasien laki-laki dengan alloantibodi eritrosit lebih banyak yaitu 22/82 (26,83%) dari pasien perempuan 9/60 (15%).

Penelitian Pessoni *et al.* (2018) terhadap 1169 pasien yang mendapat transfusi menemukan 28 pasien mengalami alloimunisasi dan mayoritas adalah perempuan. Penelitian Pimpaldara *et al.*, (2015) dan Philip *et al.*, (2014) mengamati hubungan yang signifikan antara jenis kelamin dan pembentukan alloantibodi ($p=0,012$ dan $p<0,02$). Penelitian Handa *et al.*, (2020) mendapatkan 7 dari 100 pasien dengan transfusi berulang mengalami alloimunisasi dan semuanya adalah perempuan ($p=0,04$). Perempuan memiliki risiko lebih tinggi untuk alloimunisasi eritrosit dan beberapa penelitian menunjukkan korelasi positif antara jumlah kehamilan sebelumnya dengan tingkat alloimunisasi karena pajanan allogenik yang lebih besar (Verduin *et al.*, 2012; Xu *et al.*, 2014; Pessoni *et al.*, 2018).

Rerata usia subjek dengan alloantibodi positif yaitu 41,1(17) tahun sedangkan dengan alloantibodi negatif yaitu 46,1(18) tahun, tidak berbeda signifikan secara statistik. Penelitian Sood *et al.*, (2013) terhadap 306 pasien yang mendapat transfusi berulang mendapatkan rerata usia 13 pasien yang mengalami alloimunisasi yaitu 41,6 tahun dengan rentang usia pasien 9-61 tahun. Sistem imun secara umum diketahui dipengaruhi oleh usia sehingga dianggap juga dapat memengaruhi tingkat alloimunisasi eritrosit. Tingkat alloimunisasi antigen golongan darah dilaporkan lebih rendah pada kelompok usia > 77 tahun, neonatus dan anak-anak. Beberapa penelitian menemukan pasien yang mendapat transfusi pada usia muda memiliki kemungkinan mengalami alloimunisasi lebih rendah dibanding pasien yang mulai mendapat transfusi pada usia dewasa (Gehrie and Tormey, 2014).

Penelitian ini mendapatkan golongan darah subjek terbanyak dengan alloantibodi positif adalah golongan darah A dan O Rhesus positif (33,3%) mirip dengan penelitian Pereira Bueno *et al.*, (2021) mendapatkan pasien yang mengalami alloimunisasi terbanyak bergolongan darah A sebanyak 33 (41,77%) pasien, golongan darah O sebanyak 31 (39,24%), golongan darah B sebanyak 9 (11,39%) pasien, dan golongan darah AB sebanyak 6 (7,60%) pasien. Hubungan kejadian alloimunisasi berdasarkan golongan darah pada pasien penyakit hematologi lebih disebabkan oleh frekuensi golongan darah dalam populasi.

Diagnosis terbanyak pada subjek dengan alloantibodi positif adalah *chronic myeloid leukaemia* dan *myelodysplastic syndrome* (MDS) masing-masing sebanyak 33,3% pasien. Penelitian retrospektif Lin *et al.*, (2017) mendapatkan alloimunisasi pada pasien MDS sebanyak 17%. Penelitian Guelsin *et al.*, (2015) terhadap 43 pasien dengan MDS mendapatkan alloimunisasi terjadi pada 44% pasien. Beberapa penelitian alloimunisasi eritrosit pada pasien dengan MDS dan/atau *myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms* mendapatkan alloantibodi ditemukan pada 15%-59% pasien MDS, 3%-16% pasien AML dan 11% pasien anemia aplasia (AA) (Guelsin *et al.*, 2015; Hendrickson and Tormey, 2016).

Myelodysplastic syndrome adalah kelompok penyakit heterogen yang ditandai dengan displasia pada satu atau lebih lini mieloid, sitopenia, dan risiko perkembangan menjadi leukemia akut. Pasien MDS umumnya akan mengalami anemia simptomatik dan membutuhkan transfusi eritrosit berulang selama perjalanan penyakitnya (Liu *et al.*, 2015; Tormey and Hendrickson, 2019). Pasien MDS telah terbukti memiliki tingkat alloimunisasi terhadap golongan darah minor yang relatif tinggi karena kebutuhan

transfusi darah yang relatif lebih sering dan perubahan sistem imun terkait MDS. Tingkat alloimunisasi pada pasien MDS dilaporkan hingga 58,6%, mirip dengan pasien dengan penyakit sel sabit dikaitkan dengan jumlah transfusi kumulatif (seumur hidup) yang lebih tinggi (Sanz *et al.*, 2013; Gehrie and Tormey, 2014).

Alloimunisasi eritrosit sering terjadi pada pasien neoplasma mieloid (*acute myeloid leukaemia* (AML), *myelodysplastic syndrome* (MDS) dan *chronic myeloid leukaemia* (CML)). Penelitian retrospektif Leisch *et al.*, (2017) pada 184 pasien neoplasma mieloid (AML, MDS dan CML) mendapatkan 20 (11%) pasien membentuk setidaknya satu alloantibodi. Penelitian Sanz *et al.*, (2013) mendapatkan alloantibodi pada 15% pasien MDS dan CML.

Faktor lain yang berpengaruh terhadap pembentukan alloantibodi eritrosit adalah jumlah unit eritrosit yang ditransfusikan. Penelitian ini menemukan rerata jumlah transfusi PRC subjek adalah 11(5) unit. Median jumlah transfusi PRC pada subjek alloantibodi positif yaitu 10 unit dengan jumlah minimum 4 unit dan jumlah maksimum 17 unit lebih sedikit dibandingkan alloantibodi negatif yaitu 12 unit dengan jumlah minimum 4 unit dan jumlah maksimum 18 unit. Penelitian Handa *et al.*, (2020) menemukan rerata jumlah unit eritrosit yang ditransfusikan adalah sebanyak 58 (3-570) unit sedangkan pasien dengan alloimunisasi mendapatkan rerata 60 (3-202) unit, hubungan jumlah unit eritrosit yang ditransfusikan dengan alloimunisasi tidak signifikan secara statistik ($p = 0,935$).

Penelitian Singhal *et al.*, (2017) mendapatkan alloimunisasi eritrosit pada 98/817(12%) pasien MDS dengan prediktor alloimunisasi yang paling penting adalah jumlah unit eritrosit yang ditransfusikan (4,1 banding 2,8 unit per bulan, $p < 0,001$).

Pasien sebanyak 73% membentuk antibodi setelah transfusi kurang dari 20 unit eritrosit. Penelitian Leisch *et al.*, (2017) menemukan alloimunisasi dikaitkan dengan banyaknya jumlah unit eritrosit yang ditransfusikan (68 banding 38; $p=0,001$) dan waktu transfusi yang lebih lama (16,7 banding 9,4 bulan; $p = 0,014$).

Sood *et al.*, (2013) juga menunjukkan tidak terdapat korelasi antara jumlah transfusi dan tingkat alloimunisasi namun penelitian Pimpaldara *et al.*, (2015) menemukan korelasi yang kuat antara jumlah unit darah yang ditransfusikan dan pembentukan alloantibodi. Jumlah transfusi tidak dapat dinyatakan sebagai faktor utama yang berhubungan dengan alloimunisasi karena alloimunisasi tergantung pada dosis, imunogenisitas antigen dan aspek klinis seperti kondisi inflamasi pasien. Beberapa pasien tidak merespons, bahkan setelah terpapar antigen eritrosit dalam jumlah yang banyak (Smith *et al.*, 2012; Fasano *et al.*, 2015; Pessoni *et al.*, 2018).

Perbedaan yang bermakna tidak ditemukan dalam parameter hematologi subjek alloantibodi positif dibanding dengan alloantibodi negatif meliputi hitung leukosit 10.240 sel/ μ L (1.000-139.350) banding 14.220 sel/ μ L (4.780-170.680); hitung limfosit absolut 1.390 sel/ μ L (170-11.150) banding 4.190 sel/ μ L (1.390-134.800); hemoglobin 9 g/dL (5,8-11,8) banding 8,65 g/dL (5,1-11,9).

6.2 Hitung Sel Limfosit T CD4+ pada Pasien Transfusi Berulang

Rerata hitung sel limfosit T CD4+ subjek penelitian ini adalah 975(634) sel/ μ L. Penelitian kohort Bao *et al.*, (2011) menemukan penurunan hitung sel limfosit T CD4+ pada pasien transfusi berulang. Sel limfosit T *helper* dalam penelitian sebelumnya dilaporkan menurun pada pasien penyakit sel sabit dan talasemia mayor. Transfusi

darah juga dikaitkan dengan penurunan rasio sel limfosit T CD4+/CD8+. Penyebab pasti hitung sel limfosit T CD4+ lebih rendah ini belum diketahui, kemungkinan bagian dari patologi imun penyakit sel sabit/talasemia atau sebagai akibat dari respons imun terhadap transfusi berulang (Bao *et al.*, 2011; Zalpuri *et al.*, 2014; Hendrickson and Tormey, 2016; Arora *et al.*, 2017).

Penelitian Vingert *et al.*, (2015) mendapatkan persentase sel limfosit T CD4+ lebih rendah pada kelompok pasien dengan penyakit sel sabit dibandingkan kelompok kontrol dari donor sehat. Peningkatan sub tipe sel limfosit meliputi sel limfosit T *helper*, sel limfosit T supresor, sel *natural killer*, dan sel limfosit B (dibedakan berdasarkan penanda fenotip masing-masing CD3+/CD4+, CD3+/CD8+, CD3-/CD16/56+, dan CD3-/CD19+) dilaporkan pada pasien talasemia mayor (Pourgheysari *et al.*, 2016; Bazi *et al.*, 2017).

6.3 Perbedaan Hitung Sel Limfosit T CD4+ pada Pasien Transfusi Berulang dengan Alloantibodi Positif dan Alloantibodi Negatif

Penelitian ini mendapatkan rerata hitung sel limfosit T CD4+ pada kelompok dengan alloantibodi positif adalah 474 (397) sel/ μL lebih rendah dibandingkan kelompok alloantibodi negatif 1275 (560) sel/ μL ($p=0,009$). Penelitian Molina-Aguilar *et al.*, (2019) mendapatkan pasien alloimunisasi memiliki persentase sel limfosit T CD4+ yang lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol (22% [14-27] banding 34% [29-42], $p =0,0001$). Penelitian Nickel *et al.*, (2015) juga mendapatkan penurunan persentase sel limfosit T CD4 pada pasien alloimunisasi dibandingkan dengan pasien yang *non* alloimunisasi ($p= 0,04$). Penelitian Vingert *et al.*, (2015) terhadap pasien penyakit sel sabit mendapatkan persentase sel limfosit T CD4+ memori lebih rendah pada ke-

lompok alloantibodi negatif dibandingkan kelompok dengan alloantibodi positif ($24,0 \pm 9,9\%$ banding $32,7 \pm 7,0\%$).

Pemrosesan antigen bersifat kompleks mulai dari pengenalan antigen hingga pembentukan antibodi poliklonal yang melibatkan berbagai sub tipe sel limfosit. Antigen eritrosit akan ditangkap oleh APC seperti sel dendritik, makrofag, atau limfosit B dan selanjutnya diproses menjadi peptida kecil, disajikan dan dikenali oleh sel limfosit T CD4⁺ atau langsung oleh reseptor sel limfosit B yang akan berproliferasi dan berdiferensiasi menjadi sel plasma memproduksi antibodi (Sippert *et al.*, 2017). Sel limfosit T *helper* CD4⁺ berfungsi sebagai kostimulator mempresentasikan antigen peptida ke sel limfosit B (Molina-Aguilar *et al.*, 2019).

Penurunan hitung sel limfosit T CD4⁺ pada pasien alloimunisasi diduga mirip dengan kondisi *immunosenescence* karena adanya stimulus antigen yang terus menerus untuk waktu yang lama. *Immunosenescence* merupakan proses kompleks yang secara alami terjadi pada usia lanjut, namun dapat muncul pada usia yang lebih muda karena berbagai kondisi inflamasi kronis, infeksi dan neoplasma. Transfusi berulang dan hemolisis menyebabkan produksi radikal bebas dan kerusakan oksidatif yang berperan utama dalam mempercepat *immunosenescence* (Pourgheysari *et al.*, 2016).

Stimulus antigen terus menerus pada transfusi berulang menyebabkan penurunan kemampuan sel untuk menginterpretasikan antigen dan mengubah sel menjadi sel tua sehingga mempercepat terjadinya *immunosenescence*. Transfusi berulang mempercepat *immunosenescence* melalui imunosupresi dan transmisi virus dengan karakteristik imunosupresif seperti *cytomegalovirus* dan Hepatitis C (Poland *et al.*, 2014; Voskou *et al.*, 2015; Pourgheysari *et al.*, 2016).

Penurunan hitung sel limfosit T CD4+ kemungkinan dimediasi oleh *programmed cell death protein 1 (PD1)/ programme cell death ligand 1 (PDL-1)* (Lu *et al.*, 2015; Molina-Aguilar *et al.*, 2019). *Programmed cell death protein 1 (PD-1)* memainkan peran penting dalam menghambat respons imun, meningkatkan toleransi imun melalui modulasi aktivitas sel limfosit T, mengaktifkan apoptosis sel limfosit T spesifik antigen dan menghambat apoptosis sel limfosit T *regulator* (Han *et al.*, 2020).

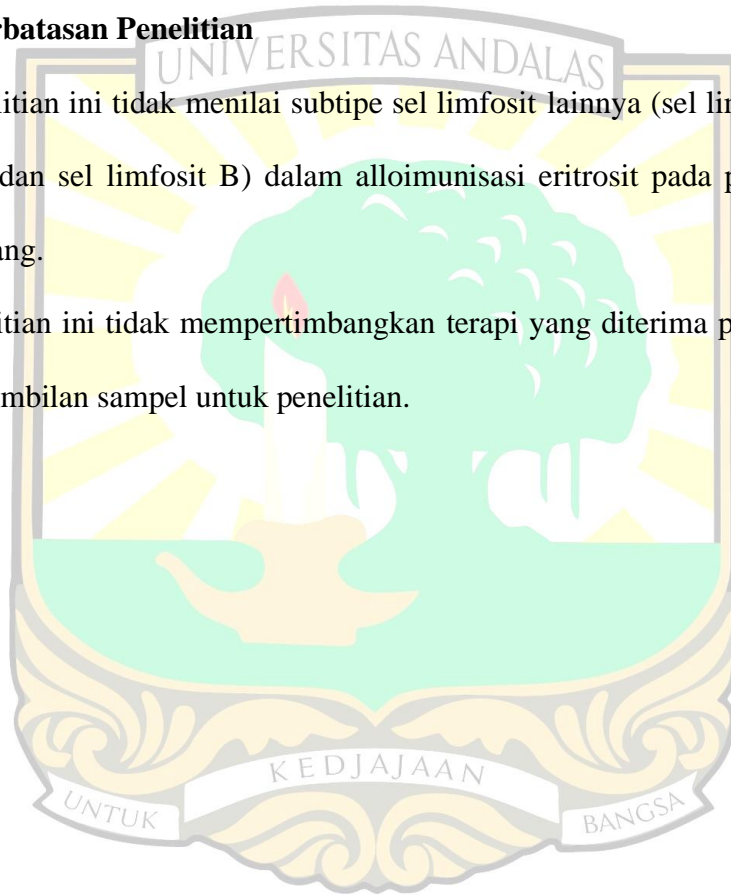
Mekanisme respons imun humoral terhadap antigen eritrosit belum dipelajari secara luas, dan sedikit informasi yang tersedia tentang fenotipe dan fungsi sel limfosit T CD4+ pada pasien transfusi berulang. Penelitian sebelumnya menemukan pada awal alloimunisasi terjadi peningkatan hitung sel limfosit T CD4+ karena peningkatan presentasi antigen pada periode ini (Molina-Aguilar *et al.*, 2019). Peneliti mendapatkan hitung sel limfosit T CD4+ pasien kelompok alloimunisasi lebih rendah signifikan dibandingkan kelompok *non* alloimunisasi, meskipun hitung leukosit dan limfosit total tidak berbeda antara kedua kelompok. Sel limfosit T CD4+ dapat berdiferensiasi menjadi berbagai subtipe khusus seperti sel Th1, Th2, Th17, Th9, Th22, dan *Treg* (Vingert *et al.*, 2015). Peneliti dalam penelitian ini menghitung sel limfosit T dengan penanda permukaan CD3+CD4+, dan tidak melakukan pemeriksaan imunofenotip sel limfosit T CD4+ yang lebih spesifik untuk masing-masing subtipe.

Peneliti tidak mempertimbangkan efek terapi yang didapatkan pasien pada saat pengambilan sampel terhadap kejadian alloimunisasi dan hitung sel limfosit T CD4+ pasien. Tingkat alloimunisasi eritrosit ditemukan lebih rendah pada kelompok pasien leukemia yang menjalani kemoterapi dan pasien yang mendapat terapi steroid atau agen immunosupresif lainnya. Berkurangnya respons imun karena kortikosteroid

dikaitkan dengan limfositopenia akibat inhibisi proliferasi sel limfosit T dan redistribusi sel limfosit T sirkulasi ke kompartemen tubuh lainnya. Glukokortikoid menghambat produksi faktor pertumbuhan sel limfosit T dan memblokir ekspansi klonal yang diperlukan untuk memperkuat respons imun primer (Zalpuri *et al.*, 2014; Hendrickson and Tormey 2016; Arora *et al.*, 2017).

6.4 Keterbatasan Penelitian

1. Penelitian ini tidak menilai subtype sel limfosit lainnya (sel limfosit Th₁, Th₂, Treg dan sel limfosit B) dalam alloimunisasi eritrosit pada pasien transfusi berulang.
2. Penelitian ini tidak mempertimbangkan terapi yang diterima pasien pada saat pengambilan sampel untuk penelitian.



BAB 7

SIMPULAN DAN SARAN

7.1 Simpulan

1. Rerata hitung sel limfosit T CD4+ pasien transfusi berulang dengan alloantibodi positif adalah 474 (397) sel/ μ L.
2. Rerata hitung sel limfosit T CD4+ pasien transfusi berulang dengan alloantibodi negatif adalah 1275 (560) sel/ μ L.
3. Terdapat perbedaan hitung sel limfosit T CD4+ pasien transfusi berulang berdasarkan kejadian alloimunisasi eritrosit.

7.2 Saran

1. Penelitian lebih lanjut perlu dilakukan tentang berbagai subtipe sel limfosit (sel limfosit Th₁, Th₂, Treg, dan sel limfosit B) yang berperan dalam alloimunisasi eritrosit pada pasien transfusi berulang.
2. Penelitian lebih lanjut perlu dilakukan dengan desain kohort tentang alloimunisasi eritrosit pada pasien transfusi berulang dengan mempertimbangkan terapi pasien.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, A.K., Lichtman, A.H., Pillai, S., 2020. Introduction to the Immune System. Nomenclature, General Properties and Component. In *Basic Immunology Function and Disorders of the Immune System* 6th Edition. Elsevier: China. p: 9-14.
- Alere, 2014. Pima CD4 Catridge Guide.
- Arinsburg, S.A., 2019a. Antibody Identification. Dalam *Transfusion Medicine and Hemostasis Clinical and Laboratory Aspect* Third Ed. Elsevier. p: 117–125. Available at <http://doi:10.1016/b978-0-12-813726-0.00022-2>
- Arinsburg, S.A., 2019b. Pretransfusion Testing. *Transfusion Medicine and Hemostasis Clinical and Laboratory Aspect* Third Ed. Elsevier. p: 107-116.
- Arora, K., Kelley, J., Sui, D., *et al.* 2017. Cancer type predicts alloimmunization following Rh D incompatible RBC transfusions. *Transfusion* ;57(4). p:952-958.
- Baia, F., Correia, F., Alves, B., *et al.* 2016. Phenotyping Rh/Kell and risk of alloimmunization in haematological patients. *Transfusion Medicine* (26). p:34-8.
- Bao, W., Zhong, H., Li, X., Lee, M. T., Schwartz, J., Sheth, S., & Yazdanbakhsh, K. 2011. Immune regulation in chronically transfused allo-antibody responder and nonresponder patients with sickle cell disease and β -thalassemia major. *American Journal of Hematology*, 86(12), p: 1001–06. <http://doi:10.1002/ajh.22167>
- Bazi, A., Shahramian, I., Yaghoobi, H., Naderi, M., and Azizi, H. 2017. The Role of Immune System in Thalassemia Major: A Narrative Review. *Journal of Pediatrics Review*.
- Bhuva, D.K., Vachhani, J.H., 2017. Red cell alloimmunization in repeatedly transfused patients. *Asian Journal of Transfusion Science* (11). p:115-20. Available at <https://www.ajts.org/text.asp?2017/11/2/115/214347>
- Blaney, K.D., Howard, P.R., 2013. Compatibility Testing. *Basic and Applied Concepts of Blood Banking and Transfusion Practices* Third Edition. United States: Elsevier Mosby. p:188-201.
- Bolton-Maggs, P.H.B., and Cohen, H., 2013. Serious Hazards of Transfusion (SHOT) Haemovigilance and Progress is Improving Transfusion Safety. *British Journal of Haematology* (163). John Wiley and Sons Ltd. p: 303–314.
- Brand, A., 2016. Immunological complications of blood transfusions. *La Presse Medicale*. Available at <https://doi.org/10.1016/j.lpm.2016.06.024>
- Budhiaty, T., Triyono, T., 2013. Rasio Prevalensi Aloantibodi Pada Pasien Transfusi Berulang Dibanding Tidak Berulang. diakses dari Internet http://etd.repository.ugm.ac.id/home/detail_pencarian/58901 tanggal 6 Agustus 2021.
- Carrucio, L. and Lerret, N.M., 2019. Fundamentals of Immunology. In *Modern Blood Banking and Transfusion Practices* 7th Ed. Philadelphia: F.A Davis Company. p: 45-76.

- Campbell–Lee, S.A., 2020. Alloimmunization in Chronically Transfused Patients and Those with Malignancies. *Immunologic Concepts in Transfusion Medicine*, p:183–196.
Available at <http://doi.10.1016/b978-0-323-67509-3.00011-1>.
- Cooling, L., 2014. ABO, H, and Lewis Blood Groups and Structurally Related Antigens. In: Fung, M., Grossman, B.J., Hillyer, C.D., Westhoff, C.M., eds. *Technical Manual*. 18th edition. Bethesda, MD: AABB. p: 291-315.
- Cushing, M.M., and DeSimone, R.A. 2019. Platelet Product. In Editors: Beth H. Shaz, Christopher D. Hillyer, Morayma Reyes Gil, *Transfusion Medicine and Hemostasis*, Third Edition, Elsevier, p: 213-18.
- Dahlan, M.S. 2016. Besar Sampel dalam Penelitian Kedokteran dan Kesehatan Seri 2, Edisi 4, Jakarta: Sagung Seto, p: 1-338.
- Daniels, G., 2013a. ABO, H, and Lewis Systems. In Human Blood Groups Third ed. Wiley-Blackwell: UK. p: 11–95.
- Daniels, G. 2013b. MNS Blood Group System. In Human Blood Groups Third ed. Wiley-Blackwell: UK. p: 96–161
- Daniels, G. 2013c. Gerbich Blood Group System. In Human Blood Groups Third ed. Wiley-Blackwell: UK. p: 410–426
- Das, S.S., Biswas, R.N., Safi, M., Zaman, R.U. 2021. Alloimmunization to erythrocyte antigens in patients receiving multiple blood transfusions: Clinico- immunohematological and demographic risk factors and impact of extended red cell phenotyping. *Global Journal of Transfusion Medicine* 6. p:171-7
- Dinardo, C.L., Ito, G.M., Sampaio, L.R., Mendrone, J.A. 2013. Study of Possible Clinical and Laboratory Predictors of Alloimmunization Against Red Blood Cell Antigens in Cancer Patients. *Revista Brasileira Hematologia e Hemoterapia*; 35(6). p:414-6.
- Elemery, M., Seghatchian, J., Stakiw, J., Bosch, M., Sabry, W., and Goubran, H. 2017. Transfusion challenges in hematology oncology and hematopoietic stem cell transplant – Literature review and local experience. *Transfusion and Apheresis Science*, 56(3), p: 317–21. Available at <http://dx.doi.org/doi:10.1016/j.transci.2017.05.022>
- Elkhalifa, A.M., Abbas, A.M., Shalabi, M.G., Yassin, N., Ahmed, D.Z., Ahmed H.A.M, *et al.* 2021. Red blood cell alloimmunization among multiple blood transfusions Sudanese patients. *Blood Disorders and Transfusion* (12). p:475.
- Elrahman, S.A., and Mirghani, L.B., 2017. Alloimmunization in Sudanese Leukemic Patients with Multiple Blood Transfusions. *Journal of Dental and Medical Sciences* 16 (3). p: 61-65.
- Ellingson, K.D., Sapiano, M.R.P., Haass, K.A., *et al.* 2017. Continued Decline in Blood Collection and Transfusion in the United States-2015. *Transfusion*; 57 (Suppl 2). p: 1588-98.
- Fasano, R.M., Booth, G.S., Miles, M., Du, L., Koyama, T., Meier, E.R., *et al.* 2015. Red blood cell alloimmunization is influenced by recipient inflammatory state at time of transfusion in patients with sickle cell disease. *British Journal of Haematology* 168(2). p:291–300

- Fridawati, V., Triyono, T., Sukorini, U., 2016. The Risk Factor of Alloantibody Formation in Thalassemia Patients Receiving Multiple Transfusion. *Indonesian Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory* 22(3), p: 241-245.
- Gehrie, E.A., and Tormey, C.A., 2014. The Influence of Clinical and Biological Factors on Transfusion-Associated Non-ABO Antigen Alloimmunization: Responders, Hyper-Responders, and Non-Responders. *Transfusion Medicine and Hemotherapy*, 41(6), 4-4.
- Gerritsma, J.J., Oomen, I., Meinderts, S., Schoot, CE., Biemond, BJ., Bom, G., Fijnvandraat, K. 2021. Back to base pairs: What is the genetic risk for red blood cell alloimmunization? *Blood Reviews* 48. Available at <https://doi.org/10.1016/j.blre.2020.100794>.
- Guelsin, G.A., Rodrigues, C., Visentainer, J.E., *et al.*, 2015. Molecular Matching for Rh and K Reduces Red Blood Cell Alloimmunisation in Patients with Myelodysplastic Syndrome. *Blood Transfusion* 13(1). p:53-8.
- Han, Y., Liu, D., and Li, L. 2020. PD-1/PD-L1 pathway: current researches in cancer. *American journal of cancer research*, 10(3), p: 727-742.
- Handa, A., Kukar, N., Maharishi, R. N., Syal, N., and Arora, H. 2020. Analysis of red cell alloimmunization in multi transfused patients at a Tertiary care teaching hospital. *Journal of family medicine and primary care*, 9(6). p: 2907-2911. https://doi.org/10.4103/jfmprc.jfmprc_351_20
- Harmening, D.M., Forneris, G., Tubby, BJ., 2019. The ABO Blood Group System. Blood Groups and Serologic Testing. *Modern Blood Banking and Transfusion Practices* 7th Edition. Philadelphia: F.A Davis company. p:119-148.
- Hendrickson, J.E., and Tormey, C.A., 2016. Red Blood Cell Antibodies in Hematology/ Oncology Patients. Interpretation of Immunohematologic Test and Clinical Significance of Detected Antibodies. *Hematology/ Oncology Clinics of North America* 30. Elsevier. p: 635-51. Available at <https://doi.org/10.1016/j.hoc.2016.01.006>
- Hodgkins, S.R., 2020. Erythrocyte Metabolism and Membrane Structure and Function. In Keohane EM, Otto CN, Walenga JM editors. *Rodak's Hematology Clinical Principle and Applications* 6th ed. Elsevier: Canada. p: 78-90.
- Howard, P.R., 2017. Overview of the Major Blood Groups. In *Basic and Applied Concepts of Blood Banking and Transfusion Practices* 4th Ed, Elsevier: Missouri, p: 185-370.
- Ido, A.A.S., Oliveira, M.C., 2020. Main Erythrocyte Antigens Involved in the Alloimmunization Process. *Open Science Journal* 5(2).
- International Society of Blood Transfusion, 2021, Blood Group System. In Red Cell Immunogenetics and Blood Group Terminology. International Society of Blood Transfusion (internet). Diakses dari <https://www.isbtweb.org/working-parties/red-cell-immunogenetics-and-blood-group-terminology>. tanggal 1 September 2021.
- Johnson, S.T., Wiler, M. 2012. The Rh Blood Group System. Blood Groups and Serologic Testing. *Modern Blood Banking and Transfusion Practices* 6th Edition. Philadelphia: F.A Davis Company. p:148-69.

- Kemenkes, 2015, Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 91 Tahun 2015 Tentang Standar Pelayanan Transfusi Darah. Jakarta.
- Kormoczi, G.F., Mayr, W.R., 2014. Responder Individuality in Red Blood Cell Alloimmunization. *Transfusion Medicine and Hemotherapy* 41. p:446–451
- Leisch, M., Weiss, L., Lindlbauer, N., Jungbauer, C., Egle, A., Rohde, E., Greil, R., Grabmer, C., Pleyer, L., 2017. Red Blood Cell Alloimmunization in 184 Patients with Myeloid Neoplasms Treated with Azacitidine- A Retrospective Single Center Experience. *Leukemia Research* 59, p: 12-19.
- Leger, R.M., 2019. Blood Group Terminology and The Other Blood Groups. In Harmening DM editors. *Modern Blood Banking & Transfusion Practise* 7th Ed. Philadelphia: F.A Davis Company. p: 172- 215.
- Lin, Y., Saskin, A., Wells, R.A., Lenis, M., Mamedov, A., Callum, J., Buckstein, R. 2017. Prophylactic RhCE and Kell antigen matching: impact on alloimmunization in transfusion-dependent patients with myelodysplastic syndromes. *Vox Sanguinis* 112. p:79–86.
- Linder, G.E., Chou, S.T., 2021. Red cell transfusion and alloimmunization in sickle cell disease. *Haematologica* 2021 Volume 106(7). p:1805-1815
- Liu, C., Grossman, B.J. 2015. Red blood cell transfusion for hematologic disorders. *Hematology American Society Hematology Education Programme*. p: 454-61. Available at <https://doi.org/10.1182/asheducation-2015.1.454>
- Lu, W., Mehraj, V., Vyboh, K., Cao, W., Li, T., Routy, J.P. 2015. CD4:CD8 ratio as a frontier marker for clinical outcome, immune dysfunction and viral reservoir size in virologically suppressed HIV-positive patients. *Journal International AIDS Society*; 18(1). p: 20052.
- Mangwana, S., Kacker, A., Simon, N., 2019. Red Cell Alloimmunization in Multi-transfused Oncology Patients: Risks and Management, *Global Journal of Transfusion Medicine*, Vol. 4, p: 74-78.
Available at <https://www.gjtmonline.com/text.asp?2019/4/1/74/256736>
- Marik, P.E., 2015. Transfusion of Blood and Blood Products. In: *Evidence-Based Critical Care*. Springer, Cham. p:585-619.
- McCullough, J., 2012. Complications of Transfusion. In: *Transfusion Medicine* 3rd Edition. Blackwell Publishing. p:378-413.
- Molina-Aguilar, R., Gomez-Ruiz, S., Vela-Ojeda, J., Montiel-Cervantes, L.A., Reyes-Maldonado, E. 2019. Pathophysiology of Alloimmunization. *Transfusion Medicine and Hemotherapy* 47(2). Karger. p:152-59.
- Mulyantari, N.K., dan Yasa, I.W.P.S., 2016. *Laboratorium Pratransfusi Update*. Denpasar: Udayana University Press. p:1-3.
- Nickel, R.S., Horan, J.T., Fasano, R.M., Meyer, E., Josephson, C.D., Winkler, A.M., *et al.*, 2015. Immunophenotypic Parameters and RBC Alloimmunization in Children with Sickle Cell Disease on Chronic Transfusion. *American Journal of Hematology* Vol. 90. No. 12. Wiley. p: 1135-41.
- Panch, S.R., Montemayor-Garcia, C., and Klein, H.G., 2019. Hemolytic Transfusion Reactions. *New England Journal of Medicine*, 381(2), p:150–162. Available at <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMra1802338>

- Pandey, H., Das, S. S., and Chaudhary, R., 2014, Red Cell Alloimmunization in Transfused Patients: A Silent Epidemic Revisited, *Asian Journal of Transfusion Science* 8(2), pp: 75–77. Available at <http://doi.10.4103/0973-6247.13743310.4103/0973-6247.137433>
- Patel, S.R., Smith, N.H., Kapp, L., Zimring, J.C. 2012. Mechanisms of alloimmunization and subsequent bone marrow transplantation rejection induced by platelet transfusion in a murine model. *American Journal of Transplantation* 12(5). p: 1102–12.
- Pereira Bueno, M.L., Mitestainer, M.B., Da Silva, J.A.R., Benites, B.D., Roversi, F.M., 2021. Red-cell alloimmunization profile in multi transfused patients: Findings and insights of a blood transfusion service, *Transfusion Clinique et Biologique*, Available at <https://doi.org/10.1016/j.tracli.2021.04.006>
- Pessoni, L.L., Ferreira, M.A., Rodrigues da Silva, J.C., Correia de Alcantara, K. 2018, Red Blood Cell Alloimmunization among Hospitalized Patients: Transfusion Reactions and Low Alloantibody Identification Rate, *Hematology, Transfusion and Cell Therapy*. Available at <https://doi.org/10.1016/j.htct.2018.04.001>
- Philip J, Biswas, A.K., Hiregoudar, S., Kushwaha, N. 2014. Red blood cell alloimmunization in multitransfused patients in a tertiary care center in Western India. *Laboratory Medicine* 45. p:324–30.
- Pimpaldara, R.P., Patel, A.C., Patel, J., Patel, S., Pandya, A.N., Wadhvani, S. 2015. A study of irregular antibodies in 200 multi-transfused patients. *Journal of Evolution Medical and Dental Science* 73, p:12659–67.
- Poland, G.A., Ovsyannikova, I.G., Kennedy, R.B., Lambert, N.D., Kirkland, J.L. 2014. A systems biology approach to the effect of aging, immunosenescence and vaccine response. *Current Opinion in Immunology* 29. p:62-68.
- Pourghesari B, Karimi L, Beshkar P. 2016. Alteration of T Cell Subtypes in Beta-Thalassaemia Major: Impact of Ferritin Level. *Journal of Clinical and Diagnostic Research* 10(2). p: 14–8. Available at <http://doi.10.7860/JCDR/2016/16094.7272>.
- Prigent, A., Maillard, N., Absi, L., Aloui, C., Cognasse, F., *et al.*, 2014. From Donor to Recipient: Current Questions Relating to Humoral Alloimmunization. *Antibodies* (3), p: 130-152.
- Rajeev T, K., Jain, A., Marwaha, N., Prakash, G., and Sharma, R. R. 2021. Red cell alloimmunization in haemato-oncology patients transfused with packed red blood cells extended phenotype matched for Rh and Kell antigens versus the standard crossmatched units. *ISBT Science Series*. doi:10.1111/voxs.12642
- Rodrigues, C., Sell, A. M., Guelsin, G. A. S., Huga, T. T., Pagliarini e Silva, S., Macedo, L. C., *et al.*, 2017. HLA Polymorphism and Risk of Red Blood Cell Alloimmunization in Polytransfused Patients with Sickle Cell Anaemia. *Transfusion Medicine*. British Blood Transfusion Society. Available at <https://doi.org/10.1111/tme.12459>
- Rofinda, Z., Darwin, E., Nasrul, E., Wahid, I. 2022. Erythrocyte Antibody Due to Alloimmunization in Repeated Transfusion: A Meta-Analysis. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*. 10. p: 257-262.

- Rowley, M., Cantwel, C., Milkins, C., 2017. Laboratory Aspects of Blood Transfusion. In *Dacie and Lewis Practical Haematology* 12th Ed. China: Elsevier p: 470-96.
- Ryder, A.B., Zimring, J.C., Hendrickson, J.E., 2014. Factors Influencing RBC Alloimmunization: Lessons Learned from Murine Models. *Transfusion Medicine Hemotherapy* 41(6). p:406-419.
- Sanz, C., Nomdedeu, M., Belkaid, M., *et al.* 2013. Red Blood Cell Alloimmunization in Transfused Patients with Myelodysplastic Syndrome or Chronic Myelomonocytic Leukemia. *Transfusion*;53. p:710-15.
- Schonewille, H., Honohan, Á., van der Watering, L. M. G., Hudig, F., te Boekhorst, P. A., Koopman-van Gemert, A. W. M. M., and Brand, A. 2015. Incidence of alloantibody formation after ABO-D or extended matched red blood cell transfusions: a randomized trial (MATCH study). *Transfusion*, 56(2). p:311–320. Available at <http://doi.org/10.1111/trf.13347>
- Shebl, S.S., Maaly, M.M., Said, Y. 2018. Study of Serum Level of IL-10, CD4, CD8 and Acute Phase Reactants in Thalassemic Children with Effect of Splenectomy. *The Medical Journal of Cairo University*, (86). p: 483-489. Available at <http://doi.10.21608/mjcu.2018.55185>
- Singhal, D., Kutyna, M. M., Chhetri, R., *et al.*, 2017. Red Cell Alloimmunization is Associated with Development of Autoantibodies and Increased Red Cell Transfusion Requirements in Myelodysplastic Syndrome. *Haematologica*; 102(12). p:2021-29.
- Sippert, E.A, Visentainer, J.E.L, Alves, H.V., *et al.* 2017. Red blood cell alloimmunization in patients with sickle cell disease: correlation with HLA and cytokine gene polymorphisms. *Transfusion* (57). p:379-389.
- Smith, N.H., Hod, E.A., Spitalnik, S.L., Zimring, J.C., Hendrickson, J.E. 2012. Transfusion in the absence of inflammation induces antigen-specific tolerance to murine RBCs. *Blood* 119(6). p:1566–9.27.
- Sood, R., Makroo, R. N., Riana, V., Rosamma, N. L., 2013, Detection of Alloimmunization to Ensure Safer Transfusion Practice, *Asian Journal of Transfusion Science* 7(2), p: 135-139. Available at <https://doi.org/10.4103/0973-6247.115577>
- Stendahl, K., Tormey, C. A., and Baine, I. L. 2020. Methods of RBC Alloimmunization to ABO and Non-ABO Antigens, and Test Methodologies. *Immunologic Concepts in Transfusion Medicine*, 15–33. Available at <http://doi.10.1016/b978-0-323-67509-3.000>
- Stevens, C.D. 2017. Adaptive Immunity. In *Clinical Immunology and Serology A Laboratory Perspective* 4th Ed. Philadelphia: F.A Davis Company. p:45-60.
- Stoe, M. 2011. Pretransfusion Testing. *Immunohematology Principles and Practice* Third Edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. p. 107- 117.
- Strauss, D., 2019. Component Preparation and Manufacturing, In Editors: Beth H. Shaz, Christopher D. Hillyer, Morayma Reyes Gil, *Transfusion Medicine and Hemostasis*, Third Edition, Elsevier, p: 53-58.
- Tangvarasittichai, S., 2017. Impact of Alloimmunization on Transfusion-dependent Patients. *Annals of Advance Chemistry* (1). p: 070-082.

- Turgeon, M.L., 2018. Cells and Cellular Activities of the Immune System: Lymphocytes and Plasma Cells. In *Immunology and Serology in Laboratory Medicine* 6th Ed. Missouri: Elsevier. p: 54-79.
- Tormey, C. A. and Hedrickson, J. E. 2019. Transfusion-related Red Blood Cell Alloantibodies: Induction and Consequences. *Blood* 133(17). p: 1821-30. Available at <https://doi.org/10.1182/blood-2018-08-833962>
- Trudell, K.S. 2019. Detection and Identification of Antibodies. In: Harmening, D. M. *Modern Blood Banking and Transfusion Practices* 7th Edition. United States of America: F. A. Davis Company. p: 216-240.
- Valle Neto, O.G.D., Alves, V.M., Pereira, G.A., Moraes-Souza, H., Martins, P.R.J., 2018. Clinical and epidemiological profile of alloimmunized and autoimmunized multi-transfused patients against red blood cell antigens in a blood center of Minas Gerais. *Hematology, Transfusion and Cell Therapy* 40(2). p:107-111. Available at <https://doi.org/10.1016/j.htct.2017.08.001>.
- Vingert, B., Tamagne, M., Habibi, A., Pakdaman, S., Ripa, J., Elayeb, R., Galacteros, F., Bierling, P., Ansart-Pirenne, H., Bartolucci, P., Noizat-Pirenne, F. 2015. Phenotypic differences of CD4(+) T cells in response to red blood cell immunization in transfused sickle cell disease patients. *Europe of Journal Immunology* 45(6). p:1868-79. <http://doi.10.1002/eji.201445187>.
- Verduin, E.P., Brand, A., Schonewille, H. 2012. Is female sex a risk factor for red blood cell alloimmunization after transfusion? A systematic review. *Transfusion Medicine Review* 26(4). p:342-53.
- Voskou, S., Aslan, M., Fanis, P., Phylactides, M., Kleanthous, M. 2015. Oxidative stress in β -thalassaemia and sickle cell disease. *Redox Biology* 6. p:226-39.
- Walker, P.S., and Hamilton, J.R., 2014, Identification of Antibodies to Red Cell Antigens, in Fung MK, Grossman BJ, Hillyer CD, Westhoft CM editors. *Technical Manual* 18th edition, AABB; Maryland, p: 391- 424.
- Walker, P. S., Harmening, D. M. 2019. Other Technologies and Automation. Blood Groups and Serologic Testing. In *Modern Blood Banking and Transfusion Practices* 7th Edition. Philadelphia: F.A Davis company. p. 273-285
- Wolf, L.A., 2019. Pretransfusion Testing. Blood Groups and Serologic Testing. In: Harmening, D.M. *Modern Blood Banking and Transfusion Practices* 7th Edition. Philadelphia: F.A Davis Company. p: 256-267.
- Xu, P.U., Yan, L.I., Hua, Y.U., 2014. Prevalence, Specificity and Risk of Red Blood Cell Alloantibodies Among Hospitalised Hubei Han Chinese Patients. *Blood Transfusion* 12(1). p:56-60.
- Yazdanbakhsh, K. 2016. Immunoregulatory networks in sickle cell alloimmunization. *Hematology*. American Society of Hematology Education Program (1). p: 457-61.
- Zahran, A.M., Elsayh, K.I., Saad, K., Embaby, M., Ali, A.M. 2016. Regulatory B cells (CD19(+) CD38(hi)CD24(hi)) in alloimmunized and non-alloimmunized children with β -thalassemia major. *Blood Cells and Molecular Disease* 57. p: 91-6.
- Zalpuri, S., Evers, D., Zwaginga, J.J., et al. 2014. Immunosuppressants and alloimmunization against red blood cell transfusions. *Transfusion* (8):1981-87.

- Zaman, S., Chaurasia, R., Chatterjee, K., *et al.* 2014. Prevalence and Specificity of RBC Alloantibodies in Indian Patients Attending a Tertiary Care Hospital. *Advance of Hematology*. p:1-5.
- Zimring, J. C., Stowell, S. R., Johnsen, J. M., Hendrickson, J. E., 2012. Effects of Genetic, Epigenetic, and Environmental Factors on Alloimmunization to Transfused Antigens: Current Paradigms and Future Considerations. *Transfusion Clinical Biology* (19). p: 125-131.
- Zimring, J.C., and Hudson, K.E., 2016. Cellular Immune Responses in Red Blood Cell Alloimmunization. In *Hematology American Society Hematology Education Programme*, Vol. 1. p: 452–56.



Lampiran 1



HEALTH RESEARCH ETHICS COMMITTEE
RSUP Dr. M. DJAMIL PADANG

KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK
DESCRIPTION OF ETHICAL APPROVAL
"ETHICAL APPROVAL"

Nomor : LB.02.02/5.7/511/2021

Protokol penelitian yang diusulkan oleh :
The research protocol proposed by

Peneliti utama : dr. Zelly Dia Rofinda, SpPK (K)
Principal Investigator

Nama Institusi : Bagian Patologi Klinik FK UNAND /
Name of the Institution RSUP Dr. M. Djamil Padang

Dengan judul :
Title

**"Hubungan Polimorfisme Gen HLA-DRB1 Dengan Antibodi Ireguler Eritrosit
Pada Pasien Transfusi Berulang Dengan Inkompatibilitas Crossmatch"**

Dinyatakan layak etik sesuai 7 (tujuh) Standar WHO 2011, yaitu 1) Nilai Sosial, 2) Nilai ilmiah, 3) Pemerataan Beban dan Manfaat, 4) Risiko, 5) Bujukan/Eksploitasi, 6) Kerahasiaan dan Privacy, dan 7) Persetujuan Setelah Penjelasan, yang merujuk pada Pedoman CIOMS 2016. Hal ini seperti yang ditunjukkan oleh terpenuhinya indikator setiap standar.

Declared to be ethically appropriate in accordance to 7 (seven) WHO 2011 Standards, 1) Social Values, 2) Scientific Values, 3) Equitable Assessment and Benefits, 4) Risks, 5) Persuasion/Exploitation, 6) Confidentiality and Privacy, and 7) Informed Consent, referring to the 2016 CIOMS Guidelines. This is as indicated by the fulfillment of the indicators of each standard.

Pernyataan Laik Etik ini berlaku selama kurun waktu Desember 2021 sampai dengan Desember 2022

This declaration of ethics applies during the period December 2021 until December 2022

Padang, 24 Desember 2021
Chairperson
KOMITE ETIK
RSUP DR. M. DJAMIL PADANG
Dr. Ir. Orlina Anum, Sp. KK(K), FINSDV, FAADV
NIP. 19681126 200801 2 014

SURAT KETERANGAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Dr. Zelly Dia Rofinda, dr., Sp. PK (K)
Instansi/Afiliasi : Fakultas Kedokteran Universitas Andalas/ RSUP Dr. M. Djamil Padang
Alamat Kantor : Jl. Perintis Kemerdekaan, Sawahan Timur, Kec. Padang Timur, Kota Padang
No. Telp : 0751-841514 No. Fax: 0751-841514

Adalah penulis utama dari penelitian dengan judul: “Hubungan Polimorfisme Gen HLA-DRB1 Dengan Antibodi Ireguler Eritrosit Pada Pasien Transfusi Berulang Dengan Inkompatibilitas Crossmatch” dengan nomor keterangan lolos kaji etik: LB. 02.02/5.7/511/2021, dengan ini menyatakan bahwa nama yang tercantum di bawah ini adalah peneliti tambahan dari penelitian payung yang Saya lakukan.

Dengan penulis tambahan:

No	Nama	Judul Penelitian
1	Dian Jenova	Perbedaan Hitung Sel Limfosit T CD4+ Pada Pasien Transfusi Berulang Berdasarkan Kejadian Alloimunisasi Eritrosit

Demikian pernyataan ini Saya buat dengan sesungguhnya

Padang, Agustus 2022



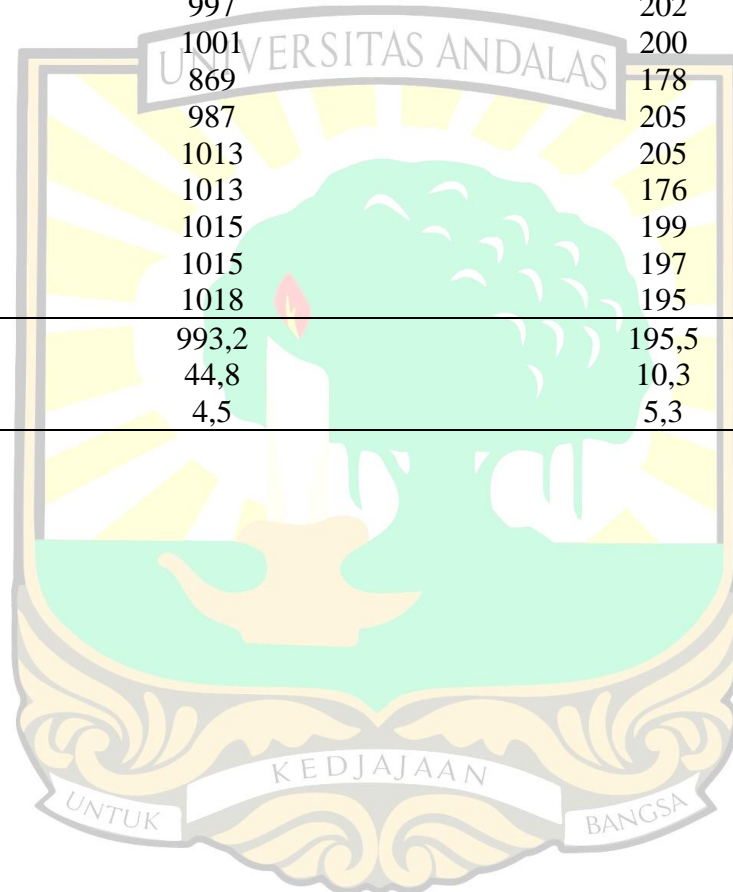
Dr. Zelly Dia Rofinda, dr., Sp. PK (K)

Lampiran 2

UJI KETELITIAN PEMERIKSAAN HITUNG SEL LIMFOSIT T CD4+

Tabel 1. Hasil Uji Ketelitian *Between Day* Pemeriksaan Hitung Sel Limfosit T CD4+

No.	Limfosit T CD4+	
	Kontrol Normal	Kontrol <i>Low</i>
1.	1004	198
2.	997	202
3.	1001	200
4.	869	178
5.	987	205
6.	1013	205
7.	1013	176
8.	1015	199
9.	1015	197
10.	1018	195
Rerata	993,2	195,5
SD	44,8	10,3
KV (%)	4,5	5,3



Lampiran 3

STATISTIK PENELITIAN

1. Karakteristik Subjek Penelitian

		Sex			
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	Laki-laki	8	50.0	50.0	50.0
	Perempuan	8	50.0	50.0	100.0
	Total	16	100.0	100.0	

		Gol_darah			
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	A	6	37.5	37.5	37.5
	B	3	18.8	18.8	56.3
	AB	2	12.5	12.5	68.8
	O	5	31.3	31.3	100.0
	Total	16	100.0	100.0	

		Diagnosis			
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	Anemia aplasia	1	6.3	6.3	6.3
	MDS	2	12.5	12.5	18.8
	LGK	2	12.5	12.5	31.3
	AML	6	37.5	37.5	68.8
	Thalasemia	2	12.5	18.8	87.5
	ALL	1	6.3	6.3	6.3
	MM	2	12.5	12.5	100.0
	Total	16	100.0	100.0	100.0

Statistics

		Usia	Trans_TC	Trans_PRC	Hb	Leukosit	Limfosit
N	Valid	16	16	16	16	16	16
	Missing	0	0	0	0	0	0
Mean		44.25	12.19	10.50	8.588	40.2894	13.4631
Median		46.50	.00	11.00	8.650	13.1900	2.8950
Mode		23 ^a	0	4 ^a	8.2	1.00 ^a	.17 ^a
Std. Deviation		16.933	22.728	5.060	2.028	53.5634	33.05092
Minimum		23	0	4	5.1	1.00	.17
Maximum		69	60	18	11.9	170.68	134.80

a. Multiple modes exist. The smallest value is shown

CD4		
N	Valid	16
	Missing	0
Mean		974.63
Median		915.50
Mode		84 ^a
Std. Deviation		633.706
Minimum		84
Maximum		2403

a. Multiple modes exist. The smallest value is shown

2. Karakteristik Subjek Penelitian dengan Aloantibodi Positif dan Aloantibodi Negatif

Crosstab

			Group		Total
			Alloimunisasi	Non alloimunisasi	
Sex	Laki-laki	Count	2	6	8
		% within Group	33.3%	60.0%	50.0%
	Perempuan	Count	4	4	8
		% within Group	66.7%	40.0%	50.0%
Total	Count	6	10	16	
	% within Group	100.0%	100.0%	100.0%	

Crosstab

		Group		Total	
		Alloimunisasi	Non alloimunisasi		
Diagnosis	Anemia aplasia	Count	1	0	1
		% within Group	16.7%	0.0%	6.3%
	MDS	Count	2	0	2
		% within Group	33.3%	0.0%	12.5%
	LGK	Count	2	0	2
		% within Group	33.3%	0.0%	12.5%
	AML	Count	1	5	6
		% within Group	16.7%	50.0%	37.5%
	Talasemia	Count	0	2	3
		% within Group	0.0%	20.0%	18.8%
	MM	Count	0	2	2
		% within Group	0.0%	20.0%	12.5%
	ALL	Count	0	1	1
		% within Group	0.0%	10.0%	6.3%
Total		Count	6	10	16
		% within Group	100.0%	100.0%	100.0%

Crosstab

		Group		Total	
		Alloimunisasi	Non alloimunisasi		
Gol_darah	A	Count	2	4	6
		% within Group	33.3%	40.0%	37.5%
	B	Count	1	2	3
		% within Group	16.7%	20.0%	18.8%
	AB	Count	1	1	2
		% within Group	16.7%	10.0%	12.5%
	O	Count	2	3	5
		% within Group	33.3%	30.0%	31.3%
Total		Count	6	10	16
		% within Group	100.0%	100.0%	100.0%

Group Statistics

Group		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Usia	Alloimunisasi	6	41.17	16.975	6.930
	Non alloimunisasi	10	46.10	17.540	5.547

Descriptives

Group				Statistic	Std. Error
Trans_PRC	Alloimunisasi	Mean		9.67	1.838
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	4.94	
			Upper Bound	14.39	
		5% Trimmed Mean		9.57	
		Median		9.00	
		Variance		20.267	
		Std. Deviation		4.502	
		Minimum		4	
		Maximum		17	
		Range		13	
	Interquartile Range		7		
	Skewness		.663	.845	
	Kurtosis		.586	1.741	
	Non alloimunisasi	Mean		11.00	1.751
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	7.04	
			Upper Bound	14.96	
		5% Trimmed Mean		11.00	
		Median		12.00	
		Variance		30.667	
		Std. Deviation		5.538	
Minimum			4		
Maximum			18		
Range			14		
Interquartile Range		11			
Skewness		-.152	.687		
Kurtosis		-1.872	1.334		
Trans_TC	Alloimunisasi	Mean		10.00	10.000
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	-15.71	
			Upper Bound	35.71	
		5% Trimmed Mean		7.78	
		Median		.00	
		Variance		600.000	
		Std. Deviation		24.495	
		Minimum		0	
		Maximum		60	
		Range		60	
	Interquartile Range		15		
	Skewness		2.449	.845	
	Kurtosis		6.000	1.741	
	Non alloimunisasi	Mean		13.50	7.228
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	-2.85	

			Upper Bound	29.85	
			5% Trimmed Mean	11.67	
			Median	.00	
			Variance	522.500	
			Std. Deviation	22.858	
			Minimum	0	
			Maximum	60	
			Range	60	
			Interquartile Range	34	
			Skewness	1.385	.687
			Kurtosis	.431	1.334
Hb	Alloimunisasi	Mean		8.850	.8655
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	6.625	
			Upper Bound	11.075	
			5% Trimmed Mean	8.856	
			Median	9.000	
			Variance	4.495	
			Std. Deviation	2.1201	
			Minimum	5.8	
			Maximum	11.8	
			Range	6.0	
			Interquartile Range	3.4	
			Skewness	-.096	.845
			Kurtosis	-.418	1.741
	Non alloimunisasi	Mean		8.430	.6546
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	6.949	
			Upper Bound	9.911	
			5% Trimmed Mean	8.422	
			Median	8.650	
			Variance	4.285	
			Std. Deviation	2.0699	
			Minimum	5.1	
			Maximum	11.9	
			Range	6.8	
			Interquartile Range	3.3	
			Skewness	-.062	.687
			Kurtosis	-.462	1.334
Leukosit	Alloimunisasi	Mean		35.7100	22.13436
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	21.1882	
			Upper Bound	92.6082	
			5% Trimmed Mean	31.8806	
			Median	10.2400	
			Variance	2939.579	
			Std. Deviation	54.21789	
			Minimum	1.00	
			Maximum	139.35	
			Range	138.35	
			Interquartile Range	72.52	
			Skewness	1.885	.845
			Kurtosis	3.404	1.741
		Mean		43.0370	17.68124

	Non alloimunisasi	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	3.0393	
			Upper Bound	83.0347	
		5% Trimmed Mean		38.0711	
		Median		14.2150	
		Variance		3126.261	
		Std. Deviation		55.91298	
		Minimum		4.78	
		Maximum		170.68	
		Range		165.90	
		Interquartile Range		74.19	
		Skewness		1.658	.687
		Kurtosis		2.095	1.334
Limfosit	Alloimunisasi	Mean		2.9200	1.70674
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	-1.4673	
			Upper Bound	7.3073	
		5% Trimmed Mean		2.6156	
		Median		1.3850	
		Variance		17.478	
		Std. Deviation		4.18065	
		Minimum		.17	
		Maximum		11.15	
		Range		10.98	
		Interquartile Range		4.73	
		Skewness		2.089	.845
		Kurtosis		4.546	1.741
	Non alloimunisasi	Mean		19.7890	13.00895
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	-9.6393	
			Upper Bound	49.2173	
		5% Trimmed Mean		14.4217	
		Median		4.1900	
		Variance		1692.328	
		Std. Deviation		41.13791	
		Minimum		1.39	
		Maximum		134.80	
		Range		133.41	
		Interquartile Range		15.05	
		Skewness		2.970	.687
		Kurtosis		9.036	1.334

3. Perbedaan Hitung Sel Limfosit T CD4+ pada Pasien Transfusi Berulang dengan Aloantibodi Positif dan Aloantibodi Negatif

Tests of Normality

Group	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
CD4 Alloimunisasi	.249	6	.200*	.895	6	.345
CD4 Non alloimunisasi	.129	10	.200*	.952	10	.692

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction



Group Statistics

Group	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
CD4 Alloimunisasi	6	473.67	397.119	162.123
CD4 Non alloimunisasi	10	1275.2	560.359	177.201

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means				95% Confidence Interval of the Difference		
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
CD4	Equal variances assumed	.622	.444	-3.055	14	.009	-801.533	262.390	1364.303	238.764
	Equal variances not assumed			-3.337	13.432	.005	-801.533	240.175	1318.708	284.359

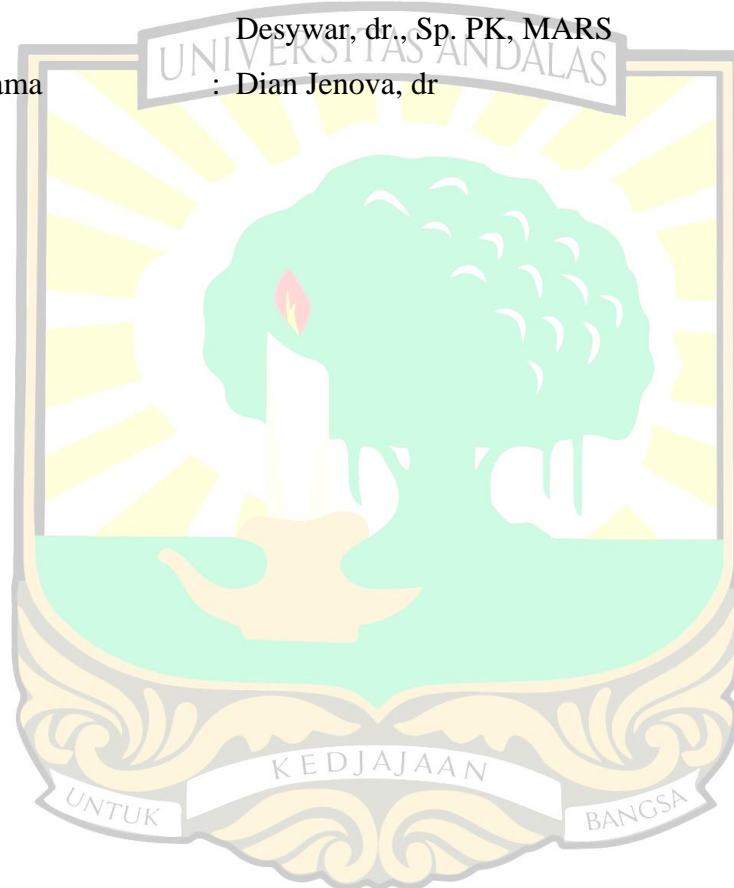
Lampiran 4

ORGANISASI PENELITIAN

PELINDUNG : Dr. Afriwardi, dr., SH. SpKO, MA
Syofiati, dr., Sp. PK
Dr. Zelly Dia Rofinda, dr., Sp. PK (K)

Pembimbing : Dr. Zelly Dia Rofinda, dr., Sp. PK (K)
Desywar, dr., Sp. PK, MARS

Peneliti Utama : Dian Jenova, dr



Lampiran 5

SURAT PERNYATAAN

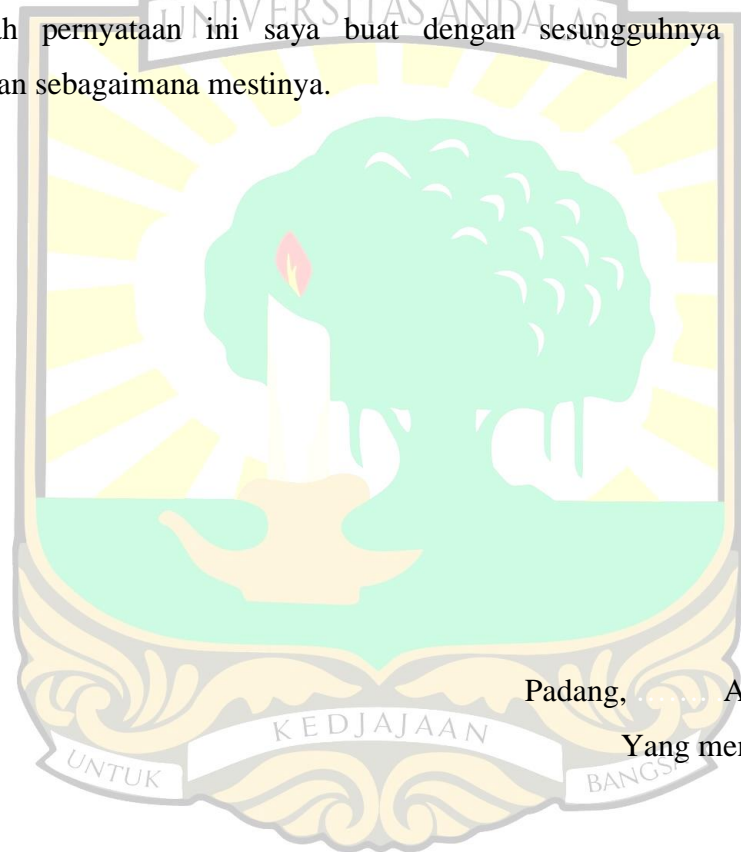
Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : dr. Dian Jenova

Status : Peserta PPDS Patologi Klinis FK UNAND/ RSUP Dr. M Djamil

Menyatakan bahwa saya bersedia menyerahkan hasil penelitian saya kepada Komite Etik RSUP Dr. M. Djamil Padang setelah penelitian saya selesai

Demikianlah pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.



Padang, Agustus 2022

Yang menyatakan,

dr. Dian Jenova

Lampiran 6

CURRICULUM VITAE

Nama : dr. Dian Jenova
Jenis Kelamin : Perempuan
Tempat/tanggal lahir : Padang, 10 Agustus 1985
Alamat : Jln. Sunda no 23 Komplek PJKA, Sawahan Timur, Padang
Agama : Islam
Negeri asal : Kecamatan Guguk, Kabupaten 50 Kota
Status perkawinan : Kawin
Nama suami : Nanang Pramayudi, S.Kep. Ners
Nama anak : Khadeeja Askana Sakhi
Abdillah Fadhil Hakim
Nama orangtua : Jasmir
Noviar S. Pd
Riwayat Pendidikan :

- SDN 14 Guguk Kabupaten 50 Kota (1992-1998)
- Pondok Pesantren Ma'had Islami Payakumbuh (1998-2001)
- SMAN 1 Padang Panjang (2001-2004)
- Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang (2004-2010)
- PPDS Patologi Klinik FK Unand Padang (Januari 2018-Sekarang)

Riwayat Pekerjaan :

- Dokter PTT Kemenkes Puskesmas Poto Tano Kab. Sumbawa Barat, NTB (2011- 2014)
- Dokter PNS Puskesmas Poto Tano Kab. Sumbawa Barat (2014-Sekarang)

Tesis dr. Dian Jenova

ORIGINALITY REPORT

5 %	4 %	1 %	2 %
SIMILARITY INDEX	INTERNET SOURCES	PUBLICATIONS	STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	pt.scribd.com Internet Source	1 %
2	erepo.unud.ac.id Internet Source	1 %
3	Submitted to Griffith University Student Paper	1 %
4	Submitted to Universitas Negeri Jakarta Student Paper	1 %
5	documents.mx Internet Source	1 %
6	idoc.pub Internet Source	1 %

Exclude quotes On

Exclude matches < 1%

Exclude bibliography On