

KARYA AKHIR

**ANALISIS KADAR MALONDIALDEHIDE PADA ANAK
DENGAN THALASEMIA BETA**

***ANALYSIS OF MALONDIALDEHIDE IN CHILDREN
WITH BETA THALASSEMIA***

Sy. Raehana Mardiah Alaydrus

C105172004



**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1 (Sp.1)
PROGRAM STUDI ILMU KESEHATAN ANAK
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022**

**ANALISIS KADAR MALONDIALDEHIDE PADA ANAK
DENGAN THALASEMIA BETA**

Karya Akhir

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar Spesialis Anak

Program Studi Ilmu Kesehatan Anak

Disusun dan diajukan oleh

Sy. Raehana Mardiah Alaydrus

Kepada

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1 (Sp.1)
PROGRAM STUDI ILMU KESEHATAN ANAK
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022**

LEMBAR PENGESAHAN TUGAS AKHIR

**ANALISIS KADAR MALONDIALDEHIDE PADA ANAK
DENGAN THALASEMIA BETA**

Disusun dan diajukan oleh:

SY. RAEHANA MARDIAH ALAYDRUS
NIM: C105172004

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka
Penyelesaian Program Pendidikan Dokter Spesialis Ilmu Kesehatan Anak
Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin
Pada tanggal 27 September 2022
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,



Dr. dr. Nadirah Rasyid Ridha, M.Kes, Sp.A(K)
NIP. 19730515 200112 2 004



Dr. dr. Ema Alasiry, Sp.A(K)
NIP. 19700401 199903 2 001

Ketua Program Studi,

Dekan Fakultas/
Sesiyan Pascasarjana,



Dr. dr. St. Aizah Lawang, M.Kes, Sp.A(K)
NIP. 19740321 200812 2 002



Prof. Dr. dr. Haerani Rasyid, M.Kes, Sp.PD-KGH, Sp.GK
NIP. 19680530 199603 2 001

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR

Yang bertanda tangan dibawah ini

Nama : Sy. Raehana Mardiah Alaydrus

Nomor Mahasiswa : C105172004

Program Studi : Ilmu Kesehatan Anak

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa karya akhir yang saya tulis benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan karya akhir ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 03 Oktober 2022

Yang menyatakan,



Sy. Raehana Mardiah Alaydrus

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah Subhanahu wa Ta'ala yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan karya akhir ini. Penulisan karya akhir ini merupakan salah satu persyaratan dalam rangka penyelesaian Program Pendidikan Dokter Spesialis di IPDSA (Institusi Pendidikan Dokter Spesialis Anak) Universitas Hasanuddin, Makassar.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa penulisan karya akhir ini tidak akan terselesaikan dengan baik tanpa bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang tulus kepada **Dr. dr. Nadirah Rasyid Ridha, M. Kes, Sp. A(K)** dan **Dr. dr. Ema Alasiry, Sp.A(K)** sebagai pembimbing materi dan metodologi penelitian yang dengan penuh perhatian dan kesabaran senantiasa membimbing dan memberikan dorongan kepada penulis sejak awal penelitian hingga penulisan karya akhir ini.

Penulis juga mengucapkan banyak terima kasih kepada para penguji yang telah banyak memberikan masukan dan perbaikan untuk karya akhir ini, yaitu, **dr. Hadia Angriani, Sp. A(K), MARS, dr. Amiruddin L, Sp.A(K)**, dan **dr. Kwari Januar Satriono, M.Kes, Sp.A(K)**.

Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada:

1. Orang tua saya tercinta ayahanda **Drs.H.S. Alwy Alaydrus** serta ibunda **Prof. Hj. Suwinnah Alwy, S.E** yang senantiasa mendukung dalam doa dan dorongan yang sangat berarti sehingga penulis mampu menjalani proses pendidikan.

2. Suami tercinta saya **dr. Bahrul Huda** dan anak kesayangan saya **Muhammad Maher Zakky** yang dengan penuh kesabaran mendoakan dan menjadi sumber inspirasi dan semangat hidup saya selama menjalani proses pendidikan.
3. Saudara kandung saya **Ir. Sy. Anny Aisyah Alaydrus, Ir. S. Zein Alaydrus** dan **Dr. S. Anwar Alaydrus, S.Sos, MM** serta kakak ipar saya **Ir. Amigo Ibrahim Chered** dan **Rahmawati Madin, SE** atas doa dan dukungannya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan karya akhir ini.
4. Seluruh anggota keluarga yang lain atas doa dan dukungannya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan karya akhir ini.
5. Semua teman sejawat peserta Program Pendidikan Dokter Spesialis I Ilmu Kesehatan Anak, terutama angkatan Januari 2018: **dr. Ivana Yunita, dr. Astri Amelia Gosal, dr. A. Ayu Hafsari, dr. Dewy Ratyh Ibrahim, dr. Musdalipa,** dan **dr. A. Emir al Amal** atas bantuan dan kerjasamanya yang menyenangkan, berbagai suka, dan duka selama penulis menjalani pendidikan.
6. Rektor dan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin atas kesediaannya menerima penulis sebagai peserta pendidikan pada Program Studi Ilmu Kesehatan Anak, Universitas Hasanuddin.
7. Koordinator Program Pendidikan Dokter Spesialis I, Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin yang senantiasa memantau dan membantu kelancaran pendidikan penulis.

8. Ketua Departemen, Ketua dan Sekretaris Program Studi Ilmu Kesehatan Anak Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin beserta seluruh staf pengajar (supervisor) Departemen Ilmu Kesehatan Anak atas bimbingan, arahan, dan nasehat yang tulus selama penulis menjalani pendidikan.
9. Direktur RSUP dr. Wahidin Sudirohusodo, Direktur RSP Universitas Hasanuddin, dan Direktur RS Jejaring atas ijin dan kerjasamanya untuk memberikan kesempatan kepada penulis untuk menjalani pendidikan di rumah sakit tersebut.
10. Semua staf administrasi di Departemen Ilmu Kesehatan Anak Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin dan semua paramedis di RSUP dr. Wahidin dan rumah sakit jejaring yang lain atas bantuan dan kerjasamanya selama penulis menjalani pendidikan.
11. Semua pihak yang tidak sempat penulis sebutkan satu persatu yang turut membantu menyelesaikan karya akhir ini.

Dan akhirnya penulis berharap semoga tulisan ini dapat memberikan manfaat bagi perkembangan Ilmu Kesehatan Anak di masa mendatang. Tak lupa penulis mohon maaf untuk hal-hal yang tidak berkenan dalam penulisan ini karena penulis menyadari sepenuhnya bahwa penulisan hasil penelitian ini masih jauh dari kesempurnaan.

Makassar, 27 September 2022

Sy. Raehana Mardiah Alaydrus

ABSTRAK

RAEHANA. *Analisis Kadar Malondialdehyde pada Anak dengan Thalassemia Beta* (dibimbing oleh Nadirah Rasyid Ridha dan Ema Alasiry).

Thalassemia beta merupakan kelainan genetik yang diturunkan secara autosomal resesif dan tersebar di seluruh dunia, termasuk di Indonesia. Thalassemia beta memerlukan transfusi seumur hidup sehingga dapat terjadi penumpukan besi dalam tubuh. Besi yang jumlahnya meningkat ini menyebabkan stres oksidatif dengan salah satu akibatnya adalah peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid dapat diukur dengan pengukuran kadar malondialdehyde yang merupakan produk peroksidasi. Penelitian ini bertujuan menganalisis kadar malondialdehyde pada anak dengan thalassemia beta dan membandingkan kadar malondialdehyde pada pasien thalassemia beta dan nonthalassemia. Penelitian ini menggunakan desain potong lintang yang dilaksanakan di RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo selama April sampai dengan Agustus 2022. Populasi penelitian adalah pasien yang terdiagnosis thalassemia beta dan nonthalassemia (kontrol) yang memenuhi kriteria inklusi. Penelitian ini melibatkan 60 anak usia 6 bulan sampai dengan 18 tahun yang terbagi atas 2 kelompok, 30 anak thalassemia beta dan 30 nonthalassemia. Hasil penelitian menunjukkan bahwa didapatkan kadar malondialdehyde lebih tinggi pada anak thalassemia beta dibandingkan dengan anak nonthalassemia dengan nilai $p=0.000$. Kadar malondialdehyde lebih tinggi secara signifikan pada anak thalassemia beta mayor dibandingkan dengan thalassemia beta Hb-E dengan nilai $p=0,000$.

Kata kunci: malondialdehyde, thalassemia beta, transfusi



ABSTRACT

RAEHANA. *An Analysis of Malondialdehyde in Children with Beta Thalassemia* (supervised by Nadira Rasyid Ridha and Ema Alasiry)

Beta thalassemia is a genetic disorder inherited by autosomal recessive and spread throughout the world, including in Indonesia. Beta thalassemia requires lifelong transfusions which can cause accumulation of iron in the body. The increased iron causes oxidative stress in which one of the consequences is lipid peroxidation. Lipid peroxidation can be measured by measuring the level of malondialdehyde which is a peroxidation product. This study aims to analyze the level of malondialdehyde in beta thalassemia by using cross sectional design conducted at Dr. Wahidin Sudirohusodo Hospital from April to August 2022. Populations were patients diagnosed with beta thalassemia and non-thalassemia (controls) who met inclusion criteria. This study compared malondialdehyde level in beta thalassemia and non-thalassemia patients by involving 60 children aged 6 months to 18 years. They were divided into 2 groups, namely 30 children in beta thalassemia group and 30 in non-thalassemia group. In this study, the level of malondialdehyde is higher in beta thalassemia children compared to the level of non-thalassaemic children with p value = 0.000. The level of malondialdehyde is significantly higher in beta major thalassemia children compared to beta HbE thalassemia with p value = 0.000.

Keywords: malondialdehyde, beta thalassemia, transfusion



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGAJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR	iv
KATA PENGANTAR	v
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
DAFTAR SINGKATAN	xvii
BAB I. PENDAHULUAN	1
I.1. Latar Belakang Masalah	1
I.2. Rumusan Masalah	4
I.3. Tujuan Penelitian	5
I.3.1. Tujuan Umum	5
I.3.2. Tujuan Khusus	5
I.4. Hipotesis Penelitian	5
I.5. Manfaat Penelitian	6
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	7
II.1. Thalassemia.....	7

II.1.1. Definisi	7
II.1.2. Epidemiologi	10
II.1.3. Klasifikasi Thalasemia	12
II.2 Thalassemia Beta	14
II.2.1 Definisi	14
II.2.2 Patofisiologi.....	16
II.2.3 Manifestasi Klinis	21
II.2.4 Laboratorium.....	25
II.2.5 Terapi.....	29
II.2.6 Prognosis	34
II.3 Thalassemia Beta HBE.....	35
II.3.1 Definisi	35
II.3.2 Etiologi dan Pathogenesis	36
II.3.3 Gejala Klinis	36
II.3.4 Laboratorium.....	38
II.3.5 Terapi.....	39
II.3.6 Prognosis	39
II.4 Transfusi Berulang.....	40
II.5 <i>Overload</i> Besi pada Thalassemia.....	42
II.5.1 Laju Penambahan Besi.....	45
II.5.2 Toksisitas Kelebihan Zat Besi.....	47
II.6 Malondialdehid.....	49
II.6.1 Radikal Bebas.....	49

II.6.2 Tipe Radikal Bebas.....	58
II.6.3 Sumber Radikal Bebas	59
II.6.4 Stres Oksidatif.....	63
II.6.5 Peroksidasi Lemak.....	69
II.6.6 Metabolisme MDA.....	74
II.7 Peranan Malondialdehid pada Thalasemia	75
II.8 Kerangka Teori.....	78
BAB III. KERANGKA KONSEP	79
BAB IV. METODOLOGI PENELITIAN	80
IV.1. Desain Penelitian	80
IV.2. Tempat dan Waktu Penelitian	80
IV.3. Populasi Penelitian	80
IV.4. Sampel dan Cara Pemilihan Sampel.....	81
IV.5. Perkiraan Besar Sampel.....	81
IV.6. Kriteria Inklusi dan Eksklusi	82
IV.7. Izin Penelitian dan <i>Ethical Clearance</i>	82
IV.8. Cara Kerja	83
IV.8.1. Alokasi Subyek	83
IV.8.2. Cara Penelitian	83
IV.8.3. Prosedur Pemeriksaan.....	84
IV.8.4. Alur Penelitian	86
IV.9. Identifikasi dan Klasifikasi Variabel.....	86
IV.9.1. Identifikasi Variabel	86

IV.9.2. Klasifikasi Variabel	86
IV.10. Definisi Operasional dan Kriteria Objektif	87
IV.10.1. Definisi Operasional	87
IV.10.2. Kriteria Obyektif	89
IV.11. Pengolahan Data dan Analisis Data	90
IV.11.1. Analisis Data	90
IV.12. Penilaian Hasil Uji Hipotesis	91
BAB V. HASIL PENELITIAN	92
V.1. Jumlah Sampel	92
V.2. Karakteristik Sampel Penelitian	93
V.3. Perbandingan kadar malondialdehide pada kelompok non- thalassemia dan kelompok thalassemia beta	98
V.4. Perbandingan kadar malondialdehide pada kelompok thalassemia beta mayor dan kelompok thalassemia beta HbE	99
BAB VI. PEMBAHASAN	100
BAB VII. KESIMPULAN DAN SARAN	110
VII.1. Kesimpulan	110
VII.2. Saran	110
DAFTAR PUSTAKA	112
LAMPIRAN	119

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Laju penambahan zat besi bila terapi kelasi besi tidak diberikan	46
Tabel 2. Jenis ROS.....	58
Tabel 3. Karakteristik sampel penelitian.....	93
Tabel 4. Karakteristik sampel thalassemia beta mayor dan thalassemia beta HbE.....	94
Tabel 5. Perbandingan kadar malondialdehide pada kelompok non-thalassemia dan kelompok thalassemia beta	98
Tabel 6. Perbandingan kadar malondialdehide pada kelompok thalassemia beta HBE dan kelompok thalassemia beta mayor	99

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Rantai Globin.....	8
Gambar 2.	Skema Penurunan Gen Thalassemia menurut Hukum Mendel.....	9
Gambar 3.	Peta distribusi thalassemia di dunia. Indonesia merupakan salah satu negara yang terletak pada sabuk thalassemia.....	10
Gambar 4.	Kluster gen globin pada lengan pendek kromosom 11.	15
Gambar 5.	Sintesis hemoglobin pada embrio, janin, dan dewasa. Sintesis rantai gamma tinggi saat intrauterine dan menurun pada saat usia anak 4-6 bulan.....	19
Gambar 6.	Gambaran wajah pada anak thalassemia.....	21
Gambar 7.	Gambaran <i>hair on end</i> pada foto tulang tengkorak (A dan B); gambaran pelebaran medulla, penipisan korteks dan trabekulasi dan fraktur tulang panjang © ..	23
Gambar 8.	Gambaran morfologi dari hapusan darah tepi pasien beta thalassemia	26
Gambar 9.	Homeostasis besi pada <i>overload</i> besi karena transfusi	44
Gambar 10.	Mekanisme dan konsekuensi kelebihan zat besi.....	47
Gambar 11.	Siklus sel	52
Gambar 12.	Nekrosis dan Apoptosis	53
Gambar 13.	Radikal bebas.....	57
Gambar 14.	Pembentukan ROS di Mitokondria.....	60
Gambar 15.	Stres oksidatif dan respon seluler	65
Gambar 16.	Tahapan peroksidasi lemak	70
Gambar 17.	Proses peroksidasi lemak hingga terbentuk malondialdehid	71
Gambar 18.	Metabolisme MDA	75

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Naskah Penjelasan Untuk Mendapat Persetujuan dari Keluarga/Subyek Penelitian	119
Lampiran 2. Formulir Persetujuan Mengikuti Penelitian	122
Lampiran 3. Prosedur Pengambilan Sampel	123
Lampiran 4. Etik Penelitian.....	128
Lampiran 5. Analisis Data	130
Lampiran 6. Data Dasar	153

DAFTAR SINGKATAN

Singkatan	Arti dan Keterangan
$1O_2$: Tunggal (singlet)
$3O_2$: Triplet
ATP	: Adenosina Trifosfat
BB	: Berat Badan
DNA	: <i>Deoxyribo Nucleic Acid</i>
Fe^{2+}	: <i>Ferrous Iron</i>
FPN	: Ferroportin
H_2O_2	: Hydrogen Peroksida
H_2O_2)	: Hidrogen Peroksida
HOCl)	: Asam Hipoklorus
LDL	: Low Density Lipoprotein
LO-	: Radikal Alkoxy
LO-2	: Radikal Peroksil
MDA	: <i>Malondialdehyde</i>
NO^-	: Nitrit Oksida
O_2^-	: Anion Superoksida
-OH	: Radikal Hidroksil
$ONOO^-$: Peroksinitrit
PGH_2	: Prostaglandin H_2
PTPM	: Permeabilitas <i>Transition Pore Mitochondria</i>
RNA	: <i>Ribonucleic Acid</i>

Singkatan	Arti dan Keterangan
ROOH	: Hidroperoksida
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
RS	: Rumah Sakit
RSUP	: Rumah Sakit Umum Pusat
SGOT	: Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase
SGPT	: Serum Glutamic Pyruvate Transaminase
TB	: Tinggi Badan
TBARs	: <i>TBA-reactant</i> substansi
TDT	: Thalassemia Dependen Transfusi
WHO	: <i>World Health Organization</i>

BAB I

PENDAHULUAN

I.1. Latar Belakang Masalah

Thalassemia merupakan kelainan genetik terbanyak di dunia. Kelainan ini diturunkan secara resesif menurut hukum Mendel. Penyakit yang semula ditemukan di sekitar Laut Tengah ini ternyata tersebar luas sepanjang garis khatulistiwa, termasuk Indonesia. Tidak kurang dari 300.000 bayi dengan kelainan berat penyakit ini dilahirkan setiap tahun di dunia, sedangkan jumlah penderita thalassemia heterosigotnya tidak kurang dari 250 juta orang (Wahidiyat I, 2003). Kasus ini banyak didapatkan di India, Asia Selatan, Cina, dan Indonesia (Ratih D, Susanto R, Sudarmanto B, 2011). Berdasarkan laporan *World Health Organization* (WHO) tahun 2006 sekitar 7% penduduk dunia diduga pembawa sifat thalassemia atau sekitar 300.000-500.000 bayi lahir sebagai pembawa sifat thalassemia dan sekitar 1,67% dari penduduk dunia sebagai penderita thalassemia (Jaya IK, Sari DP, Zen NF, 2015). Badan kesehatan dunia atau WHO (2012) menyatakan kurang lebih 7% dari penduduk dunia mempunyai gen thalassemia dimana angka kejadian tertinggi sampai dengan 40% kasusnya adalah di Asia. Prevalensi karier thalassemia di Indonesia mencapai 3-8%. Pada tahun 2009, kasus thalassemia di Indonesia mengalami peningkatan sebesar 8,3% dari 3653 kasus yang tercatat di tahun 2006 (Safitri R, Ernawaty J, Karim D, 2015).

Thalassemia merupakan penyakit genetik tersering di dunia. Penyakit genetik ini diakibatkan oleh ketidakmampuan sumsum tulang membentuk protein yang dibutuhkan untuk memproduksi hemoglobin. Hemoglobin merupakan protein kaya zat besi yang berada di dalam sel darah merah yang berfungsi untuk mengangkut oksigen dari paru-paru ke seluruh bagian tubuh. Pada thalassemia terjadi penurunan kadar Hemoglobin dan lisis eritrosit yang mengakibatkan anemia. Derajat anemia yang terjadi dapat bervariasi dari ringan hingga berat, anemia merupakan masalah utama pada thalassemia, sehingga penderita thalassemia membutuhkan transfusi berulang (Safitri R, Ernawaty J, Karim D, 2015).

Thalassemia merupakan penyakit herediter, sehingga diperlukan diagnosis dan tatalaksana yang tepat bagi penderitanya. Penatalaksanaan anemia pada pasien thalassemia adalah pemberian tranfusi darah. Transfusi yang dilakukan terus-menerus dapat menyebabkan kelebihan besi dalam tubuh (*iron overload*) (Longo *et al.*, 2012). Besi yang jumlahnya meningkat ini, dalam bentuk *ferrous iron* (Fe^{2+}) dapat mengalami reaksi *Fenton* yang membentuk radikal bebas, menyebabkan stres oksidatif dengan salah satu akibatnya adalah peroksidasi lipid (Chiou *et al.*, 2006; Rubin dan Strayer, 2012).

Peroksidasi lipid dapat mengurai lipid menjadi malondialdehid (MDA) (Rahman *et al.*, 2012; Ayala *et al.*, 2014). Peroksidasi lipid membran dapat mengganggu fungsi dan integritas sel normal. Maka

pengukuran produk peroksidasi lipid adalah cara yang umum untuk menggambarkan stres oksidatif (Montuschi *et al.*, 2004; Chiou *et al.*, 2006; Comporti *et al.*, 2008). Peroksidasi lipid dapat diukur dengan pengukuran kadar MDA yang merupakan produk peroksidasi.

Penderita thalassemia mengalami anemia hemolitik yang terjadi karena umur eritrosit yang memendek oleh karena peningkatan destruksi eritrosit yang terjadi dalam sirkulasi (hemolisis intravaskular) (Hilman RS, 2005). Pemberian transfusi darah kronik yang akhirnya mengakibatkan kadar besi berlebih dalam tubuh akan memacu timbulnya oksidan berupa *reactive oxygen species* (ROS) (Laksmitawati DR, 2003). Oksidan merupakan senyawa yang dapat mengganggu integritas membran sel dan memperberat hemolisis yang terjadi. Peningkatan ROS dalam tubuh akan menimbulkan peroksidasi lipid yang ditandai dengan peningkatan kadar MDA serum. Peningkatan produksi ROS dan MDA dapat menyebabkan kerusakan membran sel yang mengandung senyawa lipid termasuk eritrosit. Peroksidasi membran eritrosit menyebabkan hemolisis sehingga terjadi penurunan kadar Hb (Dissayabutra, 2005)

Hal ini menggambarkan bahwa MDA merupakan indikator pengukuran produk peroksidasi lipid dalam hal ini adalah eritrosit. Berdasarkan hal tersebut di atas, peneliti menganggap **perlu** dilakukan penelitian untuk mengukur kadar MDA pada penderita thalassemia dalam upaya menurunkan dan mencegah morbiditas dan mortalitas thalassemia beta akibat kerusakan organ yang terjadi.

Penelitian untuk melihat kadar malondialdehyde pada pasien thalassemia **penting** untuk dilakukan karena transfusi berulang pada pasien thalassemia menyebabkan penumpukan besi berlebih yang dapat memicu terbentuknya stress oksidatif dan radikal bebas yang dapat mengganggu fungsi dan integritas sel normal serta memperberat hemolisis yang terjadi.

Penelitian mengenai hal ini **belum pernah** dilakukan pada populasi di Sulawesi Selatan, khususnya bertempat di RSUP. Wahidin Sudirohusodo. Atas dasar inilah, maka penelitian ini dilakukan untuk menilai hubungan kadar malondialdehyde pada anak dengan thalassemia beta, khususnya pada populasi Sulawesi Selatan, bertempat di RSUP. Wahidin Sudirohusodo.

I.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian dalam latar belakang di atas, maka dapat dirumuskan pertanyaan penelitian sebagai berikut :

1. Apakah ada perbedaan kadar MDA antara anak dengan thalassemia beta dengan anak non-thalassemia?
2. Apakah ada perbedaan kadar MDA antara anak dengan thalassemia beta mayor dengan anak dengan thalassemia beta HbE?

I.3. Tujuan Penelitian

I.3.1. Tujuan Umum

Untuk menganalisis kadar MDA antara anak dengan thalassemia beta dan anak non - thalassemia.

I.3.2. Tujuan Khusus

1. Mengukur kadar MDA pada anak non - thalassemia
2. Mengukur kadar MDA pada anak dengan thalassemia beta mayor
3. Mengukur kadar MDA pada anak dengan thalassemia beta HbE
4. Membandingkan kadar MDA antara anak dengan thalassemia beta dengan anak non - thalassemia
5. Membandingkan kadar MDA antara anak dengan thalassemia beta mayor dengan anak dengan thalassemia beta HbE

I.4 Hipotesis Penelitian

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah :

- Kadar MDA pada anak thalassemia beta lebih tinggi dibandingkan pada anak non - thalassemia .
- Kadar MDA pada anak thalassemia beta mayor lebih tinggi dibandingkan pada anak thalassemia beta HBE.

I.5 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan akan memberikan manfaat sebagai berikut :

1. Ilmu pengetahuan

Memberikan informasi ilmiah dan pengembangan ilmu tentang kadar malondialdehid pada thalassemia beta mayor dan thalassemia beta HBE sebagai data dasar untuk penelitian selanjutnya dalam hal patomekanisme dan aspek biologi molekuler.

2. Aplikasi klinis

Jika terbukti terdapat peningkatan kadar malondialdehid pada penderita thalassemia beta maka dapat dilakukan intervensi dengan pemberian terapi antioksidan sebagai tambahan dalam tatalaksana thalassemia.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1. Thalassemia

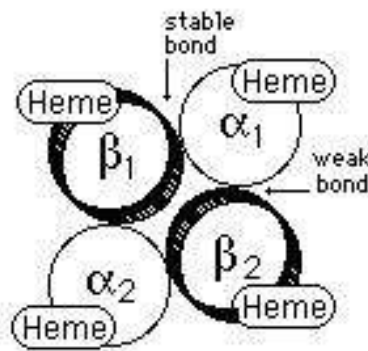
II.1.1. Definisi

Thalassemia berasal dari bahasa Yunani yaitu *thalasso* yang berarti laut. Pertama kali ditemukan oleh seorang dokter Thomas B. Cooley tahun 1925 di daerah Laut Tengah, dijumpai pada anak-anak yang menderita anemia dengan pembesaran limfa setelah berusia satu tahun. Anemia dinamakan *splenic* atau *eritroblastosis* atau anemia *mediteranean* atau anemia *Cooley* sesuai dengan nama penemunya (Nuari A, 2016).

Thalassemia merupakan kelainan genetik dimana terjadi mutasi di dalam atau di dekat gen globin yang ditandai dengan tidak ada atau berkurangnya sintesis rantai globin (Hutahaen F, Hendrianingtyas M, 2017), atau dapat juga dikatakan sebagai suatu penyakit keturunan yang diakibatkan oleh kegagalan pembentukan salah satu dari empat rantai asam amino yang membentuk hemoglobin, sehingga hemoglobin tidak terbentuk sempurna. Tubuh tidak dapat membentuk sel darah merah yang normal, sehingga sel darah merah mudah rusak atau berumur pendek kurang dari 120 hari dan terjadilah anemia (Nuari A, 2016). Kecepatan sintesis (*rate of synthesis*) pada thalassemia atau kemampuan produksi rantai globin mengalami perubahan kuantitatif. Hal ini dapat menimbulkan defisiensi produksi sebagian atau menyeluruh dari rantai globin tersebut.

Jenis *thalassemia* yang diderita pasien akan sesuai dengan rantai globin yang terganggu produksinya (Hutahaen F, Hendrianingtyas M, 2017).

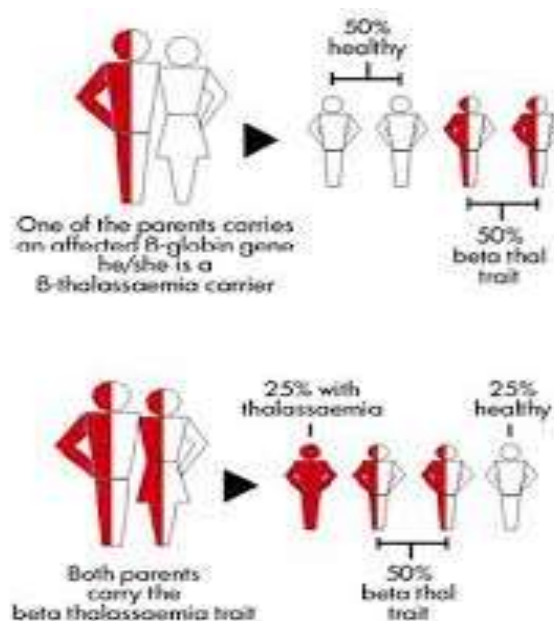
Hemoglobin adalah suatu zat di dalam sel darah merah yang berfungsi mengangkut zat asam dari paru-paru ke seluruh tubuh, juga memberi warna merah pada eritrosit. Hemoglobin manusia terdiri dari persenyawaan hem dan globin. Hem terdiri dari zat besi (Fe) dan globin adalah suatu protein yang terdiri dari rantai polipeptida. Hemoglobin pada manusia normal terdiri dari 2 rantai alfa (α) dan 2 rantai beta (β) yang meliputi HbA ($\alpha_2\beta_2 = 97\%$), sebagian lagi HbA₂ ($\alpha_2\delta_2 = 2,5\%$) sisanya HbF ($\alpha_2\gamma_2 = 0,5\%$) (Nuari A, 2016) .



Gambar 1. Rantai Globin

Rantai globin merupakan suatu protein, maka sintesisnya dikendalikan oleh suatu gen. Dua kelompok gen yang mengatur yaitu kluster gen globin- α terletak pada kromosom 16 dan kluster gen globin- β terletak pada kromosom 11. Penyakit thalassemia diturunkan melalui gen yang disebut sebagai gen globin beta. Gen globin beta ini yang mengatur pembentukan salah satu komponen pembentuk hemoglobin. Gen globin beta hanya sebelah yang mengalami kelainan maka disebut pembawa sifat

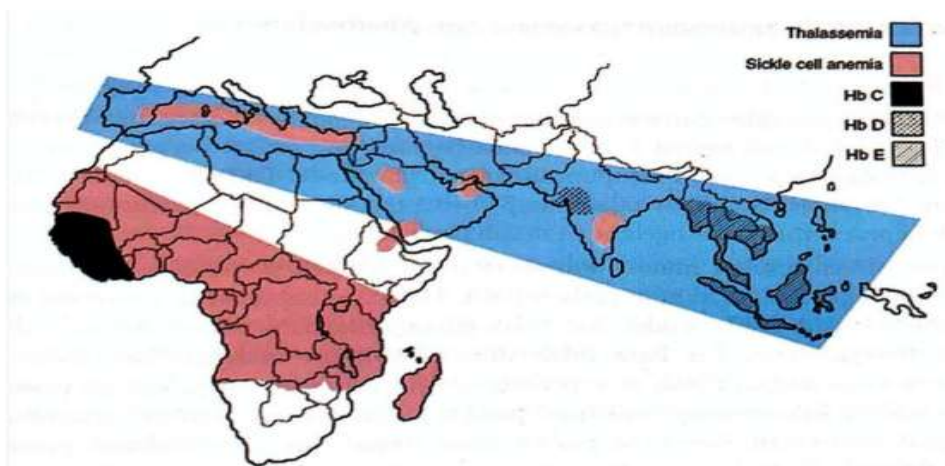
thalassemia-beta. Seorang pembawa sifat thalassemia tampak normal atau sehat, sebab masih mempunyai 1 belah gen dalam keadaan normal dan dapat berfungsi dengan baik dan jarang memerlukan pengobatan. Kelainan gen globin yang terjadi pada kedua kromosom, dinamakan penderita thalassemia mayor yang berasal dari kedua orang tua yang masing-masing membawa sifat thalassemia. Proses pembuahan, anak hanya mendapat sebelah gen globin beta dari ibunya dan sebelah lagi dari ayahnya. Satu dari orang tua menderita thalassemia trait/bawaan maka kemungkinan 50% sehat dan 50% thalassemia trait. Kedua orang tua thalassemia trait maka kemungkinan 25% anak sehat, 25% anak thalassemia mayor dan 50% anak thalassemia trait (Nuari A, 2016).



Gambar 2. Skema Penurunan Gen Thalassemia menurut Hukum Mendel

II.1.2. Epidemiologi

Berdasarkan penelitian *World Health Organization* (WHO) 2006, diperkirakan sebesar 5% penduduk dunia adalah *carrier* dari 300-400 ribu bayi thalassemia yang baru lahir pertahunnya. "Thalassemia Belt" memanjang di 13 sepanjang pantai Mediterania dan di seluruh semenanjung Arab, Turki, Iran, India, Asia tenggara, terutama Thailand, Kamboja, dan Cina Selatan. (Hoffman et al., 2018)



Gambar 3. Peta distribusi thalassemia di dunia. Indonesia merupakan salah satu negara yang terletak pada sabuk thalassemia(Windiastuti et al., 2018)

Berdasarkan data terakhir dari *World Health Organization* (WHO) menyebutkan 250 juta penduduk dunia (4,5%) membawa genetik Thalassemia. Dari 250 juta, 80-90 juta di antaranya membawa genetik Thalassemia β (WHO, 2014). Sementara itu jumlah penderita Thalassemia hingga tahun 2009 naik menjadi 8,3 % dari 3.653 penderita pada tahun 2006. Kejadian thalassemia sampai saat ini tidak bisa terkontrol terkait

faktor genetik dan belum maksimalnya tindakan *screening* untuk thalassemia khususnya di Indonesia (Nuari A, 2016).

Frekuensi gen thalassemia di Indonesia berkisar 3-10%. Berdasarkan angka ini, diperkirakan lebih 2000 penderita baru dilahirkan setiap tahunnya di Indonesia. Salah satu Rumah Sakit di Jakarta, sampai dengan akhir tahun 2003 terdapat 1060 pasien thalassemia β mayor yang berobat jalan di Pusat Thalassemia Departemen Anak Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo (FKUI-RSCM) yang terdiri dari 52,5% pasien talasemia β homozigot, 46,2 % pasien thalassemia HbE, serta thalassemia α 1,3%. Sekitar 70-80 pasien baru, datang tiap tahunnya (Nuari A, 2016). Prevalensi karier thalasemia di Indonesia mencapai 3-8%. Pada tahun 2009, kasus thalasemia di Indonesia mengalami peningkatan sebesar 8,3% dari 3653 kasus yang tercatat di tahun 2006 (Safitri R, Ernawaty J, Karim D, 2015). Fakta ini mendukung thalassemia sebagai salah satu penyakit turunan terbanyak dan menyerang hampir semua golongan etnik dan terdapat di seluruh negara di dunia termasuk Indonesia (Nuari A, 2016).

Diperkirakan penambahan kasus thalassemia baru di Indonesia lebih 2500 kasus per tahun. Berdasarkan angka frekuensi pembawa sifat 3 thalassemia beta (8%) dan wanita usia subur atau usia nikah sebesar 1.178.963 orang di provinsi Sulawesi Selatan (data BPS tahun 2000), maka diperkirakan jumlah pasangan subur di Sulawesi Selatan yang berisiko tinggi sekitar 7500 pasangan. Penelitian tentang thalassemia- β di Sulawesi

Selatan pernah dilakukan oleh Dasril pada tahun 2002 yang meneliti cacat molekul dan ekspresi fenotipik thalassemia beta dan hemoglobin O Indonesia di Sulawesi Selatan dan didapatkan dari 1751 individu yang diperiksa, ditemukan 55 orang (3,1%) sebagai pembawa sifat thalassemia beta, dengan suku terbanyak yaitu suku Makassar (4,7%), diikuti suku Bugis (4,3%), Toraja (1,7%), dan Mandar (0,4%) (Daud, 2002).

II.1.3. Klasifikasi Thalasemia

Thalasemia diklasifikasikan berdasarkan molekul menjadi dua yaitu thalasemia alfa dan thalasemia beta (Nuari A, 2016).

1. Thalasemia Alfa

Thalasemia ini disebabkan oleh mutasi salah satu atau seluruh globin rantai alfa yang ada. Thalasemia alfa terdiri dari :

a. *Silent Carrier State*

Gangguan pada 1 rantai globin alfa. Keadaan ini tidak timbul gejala sama sekali atau sedikit kelainan berupa sel darah merah yang tampak lebih pucat.

b. Alfa Thalasemia *Trait*

Gangguan pada 2 rantai globin alpha. Penderita mengalami anemia ringan dengan sel darah merah hipokrom dan mikrositer, dapat menjadi *carrier*.

c. Hb H *Disease*

Gangguan pada 3 rantai globin alfa. Penderita dapat bervariasi mulai tidak ada gejala sama sekali, hingga anemia yang berat yang disertai dengan perbesaran limpa.

d. Alfa Thalassemia Mayor

Gangguan pada 4 rantai globin alpha. Thalassemia tipe ini merupakan kondisi yang paling berbahaya pada thalassemia tipe alfa. Kondisi ini tidak terdapat rantai globin yang dibentuk sehingga tidak ada HbA atau HbF yang diproduksi. Janin yang menderita alpha thalassemia mayor pada awal kehamilan akan mengalami anemia, membengkak karena kelebihan cairan, perbesaran hati dan limpa. Janin ini biasanya mengalami keguguran atau meninggal tidak lama setelah dilahirkan.

2. Thalassemia Beta

Thalassemia beta terjadi jika terdapat mutasi pada satu atau dua rantai globin beta yang ada. Thalassemia beta terdiri dari :

a. Beta Thalassemia *Trait*.

Thalassemia jenis ini memiliki satu gen normal dan satu gen yang bermutasi. Penderita mengalami anemia ringan yang ditandai dengan sel darah merah yang mengecil (mikrositer).

b. Thalassemia Intermedia.

Kondisi ini kedua gen mengalami mutasi tetapi masih bisa produksi sedikit rantai beta globin. Penderita mengalami anemia yang derajatnya tergantung dari derajat mutasi gen yang terjadi.

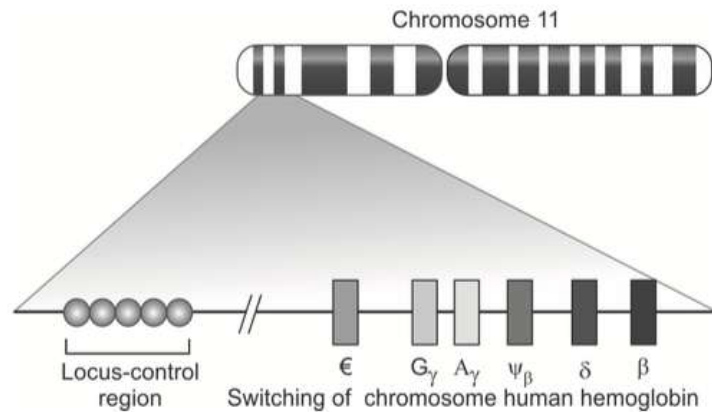
c. **Thalassemia Mayor.**

Kondisi ini kedua gen mengalami mutasi sehingga tidak dapat memproduksi rantai beta globin. Gejala muncul pada bayi ketika berumur 3 bulan berupa anemia yang berat. Penderita thalassemia mayor tidak dapat membentuk hemoglobin yang cukup sehingga hampir tidak ada oksigen yang dapat disalurkan ke seluruh tubuh, yang lama kelamaan akan menyebabkan kekurangan O₂, gagal jantung kongestif, maupun kematian. Penderita thalassemia mayor memerlukan transfusi darah yang rutin dan perawatan medis demi kelangsungan hidupnya (Nuari A, 2016).

II.2 Thalassemia Beta

II.2.1 Definisi

Thalassemia β mayor, juga dikenal sebagai Cooley anemia atau thalassemia β -homozigot, adalah gangguan klinis berat yang dihasilkan dari pewarisan dua alel thalassemia β , satu pada setiap salinan kromosom 11. Sebagai konsekuensi dari berkurangnya sintesis Hb A, sel darah merah yang beredar sangat hipokromik, bentuknya tidak normal, dan mengandung jumlah Hb yang sangat kurang. Akumulasi rantai α -globin bebas menyebabkan pengendapan agregat dari rantai-rantai ini sehingga merusak eritrosit dan sel-sel prekursorinya dalam sumsum tulang. Anemia pada thalassemia mayor sangat berat sehingga transfusi darah jangka panjang biasanya diperlukan untuk bertahan hidup. (Hoffman *et al.*, 2018)



Gambar 4. Kluster gen globin pada lengan pendek kromosom 11

Istilah thalassemia β -intermedia digunakan pada fenotip klinis yang ringan di mana terjadi anemia yang signifikan tetapi transfusi jangka panjang tidak mutlak diperlukan. Biasanya hal ini merupakan hasil dari pewarisan dua mutasi thalassemia β , satu ringan dan satu berat; warisan dua mutasi ringan; atau, kadang-kadang, pewarisan kombinasi kompleks, seperti defek thalassemia β tunggal dan kelebihan gen α -globin normal, atau dua mutasi thalassemia β yang diturunkan bersamaan dengan heterozigot thalassemia α (dikenal sebagai thalassemia $\alpha\beta$, alel thalassemia- α mengurangi beban rantai α yang tidak berpasangan). Heterozigositas sederhana untuk bentuk-bentuk tertentu dari hemoglobinopati thalassemia β juga dapat dikaitkan dengan fenotip thalassemia intermedia, yang disebut thalassemia β dominan. (Hoffman *et al.*, 2018)

Thalassemia minor, juga dikenal sebagai thalassemia β -*trait* atau thalassemia- β heterozigot, disebabkan oleh adanya mutasi tunggal

thalassemia β dan gen β -globin normal di sisi lain kromosom. Hal ini ditandai dengan mikrositosis berat dengan hipokromia tetapi anemia ringan atau minimal. Secara umum, thalassemia minor tidak memiliki gejala, meskipun kolelitiasis dilaporkan sebagai hasilnya hemolisis pada populasi ini. (Hoffman *et al.*, 2018)

II.2.2 Patofisiologi

Pertanda biokimia thalassemia β adalah berkurangnya biosintesis dari subunit β -globin dari Hb A ($\alpha_2\beta_2$). Pada thalassemia β heterozigot, sintesis β -globin berkurang lebih setengah dari normal, (Rasio sintesis mRNA rantai β - ke α (rasio β / α) 0,5-0,7 (normal = 1.0). Rasio ini memiliki korelasi langsung dengan tingkat keparahan klinis pada pasien thalassemia β . Pada thalassemia β° homozigot, meliputi sepertiga dari semua pasien thalassemia, tidak memiliki sintesis β -globin. Sintesis β -globin berkurang hingga 5% hingga 30% dari level normal pada thalassemia β^+ homozigot atau thalassemia β^+/β° -heterozigot, yang menyumbang sekitar dua pertiga kasus thalassemia. (Hoffman *et al.*, 2018)

Protein penstabil α -hemoglobin adalah protein mirip *chaperone* (pendamping) yang membantu mengikat rantai α -globin bebas. Kadar yang tinggi dari protein penstabil α -hemoglobin menghasilkan fenotip klinis yang lebih berat. Karena sintesis Hb A ($\alpha_2\beta_2$) berkurang atau tidak ada, sel darah merah bersifat hipokromik dan mikrositik. Sintesis rantai γ diaktifkan kembali sebagian sehingga Hb pasien mengandung proporsi Hb F yang

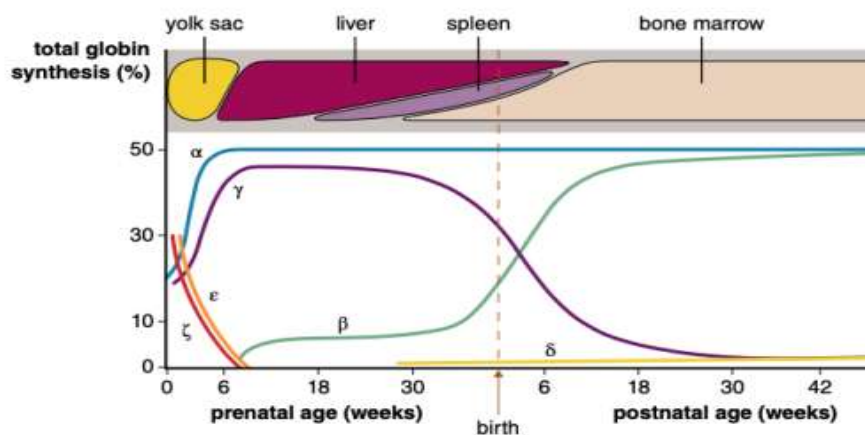
relatif banyak. Namun, rantai γ ini secara kuantitatif tidak cukup untuk menggantikan produksi rantai β . (Hoffman *et al.*, 2018)

Individu yang mewarisi dua alel thalassemia β mengalami lebih banyak defisit dari produksi rantai β . Sedikit atau tidak ada Hb A yang diproduksi, dan yang terpenting, ketidakseimbangan produksi α - dan β -globin jauh lebih besar. α -globin bebas terakumulasi, dan agregat rantai α yang tidak berpasangan mengendap dan membentuk badan inklusi, yang menyebabkan kerusakan membran oksidatif dalam sel darah merah yang berakibat apoptosis dan penghancuran eritroblas yang belum berkembang dalam sumsum tulang. Akibatnya, relatif sedikit prekursor eritroid yang mengalami maturasi dalam sumsum tulang bertahan cukup lama untuk dilepaskan ke dalam aliran darah sebagai eritrosit. Eritrosit yang jarang terbentuk ini pada pasien thalassemia memiliki badan inklusi. Sel retikuloendotelial di limpa, hati, dan sumsum tulang mengeliminasi sel-sel abnormal ini secara prematur, yang mengurangi kelangsungan hidup sel darah merah sebagai konsekuensi dari anemia hemolitik. (Hoffman *et al.*, 2018).

Lesi primer pada thalassemia adalah berkurang atau tidak adanya produksi satu atau lebih rantai globin. Gejala klinis terjadi ketika lesi ini mempengaruhi rantai α - atau β -globin yang diperlukan untuk sintesis hemoglobin dewasa (HbA), dengan struktur normal $\alpha_2\beta_2$. Gangguan pada produksi γ -, ϵ -, atau δ -globin mungkin menyebabkan kematian dalam kandungan. Salah satu konsekuensi dari berkurangnya produksi rantai

globin adalah berkurangnya produksi tetramer Hb fungsional. Akibatnya, hipokromia dan mikrositosis adalah karakteristik yang dijumpai hampir pada semua pasien thalassemia. Fenomena ini mungkin hampir tidak terdeteksi pada thalassemia ringan (Hoffman et al., 2018). Konsekuensi kedua dari gangguan biosintesis globin adalah sintesis yang tidak seimbang dari masing-masing subunit α dan β . Tetramer Hb sangat larut dan memiliki sifat pembawa oksigen reversibel untuk transportasi dan pengiriman oksigen dalam kondisi fisiologis. Rantai α -, β -, dan γ -globin bebas atau tidak berpasangan sangat tidak larut atau membentuk homotetramer (HbH dan Hb Bart) yang tidak mampu melepaskan oksigen secara normal, dan karena relatif tidak stabil, akan mengendap dengan bertambahnya usia sel. Pada thalassemia beta, terjadi penumpukan dan pengendapan rantai α -globin akibat produksi berlebih terus-menerus, sedangkan pada α -thalassemia, rantai β -globin yang berlebihan membentuk HbH. Kelarutan abnormal atau sifat pembawa oksigen dari rantai ini menyebabkan berbagai gangguan fisiologis. Pada thalassemia yang berat, akumulasi rantai globin yang tidak berpasangan lebih mendominasi patofisiologi thalassemia daripada produksi tetramer Hb yang kurang berfungsi. Komplikasi dari patofisiologi ini beragam dan tergantung pada jumlah dan identitas rantai globin yang terakumulasi secara berlebihan. Prinsip dasar yang harus diperhatikan adalah gejala thalassemia disebabkan oleh produksi Hb yang kurang dan akumulasi subunit globin yang tidak berpasangan. Subunit yang tidak berpasangan biasanya merupakan sumber utama morbiditas dan

mortalitas. (Hoffman et al., 2018) Hb yang beredar pada saat kelahiran adalah hemoglobin janin (Hb F ($\alpha_2\gamma_2$)). Meskipun peralihan dari biosintesis γ - ke β -globin dimulai sebelum kelahiran, komposisi Hb dalam darah perifer berubah jauh setelahnya karena masa hidup sel darah merah normal yang bersirkulasi (sekitar 120 hari). Hb F secara perlahan digantikan oleh HbA sehingga pada bayi tidak terlalu bergantung pada jumlah dan fungsi HbA sampai mereka berusia antara 4-6 bulan. Konsekuensi patofisiologis dari hal ini adalah hemoglobinopati rantai α cenderung bergejala di dalam kandungan dan saat lahir, sedangkan individu dengan kelainan rantai β tidak menunjukkan gejala sampai usia 6 bulan. Perbedaan-perbedaan dalam timbulnya ekspresi fenotipik ini muncul karena rantai α diperlukan untuk membentuk HbF dan HbA, tetapi rantai β hanya diperlukan untuk HbA (Hoffman et al., 2018).



Gambar 5. Sintesis hemoglobin pada embrio, janin, dan dewasa. Sintesis rantai gamma tinggi saat intrauterine dan menurun pada saat usia anak 4-6 bulan (Hoffbrand et al., 2019)

Sintesis β -globin yang terganggu memberikan setidaknya tiga efek berbeda namun saling terkait pada kapasitas pembawa oksigen untuk darah perifer: (1) eritropoiesis inefektif, yang mengganggu produksi sel darah merah baru; (2) anemia hemolitik, yang mempersingkat kelangsungan hidup beberapa sel darah merah yang diproduksi; dan (3) hipokromia dengan mikrositosis, yang mengurangi kapasitas pembawa oksigen dari beberapa sel darah merah yang bertahan hidup. Defisit yang sangat besar dalam kapasitas pembawa oksigen darah merangsang produksi eritropoietin (EPO) dalam upaya meningkatkan kompensasi hiperplasia eritroid. Sayangnya, kemampuan sumsum tulang untuk merespons sangat terganggu oleh eritropoiesis inefektif. Ekspansi sumsum tulang masif memang terjadi, tetapi sangat sedikit eritrosit yang benar-benar ke sirkulasi. Sumsum tulang menjadi penuh dengan prekursor eritroid yang belum matang dan precursor eritroid ini mati akibat beban rantai α -globin yang mengendap, sebelum mereka mencapai tahap retikulosit. Anemia berat yang terus terjadi, mendorong hiperplasia eritroid ke tingkat yang lebih tinggi. Dalam beberapa kasus, erythropoiesis terjadi sangat masif sehingga terbentuk massa jaringan eritropoietik ekstramedullary di dada, perut, atau panggul. (Hoffman *et al.*, 2018)

Ekspansi sumsum tulang masif memberikan banyak efek buruk pada pertumbuhan, perkembangan, dan fungsi sistem organ dan menciptakan karakteristik fasies yang disebabkan oleh hiperplasia maksila dan *frontal bossing*. Anemia hemolitik menyebabkan splenomegali masif dan gagal

jantung kongestif. Dalam kasus yang tidak diobati, kematian terjadi selama 2 dekade pertama kehidupan. Pengobatan dengan transfusi sel darah merah yang cukup untuk mempertahankan kadar Hb di atas 9,0-10,0 g / dL meningkatkan pengiriman oksigen, menekan eritropoiesis inefektif yang berlebihan, dan memperpanjang usia. Sayangnya komplikasi terapi transfusi jangka panjang, termasuk kelebihan zat besi, bisa berakibat fatal sebelum usia 30 tahun. Penambahan terapi kelasi besi untuk terapi transfusi reguler memperpanjang kelangsungan hidup dan meningkatkan kualitas hidup. (Hoffman *et al.*, 2018)



Gambar 6. Gambaran wajah pada anak thalassemia.

II.2.3 Manifestasi Klinis

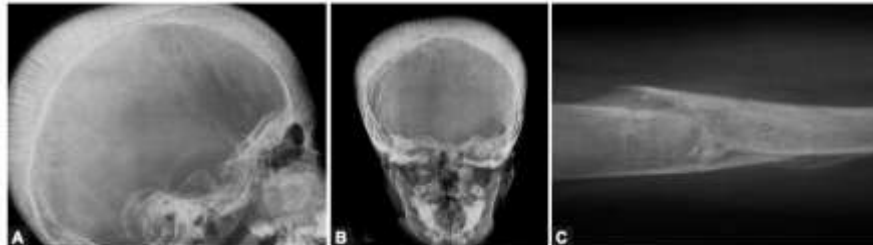
Bayi dengan thalassemia β -major dilahirkan tanpa anemia signifikan dikarenakan masih terdapat Hb-F prenatal. Namun demikian, kekurangan

sintesis rantai β dapat ditunjukkan saat lahir. Manifestasi klinis biasanya muncul selama 6 bulan kedua kehidupan sebagai konsekuensi dari sintesis β -globin yang terganggu pada produksi Hb. Diagnosis hampir selalu terlihat pada usia 2 tahun. (Hoffman *et al.*, 2018)

Perjalanan penyakit bergantung hampir sepenuhnya pada apakah anak mendapat transfusi yang memadai. Jika transfusi yang memadai dimungkinkan, anak dapat tumbuh dan berkembang secara normal dan tidak memiliki tanda-tanda fisik yang abnormal. Gejala klinis timbul akibat efek zat besi berlebih yang disebabkan oleh eritropoiesis inefektif dan dari transfusi darah berulang yang bermanifestasi pada akhir dekade pertama. Anak yang diobati dengan kelasi besi yang adekuat dapat berkembang secara normal, meskipun beberapa dari mereka tetap pendek. (Kaushansky *et al.*, 2016)

Anak yang ditransfusikan secara tidak adekuat menimbulkan gambaran khas anemia Cooley. Pertumbuhan biasanya terhambat, terdapat penonjolan pada tulang tengkorak dan pertumbuhan berlebihan pada daerah rahang atas, wajah secara bertahap menyerupai penampilan "mongoloid". Perubahan-perubahan ini dapat dilihat pada penampilan radiologis yang khas pada tengkorak, tulang panjang, dan tangan. Diploe melebar, dengan penampilan "*hair on end*" atau "*sun ray*" dan trabekulasi berenda tulang panjang dan tangan. Kerusakan tulang secara menyeluruh dapat terjadi. Hati dan limpa membesar, dan pigmen kulit meningkat.

Banyak fitur dari keadaan hipermetabolik, contohnya demam, wasting, dan hiperurisemia, dapat terjadi. (Kaushansky *et al.*, 2016)



Gambar 7. Gambaran *hair on end* pada foto tulang tengkorak (A dan B); gambaran pelebaran medulla, penipisan korteks dan trabekulasi dan fraktur tulang panjang

Perjalanan klinis sering ditandai dengan anemia berat dengan komplikasi. Anak dengan thalassemia sangat rentan terhadap infeksi, yang merupakan penyebab umum kematian. Fraktur spontan terjadi secara umum sebagai akibat dari ekspansi rongga sumsum tulang dengan penipisan tulang panjang dan tengkorak. Kelainan bentuk maksila sering menyebabkan masalah gigi akibat maloklusi. Pembentukan endapan masif dari jaringan hematopoietik ekstramedular dapat menyebabkan komplikasi neurologis. Pada splenomegali yang masif, trombositopenia sekunder dan leukopenia sering terjadi, yang menyebabkan kecenderungan infeksi dan perdarahan. Splenektomi sering dilakukan untuk mengurangi frekuensi transfusi dan trombositopenia berat; Namun, infeksi pasca splenektomi sangat umum terjadi. Kecenderungan perdarahan dapat pula terjadi dengan adanya trombositopenia. Epistaksis juga merupakan hal yang sangat umum. Masalah hemostasis terkait dengan fungsi hati yang buruk terjadi dalam beberapa kasus. (Kaushansky *et al.*, 2016).

Anak-anak yang telah tumbuh dan berkembang secara normal selama 10 tahun pertama kehidupan mulai memperlihatkan gejala-gejala pemuatan zat besi ketika mereka memasuki masa pubertas akibat dari transfusi darah yang rutin dilakukan, terutama jika mereka belum mendapatkan kelasi besi yang memadai. Indikasi pertama dari pemuatan zat besi biasanya adalah tidak adanya percepatan pertumbuhan pubertas dan kegagalan menarke. Transfusi darah berulang dapat menyebabkan kelebihan zat besi di dalam tubuh yang menimbulkan hemosiderosis. Hemosiderosis merupakan penyebab beberapa masalah endokrin di dalam tubuh seperti hipogonadisme, diabetes melitus, dan hipoparatiroidisme. (Fahim *et al.*, 2013) Pasien thalassemia umumnya memiliki tubuh yang pendek, nyeri tulang, osteoporosis, dan risiko yang lebih tinggi untuk mengalami fraktur. Hal-hal ini berhubungan dengan adanya defisiensi vitamin D pada thalassemia. (Singh *et al.*, 2012) Hipotiroidisme dan insufisiensi adrenal lebih jarang terjadi. Menjelang akhir dekade kedua, komplikasi jantung muncul, dan kematian biasanya terjadi pada dekade kedua atau ketiga sebagai akibat dari siderosis jantung. Siderosis jantung dapat menyebabkan kematian yang diakibatkan oleh aritmia, atau gagal jantung yang tidak dapat diatasi. Kedua komplikasi ini dapat diperberat oleh infeksi. (Kaushansky *et al.*, 2016)

Pasien yang tidak diterapi akan meninggal pada akhir masa bayi atau pada awal periode anak sebagai akibat dari anemia berat. Pada penelitian retrospektif di Italia, kelangsungan hidup rata-rata anak dengan

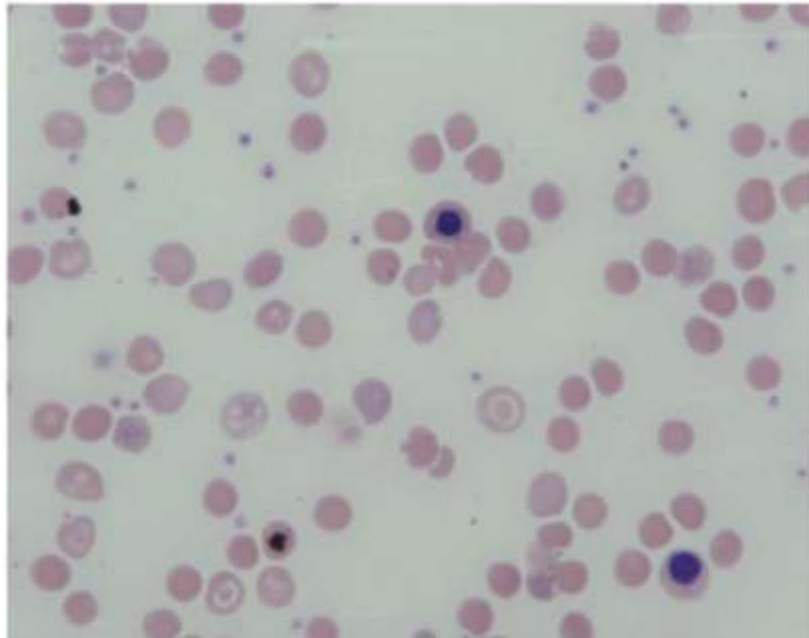
thalassemia mayor yang tidak diobati adalah kurang dari 4 tahun; sekitar 80% meninggal dalam 5 tahun pertama kehidupan. Pasien yang menerima transfusi secara sporadis mungkin hidup agak lebih lama daripada pasien yang tidak ditransfusi, tetapi kualitas hidup mereka sangat buruk sebagai akibat dari anemia kronis dan eritropoiesis inefektif. Setelah 10 sampai 20 tahun mengalami kelemahan, pertumbuhan yang terhambat, dan aktivitas yang terganggu, pasien yang tidak ditransfusi secara adekuat biasanya meninggal karena gagal jantung kongestif. (Hoffman *et al.*, 2018)

Kumpulan gejala ini, yang begitu lazim di masa lalu, jarang terjadi di Amerika Utara dan sebagian besar negara maju. Meskipun demikian, manifestasi klinis dan komplikasi dari thalassemia β -mayor yang tidak diobati atau diobati secara tidak adekuat menggambarkan prinsip-prinsip patofisiologi. Lebih jauh, deskripsi ini secara akurat menggambarkan penyakit yang masih lazim ditemukan di banyak negara di dunia. (Hoffman *et al.*, 2018)

II.2.4 Laboratorium

Anemia pada thalassemia mayor ditandai oleh hipokromia berat dan mikrositosis. Kadar Hb menurun secara progresif selama bulan-bulan pertama kehidupan. Ketika anak menjadi simptomatik, kadar Hb mungkin serendah 3-4 g / dL. Morfologi sel darah merah sangat tidak normal, dengan banyak mikrositik, poikilositosis, *tear drop cell*, dan sel target. Temuan karakteristik adalah adanya sel hipokromik yang luar biasa, sering sel

berkerut dan terlipat (leptosit) yang mengandung badan inklusi tidak teratur dari rantai α -globin yang mengendap. (Hoffman *et al.*, 2018)



Gambar 8. Gambaran morfologi dari hapusan darah tepi pasien beta thalassemia

Sel darah merah berinti sering hadir dalam sirkulasi perifer. Jumlah retikulosit adalah 2% hingga 8% lebih rendah dari yang diharapkan mengingat hiperplasia eritroid ekstrem dan hemolisis. Jumlah yang rendah mencerminkan keparahan dari kerusakan eritroblast intrameduler. Jumlah sel darah putih meningkat. Leukositosis polimorfonuklear dalam jumlah sedang dan jumlah trombosit normal adalah khas kecuali jika telah terjadi hipersplenisme. Sumsum tulang menunjukkan hiperselularitas yang ditandai oleh hiperplasia eritroid. Prekursor sel darah merah menunjukkan hemoglobinisasi yang rusak dan pengurangan jumlah sitoplasma. (Hoffman *et al.*, 2018)

Terjadi kerentanan osmotik yang sangat abnormal. Sel darah merah sangat resisten terhadap hemolisis dalam larutan natrium klorida hipotonik sehingga beberapa tidak sepenuhnya hemolisis bahkan dalam air. Sebelum terapi transfusi dimulai, serum besi dan saturasi transferin sudah meningkat sebagai akibat dari peningkatan penyerapan zat besi. (Hoffman *et al.*, 2018)

Profil Hb menunjukkan Hb F yang dominan. Pada pasien dengan thalassemia β homozigot, tidak ada Hb A yang ditemukan sepanjang hidup. Hb A mungkin tidak terdeteksi pada bayi baru lahir dengan thalassemia β^+ dan berkurang jumlahnya di kemudian hari. Kadar Hb A₂ dalam thalassemia mayor bervariasi, mungkin dikarenakan peningkatan jumlah sel F yang menurunkan Hb A₂. Kelainan biokimia lainnya dari sel darah merah dalam kasus thalassemia mayor termasuk persistensi antigen I postnatal dan penurunan karbonik anhidrase sel darah merah; Temuan ini mungkin juga disebabkan oleh peningkatan kadar sel F yang beredar. (Hoffman *et al.*, 2018)

Pasien akan tampak ikterus; kadar bilirubin tak terkonjugasi ada dikisaran 2,0-4,0 mg / dL pada saat diagnosis tetapi dapat meningkat secara substansial karena anemia yang memburuk tanpa adanya transfusi. Kelangsungan hidup sel darah merah dalam kasus thalassemia mayor bervariasi tetapi biasanya sangat menurun. Waktu paruh kreatinin berkisar antara 6,5 dan 19,5 hari dibandingkan dengan waktu paruh normal 25-35 hari. Peningkatan *turn over* besi plasma dan penggunaan radiolabel yang buruk mengindikasikan eritropoiesis inefektif. Kadar SGOT serum sering

meningkat pada saat diagnosis karena hemolisis. Kadar SGPT biasanya normal sebelum terapi transfusi tetapi mungkin meningkat kemudian karena kerusakan hati akibat virus atau virus hepatitis. Tingkat dehidrogenase laktat secara nyata meningkat sebagai konsekuensi dari eritropoiesis inefektif. Haptoglobin dan hemopexin berkurang atau tidak ditemukan. (Hoffman *et al.*, 2018)

Kadar seng serum dapat ditemukan menurun. Hubungan antara temuan ini dan kegagalan pertumbuhan telah dipostulatkan tetapi tidak dapat dijelaskan secara pasti. Kadar asam askorbat plasma dan leukosit yang rendah sering terjadi pada pasien thalassemia karena meningkatnya metabolisme vitamin menjadi asam oksalat akibat adanya kelebihan zat besi. Tingkat serum α -tokoferol sering berkurang sampai kurang dari 0,5 mg / dL. (Hoffman *et al.*, 2018)

Abnormalitas koagulasi konsisten dengan penyakit hati (yaitu penurunan kadar faktor II, V, VII, IX, dan X) dapat terjadi pada pasien yang lebih tua dengan hepatitis atau cedera hati akibat zat besi. Hanya jarang sekali ditemukan kelainan yang cukup bermakna yang memerlukan terapi khusus. Namun, kombinasi trombositopenia ringan dari hipersplenisme dan faktor koagulasi yang rendah dan disfungsi trombosit akibat penyakit hati dapat menyebabkan atau memperburuk perdarahan. (Hoffman *et al.*, 2018)

II.2.5 Terapi

Munculnya terapi modern memiliki dampak besar pada tampilan klinis dan laboratorium pasien dengan thalassemia mayor. Terapi transfusi dan kelasi besi telah memperbaiki banyak manifestasi penyakit yang mencolok. Transplantasi sumsum tulang telah memungkinkan untuk penyembuhan pada beberapa pasien. Namun, terapi ini telah menciptakan komplikasi tersendiri. (Hoffman *et al.*, 2018)

Terapi transfusi untuk thalassemia dulunya diberikan sebagai tindakan paliatif ketika pasien menjadi simtomatik. Regimen transfusi periodik ini tidak memuaskan bahkan untuk tujuan terbatas; gejala anemia, kosmetik dan konsekuensi lain dari pertumbuhan berlebih jaringan eritropoietik menjadikan kualitas hidup menurun. Akibatnya, beberapa pusat kesehatan memulai program transfusi di mana pasien menerima transfusi reguler untuk menjaga kadar Hb mereka cukup tinggi untuk memperbaiki gejala-gejala ini, tetapi waktu kelangsungan hidup rata-rata pasien ditransfusikan untuk mempertahankan kadar Hb 7-8 g / dL di Amerika Serikat pada 1960-an berusia 17 tahun. Dalam aplikasi terapi transfusi yang lebih modern, kadar Hb biasanya dipertahankan di atas 9-10,5 g/dL. (Hoffman *et al.*, 2018)

Manfaat klinis dari program hipertransfusi sangat dramatis. Pertumbuhan anak dapat mengikuti persentil normal untuk tinggi dan berat badan. Eritropoiesis ditekan secara signifikan sebagaimana dibuktikan dengan penurunan jumlah retikulosit dan normoblas dan kadar TfR1.

Hipertransfusi mengurangi atau mencegah pembesaran hati dan limpa. Fasies abnormal dan fraktur tulang lebih jarang terjadi. Kualitas hidup secara keseluruhan meningkat yang memungkinkan aktivitas normal sesuai usia (Hoffman *et al.*, 2018)

Program transfusi yang lebih banyak (supertransfusi) yang bertujuan menjaga kadar Hb di atas 12,0 g / dL tidak lagi direkomendasikan. Pendekatan ini bertumpu pada asumsi bahwa manfaat supresi lebih lanjut dari eritropoiesis dan penyerapan zat besi gastrointestinal akan mengimbangi peningkatan kebutuhan sel darah merah. Namun, beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa kebutuhan transfusi meningkat ketika kadar Hb dinaikkan pada pasien splenektomi dan non splenektomi. Akibatnya, pemeliharaan kadar Hb yang konsisten di atas 11 atau 12 g / dL menghasilkan akumulasi besi yang berlebihan tanpa manfaat klinis yang proporsional, dan protokol supertransfusi sebaiknya digunakan untuk pasien dengan toleransi rendah kadar Hb yang lebih rendah yang dikarenakan penyakit jantung atau penyakit lainnya. (Hoffman *et al.*, 2018)

Alternatif pendekatan untuk terapi transfusi konvensional telah diusulkan untuk mengurangi laju pemuatan zat besi saat transfusi. Pendekatan-pendekatan ini umumnya mengandalkan konsep bahwa sel darah merah muda akan bersirkulasi lebih lama pada penerima daripada sel darah merah yang lebih tua. Eksperimen pra-klinis berdasarkan perbedaan kepadatan antara sel darah merah yang lebih muda dan yang lebih tua menetapkan validitas pendekatan ini. Namun, dalam uji klinis

prospektif, kebutuhan darah berkurang hanya sebesar 13% sampai 15%. Keuntungan dalam pengurangan dalam pemuatan zat besi ini tidak melebihi kerugian dari transfusi sel darah merah muda yang termasuk peningkatan biaya, pemborosan 50% dari sel darah merah donor, dan peningkatan paparan donor. Penggunaan transfusi pertukaran otomatis telah diusulkan sebagai pendekatan lain untuk mengurangi pemuatan zat besi pada pasien dengan thalassemia. Dengan metode ini, sel darah merah dikeluarkan dari pasien pada saat yang sama sel darah merah donor baru ditransfusikan. Pendekatan ini telah berhasil diterapkan pada terapi transfusi untuk penyakit sel sabit. Namun, tujuan terapi transfusi pada penyakit sel sabit adalah penggantian sel darah merah yang mengandung Hb S dengan sel darah merah yang mengandung Hb-A. Sebaliknya, tujuan terapi transfusi pada pasien dengan thalassemia adalah untuk mempertahankan tingkat total Hb tertentu. Terlepas dari tujuan yang berbeda ini, penelitian tentang transfusi pertukaran otomatis pada pasien dengan thalassemia telah menunjukkan pengurangan kebutuhan sel darah merah 30% sampai 50%, baik dengan mengurangi jumlah darah yang diberikan pada interval transfusi atau dengan memperpanjang interval antara transfusi. Manfaat dari pendekatan ini mungkin disebabkan oleh penghapusan sel darah merah yang sebelumnya ditransfusikan dari pasien dan penggantian dengan sel darah merah yang lebih baru sehingga menurunkan usia keseluruhan dari populasi sel darah merah yang beredar. Uji klinis lebih

lanjut dari transfusi pertukaran otomatis pada thalassemia saat ini sedang berlangsung. (Hoffman *et al.*, 2018)

Keputusan untuk memulai terapi transfusi harus dipertimbangkan adalah kondisi klinis keseluruhan pasien serta kadar Hb. Pasien dengan anemia berat dan persisten (Hb <6-7 g / dL) biasanya juga mengalami gagal tumbuh, tingkat aktivitas menurun, dan iritabilitas. Untuk pasien ini, terapi transfusi harus dimulai setelah konfirmasi diagnosis thalassemia dan setelah menunjukkan bahwa faktor akut seperti penyakit yang menyebabkan demam atau kekurangan asam folat tidak mengacaukan penilaian keparahan anemia. Untuk pasien dengan kadar Hb yang lebih tinggi, keputusan untuk memulai transfusi tergantung pada penilaian yang cermat atas temuan klinis anak. Sebagai contoh, beberapa anak dengan thalassemia memiliki kelainan bentuk tulang wajah yang dini dan jelas yang disebabkan oleh ekspansi sumsum tulang meskipun kadar Hb 8 g / dL atau lebih tinggi. Untuk anak-anak seperti itu, manfaat terapi transfusi mungkin lebih besar daripada risikonya. Sebaliknya, beberapa pasien dengan thalassemia memiliki sedikit atau tidak ada kesulitan klinis meskipun kadar Hb persisten 7-8 g / dL, dan manfaat terapi transfusi mungkin kecil. Penentuan genotipe dapat memberikan beberapa petunjuk dengan membedakan pasien dengan cacat yang lebih berat dalam produksi β -globin dari mereka yang memiliki cacat lebih ringan, tetapi tumpang tindih antara genotipe dan fenotipe pada thalassemia masih memerlukan penilaian klinis. (Hoffman *et al.*, 2018)

Setiap unit kantong sel darah merah mengandung sekitar 200–250 mg zat besi. Berdasarkan kebutuhan darah pada pasien dengan thalassemia mayor, tingkat akumulasi zat besi transfusional adalah sekitar 0,30-0,60 mg / kg / hari. Eritropoiesis inefektif masif yang terkait dengan intermedia dan thalassemia mayor menyebabkan penyerapan zat besi yang berlebihan yang menambah beban zat besi transfusional, meskipun penyerapan berkurang ketika tingkat Hb di atas 9 g / dL dipertahankan. Manusia tidak memiliki mekanisme fisiologis untuk menginduksi ekskresi zat besi secara signifikan. Plebotomi, metode yang paling efisien untuk menghilangkan zat besi dalam situasi lain, dihindari pada pasien dengan anemia berat pada thalassemia. (Hoffman *et al.*, 2018)

Pendekatan farmakologis menggunakan agen kelasi besi spesifik tetap menjadi satu-satunya strategi untuk menghilangkan kelebihan zat besi pada pasien yang bergantung transfusi. Beberapa obat dengan sifat kelasi telah disintesis atau dibentuk dari mikroorganisme. Untuk mengkelasi besi, agen kelasi harus berikatan dengan enam situs koordinasi atom besi yang tersedia. Tiga kelas kelasi besi umum yang telah disintesis: hexadentate (deferroxamine), bidentate (deferiprone), dan tridentate (deferasirox). Hanya diperlukan satu molekul heksadentate untuk mengikat satu atom besi, tiga molekul bidentate mengikat satu atom besi dan dua molekul tridentate diperlukan untuk mengikat satu atom besi. Besi yang dapat dikelasi diduga berasal dari "kolam besi labil" intraseluler dan dari besi plasma yang tidak terikat transferin. (Hoffman *et al.*, 2018)

II.2.6 Prognosis

Prognosis untuk pasien dengan bentuk thalassemia β yang parah yang mendapat terapi dengan baik melalui transfusi dan kelasi telah meningkat secara dramatis selama bertahun-tahun. Tiga penelitian besar menyelidiki pengaruh penggunaan deferoxamine jangka panjang terhadap perkembangan penyakit jantung. Dalam satu penelitian, pasien yang mempertahankan pengurangan zat besi secara terus-menerus, seperti yang diperkirakan oleh kadar feritin serum kurang dari 2500 mcg / L selama 12 tahun, memiliki tingkat kelangsungan hidup bebas penyakit jantung diperkirakan sebesar 91 persen. Temuan ini berbeda dengan pasien yang memiliki kadar feritin serum melebihi nilai ini, di mana tingkat kelangsungan hidup bebas penyakit jantung diperkirakan kurang dari 20 persen. Dalam studi kedua, hubungan antara ketahanan hidup dan beban besi total-tubuh diukur secara langsung menggunakan nilai besi penyimpanan hati. Pasien yang mempertahankan konsentrasi besi hati setidaknya 15 mg zat besi per gram hati, memiliki peluang 32 persen untuk bertahan hidup hingga usia 25 tahun. Tidak ada penyakit jantung yang berkembang pada pasien yang mempertahankan kadar besi hati di bawah ambang batas ini. Ini dan penelitian lain memberikan bukti nyata bahwa transfusi dan kelasi yang memadai berhubungan dengan umur panjang dan kualitas hidup yang baik. Di sisi lain, kepatuhan yang buruk atau tidak tersedianya agen kelasi masih terkait dengan prospek kelangsungan hidup yang buruk jauh melebihi dekade kedua. (Hoffman *et al.*, 2018)

II.3 Thalassemia Beta HBE

II.3.1 Definisi

Hemoglobin E adalah varian Hb karena adanya satu mutasi titik pada rantai β . Pada posisi 26 terdapat perubahan asam amino dari asam glutamik menjadi lisin. Mutasi pada gen β mengganggu ekspresi gen dengan menghasilkan lokasi pemotongan yang berbeda dari biasanya pada mRNA kodon 25-27 di gen globin β . Mutasi ini menyebabkan defisiensi ringan dari produksi β mRNA normal disertai pembentukan β mRNA abnormal. Berkurangnya produksi rantai globin β dapat bermanifestasi menjadi thalassemia β . (Windiastuti *et al.*, 2018)

HbE (β 26Glu \rightarrow Lys) adalah Hb abnormal yang paling sering ditemukan di Asia Tenggara; di beberapa daerah (di perbatasan antara Thailand, Laos, dan Kamboja, yang disebut segitiga HbE) frekuensi gen yang dilaporkan dapat mencapai setinggi 0,50. Frekuensi tinggi ini diperkirakan berasal dari efek perlindungan terhadap malaria. HbE juga ditemukan di daerah endemis malaria lainnya seperti Bangladesh, India, dan Madagaskar. HbE sekarang memiliki distribusi yang luas sebagai akibat dari perpindahan penduduk yang besar dari Asia Tenggara dan Selatan ke Eropa Barat dan Amerika Utara, dan sekarang mungkin merupakan varian Hb yang paling umum di seluruh dunia. (Kaushansky *et al.*, 2016)

II.3.2 Etiologi dan Pathogenesis

Mutasi GAG → AAG dalam kodon 26 dari gen β-globin tidak hanya mengarah pada mutasi *missense* (Glu → Lys) pada posisi ini, tetapi juga mengaktifkan situs sambungan donor yang terpotong di batas ekson 1 dan intron 1 dengan meningkatkan kemiripan urutan situs ini dengan urutan konsensus yang terpotong. Penyambungan menyimpang yang dihasilkan melalui situs alternatif ini mengarah pada penurunan RNA messenger yang disambung dengan benar dan sebagai akibat dari fenotipe thalassemia β+. Ini tercermin dalam fakta bahwa heterozigot untuk HbE memiliki 25 hingga 30 persen varian; bila terdapat bersamaan dengan α-thalassemia, jumlah ini menurun lebih jauh. Penurunan bersamaan antara HbE dengan sejumlah mutan globin lain (thalassemia α, thalassemia β, varian Hb lainnya), yang juga umum terjadi pada populasi di mana HbE lazim, menghasilkan spektrum hemoglobinopati yang luas dengan berbagai tingkat keparahan (Gangguan HbE atau sindrom HbE). Yang paling signifikan adalah thalassemia β-HbE. HbE juga telah dilaporkan dalam kombinasi dengan HbS (penyakit HbSE). (Kaushansky *et al.*, 2016)

II.3.3 Gejala Klinis

Individu dengan HbE homozigot biasanya tidak menunjukkan gejala. Sebagian besar pasien tidak memiliki hepatosplenomegali atau ikterus. Mereka biasanya terdiagnosis selama program skrining atau studi keluarga dari individu dengan gangguan HbE berat, atau pada evaluasi rutin

gambaran darah tepi pada pasien dengan mikrositosis yang signifikan tanpa anemia. Thalassemia β -HbE adalah kelompok gangguan yang bervariasi dari fenotip thalassemia intermedia sampai thalassemia mayor yang dependen transfusi. Heterogenitas ini dihasilkan dari jenis mutasi β -thalassemia yang terjadi bersamaan. Pasien dengan heterozigot HbE dan salah satu mutasi thalassemia β^+ ringan (seperti mutasi promotor ringan, -28A \rightarrow G) memiliki anemia ringan hingga sedang, sedangkan pasien dengan heterozigositas HbE dan Mutasi thalassemia β^+ yang lebih berat (seperti mutasi IVS I nucleotide 5 atau IVS II nukleotida 654) memiliki fenotipe yang lebih berat dengan anemia berat dan dependen transfusi. Ada juga heterogenitas besar antara pasien dengan thalassemia β^0 -HbE; pasien-pasien ini tidak menghasilkan HbA dan hanya memiliki HbE dan jumlah HbF yang bervariasi. Faktor-faktor yang diketahui mempengaruhi fenotipe termasuk kemampuan untuk menghasilkan HbF dan adanya thalassemia α . Individu yang memiliki kecenderungan untuk mensintesis sejumlah besar HbF (seperti mereka yang memiliki mutasi Xmn I C \rightarrow T dalam promotor γ -globin) mampu memperbaiki ketidakseimbangan rantai globin dan dengan demikian memiliki fenotipe yang lebih ringan. Thalassemia α yang terjadi bersamaan juga mengurangi beratnya penyakit dengan mengurangi ketidakseimbangan rantai globin. Pasien dengan thalassemia β -HbE yang berat memiliki gambaran klinis yang sangat mirip dengan thalassemia- β mayor; dengan komplikasi seperti hipersplenisme, kelebihan zat besi, peningkatan kerentanan terhadap infeksi, komplikasi

tromboemboli, dan gagal jantung, dan memiliki harapan hidup yang lebih pendek. Pasien thalassemia β -HbE yang telah dilakukan splenektomi memiliki hemolisis intravaskular yang lebih jelas, penanda aktivasi sel endotelia, dan aktivasi koagulasi dengan peningkatan kadar sel Hb bebas, sE-selektin, sP-selektin, *C-reactive protein* sensitivitas tinggi, dan kompleks trombin-antitrombin dibandingkan dengan pasien yang belum dilakukan splenektomi. (Kaushansky *et al.*, 2016)

II.3.4 Laboratorium

Individu dengan HbE-trait mengalami mikrositosis *borderline* (MCV sekitar 80-an) tetapi tidak anemia. Pada homozigot HbE biasanya hanya *borderline* atau anemia ringan (Hb 11 hingga 13 g / dL), tetapi bersifat mikrositik (MCV ~ 70 fL). Hapusan darah tepi menunjukkan sel target, hipokromia, dan mikrositosis. Kerapuhan osmotik sel-sel darah merah menurun. Elektroforesis Hb menunjukkan HbE lebih dari 90 persen dan HbF 5 hingga 10 persen. Teknik kromatografi tertentu yang dapat memisahkan HbE dari HbA₂ menunjukkan peningkatan kadar HbA₂. Pasien dengan bentuk thalassemia β^+ HbE ringan memiliki kadar Hb dalam kisaran 9,0 hingga 9,5 g/dL, sedangkan pasien dengan thalassemia β^+ HbE berat mengalami anemia lebih berat (Hb 6,5 hingga 8,0 g / dL). Individu dengan thalassemia β -HbE memiliki berbagai tingkat anemia, tergantung pada kemampuan mereka untuk menghasilkan HbF; pasien-pasien ini memiliki HbE dalam kisaran 40 hingga 60 persen, dan sisanya adalah HbF. Pasien

dengan nilai HbF yang lebih tinggi mengalami anemia lebih ringan. (Kaushansky *et al.*, 2016)

II.3.5 Terapi

HbE homozygotes tidak memerlukan terapi apa pun. Pasien dengan thalassemia β -HbE yang berat mirip dengan thalassemia intermedia atau mayor; sebagian besar pasien harus mendapatkan transfusi terus menerus dengan menargetkan kadar Hb sekitar 10 g / dL; kelasi besi harus menjadi bagian dari terapi standar. Splenektomi harus dipertimbangkan ketika hipersplenisme berkembang. Pasien dengan fenotip seperti thalassemia intermedia mungkin memerlukan transfusi sporadis. Hydroxyurea dapat meningkatkan kadar HbF dan mengurangi erythropoiesis yang tidak efektif pada thalassemia β -HbE. AHSCT (termasuk sel punca yang berasal dari darah tali pusat pada satu pasien) juga telah digunakan pada thalassemia β -HbE. (Kaushansky *et al.*, 2016)

II.3.6 Prognosis

Prognosisnya tergantung pada fenotip klinis. Pasien dengan fenotip yang lebih ringan cenderung baik. Pasien thalassemia β -HbE yang berat memerlukan transfusi sel darah merah kronis dan terapi kelasi besi; ini menempatkan beban besar pada ekonomi negara-negara di mana penyakit ini sering terjadi. AHSCT, meskipun berpotensi menyembuhkan, tidak akan tersedia untuk sebagian besar pasien ini. Diagnosis prenatal dan skrining

neonatal harus menjadi bagian penting dari strategi untuk mengurangi beban penyakit. Penggunaan jangka panjang dari hidroksiurea dan agen penginduksi HbF baru lainnya sebagai pemodifikasi penyakit (inhibitor *histone deacetylase* dan inhibitor *DNA methyltransferase-1*) dapat menjadi tambahan penting untuk terapi. (Kaushansky *et al.*, 2016)

II.4. Transfusi Berulang

Transfusi darah sangat bermanfaat untuk manajemen beberapa jenis anemia maupun untuk resusitasi pasca pendarahan akut. Penderita thalassemia pada umumnya menerima transfusi setiap dua sampai empat minggu sekali. Tujuan transfusi pada pasien thalassemia adalah menjaga kadar Hb agar tetap stabil untuk meredam reaktivitas berlebih dari sumsum tulang. Anak dengan thalassemia yang menerima transfusi secara rutin memiliki kadar Hb yang lebih tinggi, memiliki laju pertumbuhan yang lebih normal, dan kesehatannya lebih baik secara umum (Hutahaen F, Hendrianingtyas M, 2017).

Transfusi darah memiliki beberapa risiko seperti *transfusion-transmitted disease*, alloimunisasi, reaksi febril, dan *iron overload* yang dapat menyebabkan kematian. Zat besi merupakan kofaktor esensial untuk aktivitas biologis dan reaksi biokimiawi, termasuk transpor oksigen melalui sel darah merah. Biasanya bioavailabilitas zat besi terbatas, namun akumulasi patologis di jaringan akibat transfusi berulang (*iron overload*) dapat memicu produksi *reactive oxygen species* (ROS) dan menimbulkan efek toksik. Penelitian Najafipour *et al* menyatakan bawa *iron overload*

merupakan masalah yang paling sering dihadapi pasien thalassemia yang rutin menerima transfusi. Transfusi darah tetap menjadi terapi utama untuk pasien thalassemia karena manfaatnya lebih besar daripada risikonya (Hutahaen F, Hendrianingtyas M, 2017).

Pemberian transfusi harus memperhatikan hal-hal sebagai berikut:

a. Saat transfusi diberikan.

Sebaiknya pemberian sel darah merah (transfusi) dimulai bila kadar hemoglobin penderita telah turun mencapai 7 gr/dl dan dipertahankan pada kadar normalnya sekitar 14 gr/dl (*high transfusion scheme*). Ada pula kelompok sarjana yang baru memberikan transfusi darah pada kadar hemoglobin 6 gr/dl dengan mempertahankan kadar hemoglobin sekitar 10 gr/dl (*low transfusion scheme*) (Priyantiningtyas R, 2010).

b. Jumlah darah yang diberikan.

Jumlah darah yang diberikan tergantung pada kadar hemoglobin pada saat akan ditransfusi dan skema yang akan dipergunakan. Umumnya kadar hemoglobin penderita turun sekitar 1 gr/dl tiap minggu atau 4 gr/dl tiap 4 minggu. Untuk menaikkan kadar hemoglobin sebesar 1 gr/dl diperlukan 3 ml packed red cells atau 5 ml darah donor tiap kg berat badan. Jadi untuk menaikkan kadar hemoglobin sebesar 4 gr/dl akan diperlukan 12 ml packed red cells atau 20 ml darah donor kg berat badan (Priyantiningtyas R, 2010).

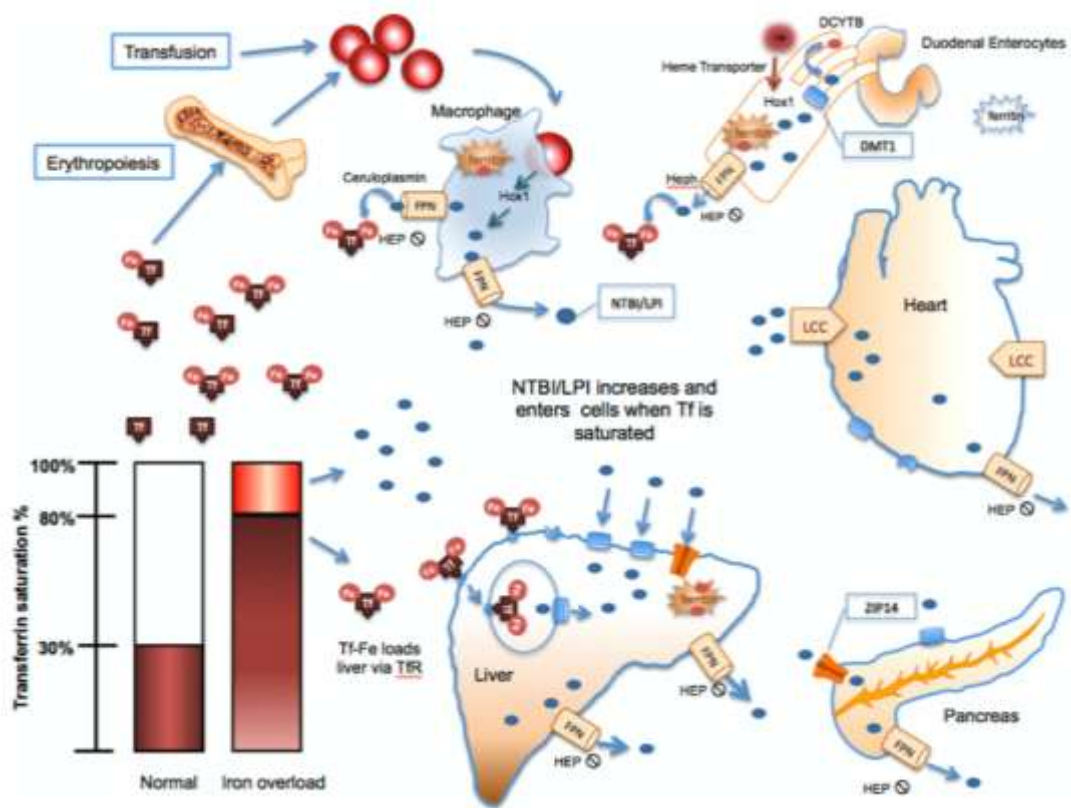
Tindakan transfusi yang dilakukan secara rutin selama hidup selain untuk mempertahankan hidup juga dapat membahayakan nyawa penderita karena berisiko terinfeksi bakteri dan virus yang berasal dari darah donor seperti infeksi bakteri *Yersinia enterocolitica*, virus hepatitis C, hepatitis B dan HIV (Nuari A, 2016).

II.5. *Overload* Besi pada *Thalassemia*

Kelebihan zat besi terjadi ketika asupan zat besi meningkat selama periode waktu tertentu, sebagai hasil dari transfusi sel darah merah atau peningkatan penyerapan zat besi melalui saluran gastrointestinal. Kedua hal ini terjadi pada *thalassemia*, dengan terapi transfusi darah sebagai penyebab utama kelebihan zat besi di *thalassemia* mayor dan peningkatan penyerapan gastrointestinal pada *thalassemia* dependen non-transfusi (NTDT). Ketika pasien *thalassemia* mayor menerima transfusi darah secara teratur, kelebihan zat besi tidak dapat dihindari karena tubuh manusia tidak memiliki mekanisme untuk mengeluarkan kelebihan zat besi. Selain kedua penyebab diatas, kelebihan zat besi yang biasa diamati pada β -*thalassemia* intermedia dan mayor dapat berasal dari penekanan hormon pengatur zat besi hepsidin oleh faktor-faktor eritroid yang disekresikan oleh eritroblast yang berproliferasi secara masif akibat stimulasi eritropoietin. Akumulasi besi merupakan racun bagi banyak jaringan, menyebabkan gagal jantung, sirosis, kanker hati, retardasi pertumbuhan, dan berbagai kelainan endokrin (Cappellini MD; *et al.*, 2014; Kaushansky *et al.*, 2016).

Daur ulang zat besi dari heme adalah komponen utama homeostasis besi. Makrofag dalam sistem retikuloendotelial mendaur ulang besi dari sel darah merah tua melalui eritrofagositosis. Sekitar 90% dari sel-sel merah yang tua atau sel darah merah dari transfusi dieliminasi oleh mekanisme ini. Heme yang terinternalisasi didegradasi oleh heme oksigenase dan besi disimpan oleh ferritin atau dilepaskan ke dalam plasma melalui ferroportin (FPN) oleh makrofag, yang merupakan regulator utama kadar besi plasma. Efek dari pengaturan ini terlihat secara klinis dalam kasus inflamasi akut. Jika zat besi dilepaskan ke dalam plasma oleh makrofag terhambat, seperti pada respons terhadap demam, kadar zat besi plasma turun dalam beberapa jam karena kebutuhan yang berkelanjutan untuk membuat sel darah merah. (Coates, 2014)

Hemoglobin dan heme bebas terikat pada haptoglobin dan hemopexin, dan diambil oleh pengikatan yang dimediasi haptoglobin atau hemopexin pada reseptor *scavenger* CD163 pada makrofag retikuloendotelial. Heme oksigenase melepaskan zat besi dalam makrofag di mana kemudian disimpan oleh feritin dalam sitosol atau diangkut kembali ke plasma melalui FPN.(Coates, 2014)



Gambar 9. Homeostasis besi pada *overload* besi karena transfusi

Ketika sel darah merah difagositosis oleh makrofag retikuloendotelial, hemoglobin terdegradasi oleh heme oxygenase (Hox1) dan Fe dikeluarkan melalui ferroportin (FPN) dan terikat ke transferrin (Tf). Ketika Tf menjadi jenuh, besi tidak terikat transferin (NTBI) dan besi plasma labil (LPI) dapat masuk ke organ melalui transporter logam divalen (DMT1), ZIP14, dan saluran kalsium tipe-L (LCC). LPI dan NTBI sangat reaktif dan dapat menyebabkan kerusakan oksidan langsung. (Coates, 2014)

Sekitar 20-30% transferin biasanya terikat dengan zat besi. NTBI mengacu pada kelompok heterogen kompleks besi yang berpotensi toksik yang ditemukan dalam plasma, terutama kompleks Fe^{3+} -sitrat atau albumin.

NTBI dapat dideteksi dalam plasma segera setelah saturasi transferrin mencapai 35% dan meningkat secara signifikan ketika saturasi transferrin melebihi 70 hingga 80%. Saturasi transferrin dapat digunakan sebagai indikator untuk NTBI ketika nilainya di atas 35%. Namun, sebagian kecil dari NTBI, yang dikenal sebagai LPI, sangat terikat dengan protein, sangat aktif redoks, dan dianggap sebagai jenis utama yang menyebabkan kerusakan oksidatif yang dimediasi besi. Dalam kondisi normal, NTBI / LPI tidak boleh ditemukan dalam plasma. Namun, dengan adanya kelebihan zat besi, begitu transferrin menjadi jenuh, kadar NTBI / LPI naik secara signifikan, dan dapat dengan mudah memasuki banyak jenis sel, yang mengakibatkan peningkatan besi jaringan labil (LCI) yang sangat reaktif, menyebabkan kerusakan dan kegagalan organ.(Coates, 2014)

II.5.1 Laju Penambahan Besi

Penting untuk mendapatkan informasi yang akurat tentang laju penambahan zat besi dari terapi transfusi karena hal ini dapat membantu pemilihan terapi kelasi besi terbaik untuk setiap pasien. Satu unit darah yang diproses dari 420 mL darah donor mengandung sekitar 200 mg zat besi, atau 0,47 mg / mL seluruh darah donor. Untuk preparat sel darah merah dengan hematokrit variabel, zat besi per mg / mL darah diperkirakan $1,16 \times$ hematokrit produk darah yang ditransfusikan. Perkiraan kasar dapat dibuat berdasarkan asumsi bahwa 200 mg zat besi terkandung dalam setiap unit donor. Terapi transfusi darah yang teratur meningkatkan

simpanan zat besi hingga berkali-kali lipat dari normal kecuali jika diberikan terapi kelasi besi. Jika terapi kelasi besi tidak diberikan, Tabel 2.1 menunjukkan bagaimana zat besi akan menumpuk di tubuh setiap tahun, atau setiap hari.(Cappellini MD; *et al.*, 2014)

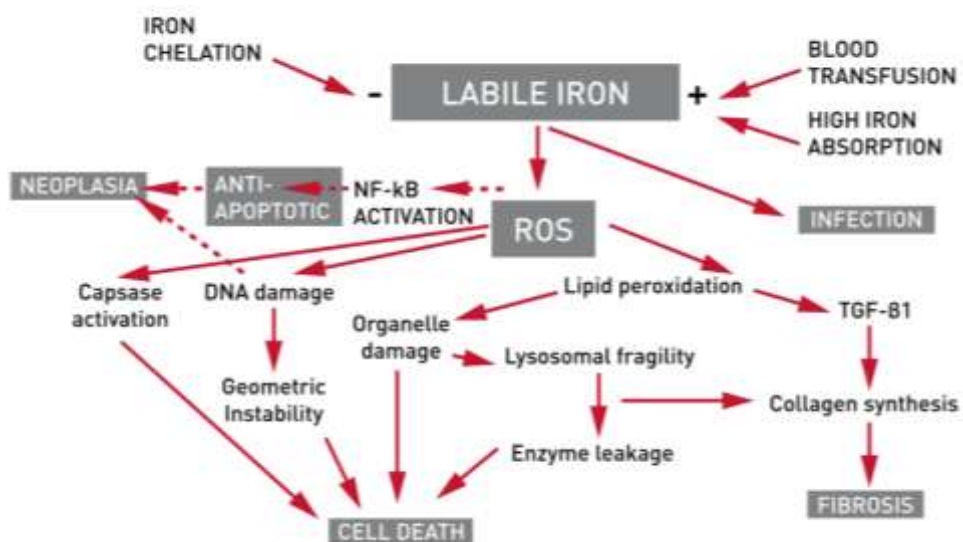
Tabel 1. Laju penambahan zat besi bila terapi kelasi besi tidak diberikan

PATIENTS WEIGHT	20 kg	35 kg	50 kg	65 kg
Pure red cells vol. ml/year	2,000-4,000	3,500-7,000	5,000-10,000	6,500-13,000
Yearly iron loading [g]	2.3-4.6	4.1-8.2	5.8-11.6	7.5-15.1
Daily Iron loading [mg]	6.3-12.6	11.2-22.5	15.9-31.8	20.5-41.4

Dalam thalassemia dependen transfusi (TDT), kontribusi zat besi yang diserap dari makanan kecil dibandingkan dengan transfusi darah. Penyerapan besi usus normal adalah sekitar 1-2 mg / hari. Pada pasien dengan thalasemia yang tidak menerima transfusi, penyerapan zat besi meningkat beberapa kali lipat. Diperkirakan bahwa penyerapan zat besi melebihi kehilangan zat besi ketika ekspansi prekursor sel darah merah di sumsum tulang melebihi lima kali lipat dari orang sehat. Regimen transfusi yang bertujuan menjaga hemoglobin pra-transfusi di atas 9 g / dl telah terbukti mencegah ekspansi semacam itu. Pada individu dengan regimen transfusi yang buruk, penyerapannya meningkat menjadi 3-5 mg / hari atau lebih, mewakili tambahan 1-2 g penambahan zat besi per tahun.(Cappellini MD; *et al.*, 2014)

II.5.2 Toksisitas Kelebihan Zat Besi

Besi sangat reaktif dan mudah berganti-ganti antara dua keadaan – Fe^{3+} dan Fe^{2+} - dalam proses yang menghasilkan penambahan dan pengurangan elektron, dan pembentukan radikal bebas yang berbahaya (atom atau molekul dengan elektron tidak berpasangan). Ini dapat merusak membran lipid, organel dan DNA, menyebabkan kematian sel dan pembentukan fibrosis. Zat besi diikat oleh molekul seperti transferrin, akan tetapi pada kelebihan zat besi, kapasitas mereka untuk mengikat zat besi terlampaui baik di dalam sel maupun di kompartemen plasma. 'Besi bebas' yang dihasilkan, baik di dalam sel atau di dalam plasma, merusak banyak jaringan dalam tubuh atau berakibat fatal kecuali diobati dengan terapi kelasi besi. Zat besi bebas juga meningkatkan risiko infeksi dan neoplasia. Ringkasan mekanisme untuk efek toksik dari kelebihan zat besi ditunjukkan pada Gambar 10 (Cappellini MD; *et al.*, 2014).



Gambar 10. Mekanisme dan konsekuensi kelebihan zat besi

Pada kelebihan zat besi yang dihasilkan dari transfusi darah berulang atau peningkatan penyerapan besi jangka panjang, zat besi yang tidak terikat dengan molekul seperti transferrin, atau ferritin atau kelasi besi terapeutik, menghasilkan berbagai *reactive oxygen species* (ROS), terutama radikal hidroksil. Hal ini terjadi dalam sel-sel di mana besi plasma labil diambil dan diakumulasikan sebagai besi tersimpan (ferritin dan hemosiderin). ROS menghasilkan peroksidasi lipid, kerusakan organel, dan DNA serta mekanisme disregulasi yang terlibat dalam kematian sel apoptosis, yang meningkatkan resiko neoplasma seperti hepatoma. Zat besi labil juga menjadi lebih tersedia untuk mikroorganisme yang terikat dengan zat besi transferin atau feritin, sehingga meningkatkan resiko infeksi. (Cappellini MD; *et al.*, 2014)

Dalam kondisi tidak adanya kelebihan zat besi, pengambilan zat besi ke dalam sel dikendalikan oleh interaksi transferin dengan reseptornya - terutama pada prekursor sel darah merah, hepatosit dan *dividing cell*. Pada kelebihan zat besi, transferrin menjadi jenuh dan besi yang tidak terikat transferrin terbentuk dalam plasma (plasma besi non transferrin terikat, atau NTBI). Distribusi serapan NTBI pada dasarnya berbeda dari serapan transferrin, dan diduga melibatkan saluran kalsium. Kerusakan organ pada kelebihan zat besi akibat transfusi mencerminkan pola penyerapan besi jaringan dari NTBI. Beberapa jaringan terhindar dari pemuatan besi melalui mekanisme ini (seperti otot rangka), sementara otot lainnya seperti miokard, jaringan endokrin dan hepatosit mengambil NTBI dengan cepat. Zat besi ini

kemudian disimpan sebagai ferritin atau hemosiderin yang dapat dilihat oleh MRI. Kelebihan zat besi miokardium menyebabkan kardiomiopati yang menginduksi gagal jantung pada pasien tanpa kelasi pada awal dekade kedua kehidupan. Kelebihan zat besi juga menyebabkan kerusakan hipofisis, menyebabkan hipogonadisme, retardasi pertumbuhan, dan pubertas yang tertunda. Komplikasi endokrin, yaitu diabetes, hipotiroidisme dan hipoparatiroidisme juga terlihat. Penyakit hati dengan fibrosis dan akhirnya sirosis dan karsinoma hepatoseluler, terutama jika terjadi hepatitis kronis, juga merupakan komplikasi serius.(Cappellini MD; *et al.*, 2014)

II.6. Malondialdehyde

II.6.1. Radikal Bebas

ROS berkontribusi pada inisiasi, promosi, dan perkembangan kanker melalui efeknya pada siklus sel, ekspresi gen, kerusakan DNA, apoptosis, angiogenesis, dan metastasis. Ini mungkin termasuk modulasi ekspresi integrin, degradasi matriks ekstraseluler yang melibatkan matriks metalloproteinase, mempromosikan angiogenesis (dengan meningkatkan faktor pertumbuhan endotel vaskular, VEGF) menghasilkan invasif dan metastasis. Banyak sel ganas berada dalam keadaan prooksidan yang menghasilkan lebih banyak spesies reaktif daripada aktivitas pertahanan dan perbaikan antioksidan tubuh. (Deepal dkk, 2009)

A. Siklus sel normal

Siklus sel adalah fungsi sel yang paling mendasar berupa duplikasi akurat sejumlah besar DNA di dalam kromosom, dan kemudian memisahkan hasil duplikasi tersebut hingga terjadi dua sel baru yang identik. Siklus sel yang berlangsung kontinyu dan berulang (siklik), disebut proliferasi. Keberhasilan sebuah proliferasi membutuhkan transisi unidireksional dan teratur dari satu fase siklus menuju fase berikutnya. Jenjang reaksi kimia organik yang terjadi seharusnya diselesaikan sebelum jenjang berikutnya dimulai. Sebagai contoh, dimulainya fase mitosis sebelum selesainya tahap replikasi DNA akan menyebabkan sel tereliminasi. Jenjang reaksi yang terjadi pada siklus sel, sangat mirip dengan hubungan substrat-produk dari sebuah lintasan metabolik. Produk dari sebuah jenjang reaksi akan berfungsi sebagai substrat pada jenjang berikutnya, demikian pula dengan laju reaksi jenjang yang pertama akan menjadi batas maksimal laju reaksi pada jenjang berikutnya. Transisi antara jenjang reaksi ditentukan oleh lintasan pengendali ekstrinsik dan instrinsik yang terdiri dari beberapa cek poin sebagai konfirmasi selesainya reaksi pada suatu jenjang sebelum jenjang berikutnya dimulai. Kedua lintasan kendali dapat memiliki cek poin yang sama. Lintasan kendali instrinsik akan menentukan setiap tahap berjalan sebagaimana mestinya. Fase S, G₂ dan M pada sel mamalia dikendalikan oleh lintasan ini, sehingga waktu yang diperlukan untuk fase tersebut tidak jauh bervariasi antara satu sel

dengan sel lainnya. Lintasan kendali ekstrinsik akan berfungsi sebagai respon terhadap kondisi di luar sel. Defisiensi lintasan kendali instrinsik seringkali menyebabkan keganasan. Penyimpangan pada protein yang mengendalikan cek poin siklus sel fase sering juga ditemukan pada penderita keganasan (Istindiah HN. dan El A, 2001).

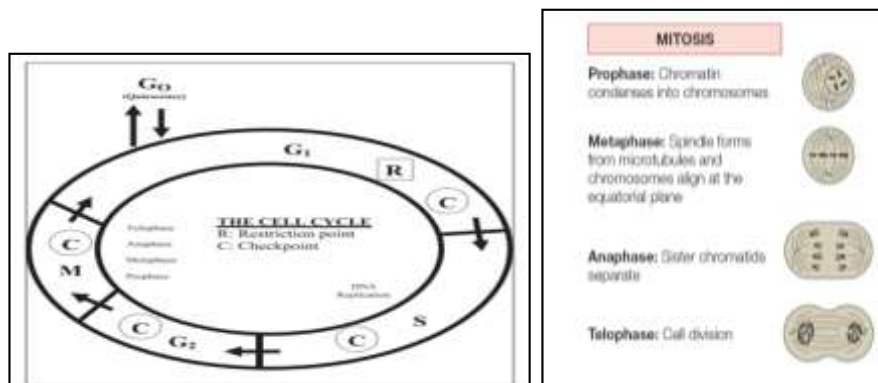
B. Fase siklus sel

Siklus sel terbagi menjadi dua yaitu fase fungsional, fase S dan M, dan fase persiapan, G1 dan G2 (Istindiah HN. dan El A, 2001).

1. Fase S (sintesis). Merupakan tahap terjadinya replikasi DNA. Pada umumnya, sel tubuh manusia membutuhkan waktu sekitar 8 jam untuk menyelesaikan tahap ini. Hasil replikasi kromosom yang telah utuh, segera dipilah bersama dengan dua nuklei masing-masing guna proses mitosis pada fase M.
2. Fase M (mitosis). Interval waktu fase M kurang lebih 1 jam. Tahap di mana terjadi pembelahan sel. Pada mitosis, sel membelah dirinya membentuk dua sel anak yang terpisah. Dalam fase M terjadi beberapa jenjang fase, yaitu profase, prometafase, metafase, anafase, telofase dan sitokinesis.
3. Fase G (*gap*). Fase G yang terdiri dari G1 dan G2 adalah fase sintesis zat yang diperlukan pada fase berikutnya. Pada sel mamalia, interval fase G2 sekitar 2 jam, sedangkan interval fase G sangat bervariasi antara 6 jam hingga beberapa hari. Sel yang berada pada fase G1 terlalu lama, dikatakan berada pada fase G0 atau *quiescent*.

Pada fase ini, sel tetap menjalankan fungsi metabolisnya dengan aktif, tetapi tidak lagi melakukan proliferasi secara aktif. Sebuah sel yang berada pada fase G₀ dapat memasuki siklus sel kembali, atau tetap pada fase tersebut hingga terjadi apoptosis. Pada umumnya, sel pada orang dewasa berada pada fase G₀. Sel tersebut dapat masuk kembali ke fase G oleh stimulasi antara lain berupa perubahan kepadatan sel, mitogen atau faktor pertumbuhan dan asupan nutrisi.

4. Interfase. Merupakan sebuah jeda panjang antara satu mitosis dengan yang lain. Jeda tersebut termasuk fase G₁, S, G₂.



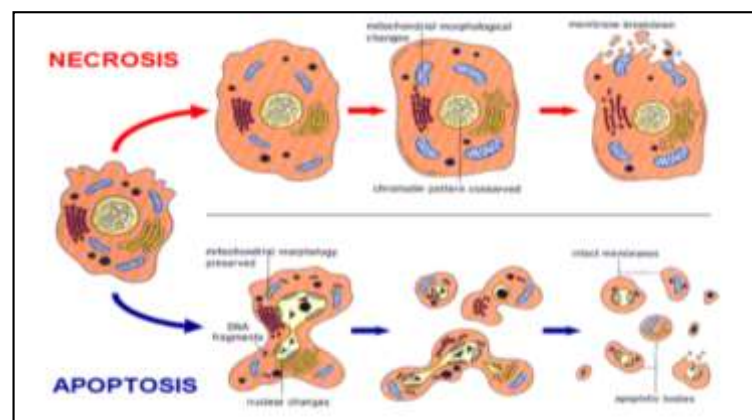
Gambar 11. Siklus sel

C. Pertumbuhan tumor dipengaruhi oleh beberapa hal sebagai berikut :

- Waktu penggandaan: waktu siklus sel, dimana jenisnya bervariasi tergantung dari jenis jaringan.
- Fraksi pertumbuhan: persentase sel yang melalui siklus sel pada titik waktu tertentu.

Cell loss: yang dapat berasal dari gagalnya siklus sel, kematian, deskuamasi, metastasis dan migrasi. Terdapat dua jenis kematian sel

yaitu apoptosis dan nekrosis. Apoptosis adalah mekanisme kematian sel yang terprogram yang penting dalam berbagai proses biologi. Berbeda dengan nekrosis, yang merupakan bentuk kematian sel sebagai akibat sel yang terluka akut, apoptosis terjadi dalam proses yang diatur sedemikian rupa yang secara umum memberi keuntungan selama siklus kehidupan suatu organisme.



Gambar 12. Nekrosis dan Apoptosis

Apoptosis memiliki peranan penting dalam fenomena biologis, proses apoptosis yang tidak sempurna dapat menyebabkan timbulnya penyakit yang sangat bervariasi. Terlalu banyak apoptosis menyebabkan sel mengalami kekacauan, sebagaimana terlalu sedikit apoptosis juga menyebabkan proliferasi sel yang tidak terkontrol (kanker). Kanker, sel yang kehilangan kemampuannya untuk melaksanakan apoptosis sehingga proliferasi sel meningkat (Corvianindya Y dan Rudy J, 2003, Nurhayati S dan Yanti L, 2006).

Fungsi apoptosis

- a. Sel yang rusak atau terinfeksi. Apoptosis dapat terjadi secara langsung ketika sel yang rusak tidak bisa diperbaiki lagi atau terinfeksi oleh virus. Keputusan untuk melakukan apoptosis dapat berasal dari sel itu sendiri, dari jaringan di sekitarnya, atau dari sel yang merupakan bagian sistem imun. Jika kemampuan sel untuk berapoptosis rusak atau jika inisiasi apoptosis dihambat, sel yang rusak dapat terus membelah tanpa batas, berkembang menjadi kanker.
- b. Respon terhadap stress atau kerusakan DNA. Kondisi stress sebagaimana kerusakan DNA sel yang disebabkan senyawa toksik atau pemaparan sinar ultraviolet atau radiasi ionisasi (sinar gamma atau sinar X), dapat menginduksi sel untuk memulai proses apoptosis. Contohnya pada kerusakan genom dalam inti sel, adanya enzim PARP-1 memacu terjadinya apoptosis. Enzim ini memiliki peranan penting dalam menjaga integritas genom, tetapi aktivasinya secara berlebihan dapat menghabiskan ATP, sehingga dapat mengubah proses kematian sel menjadi nekrosis (kematian sel yang tidak terprogram).
- c. Homeostasis. Homeostasis adalah suatu keadaan keseimbangan dalam tubuh organisme yang dibutuhkan organisme hidup untuk menjaga keadaan internalnya dalam batas tertentu. Homeostasis tercapai saat tingkat mitosis (proliferasi) dalam jaringan seimbang

dengan kematian sel. Jika keseimbangan ini terganggu dapat terjadi sel membelah lebih cepat dari sel mati atau sel membelah lebih lambat dari sel mati.

Mekanisme apoptosis

Mekanisme apoptosis sangat kompleks dan rumit. Secara garis besarnya apoptosis dibagi menjadi 4 tahap, yaitu :

1. Adanya signal kematian (penginduksi apoptosis).
2. Tahap integrasi atau pengaturan (transduksi signal, induksi gen apoptosis yang berhubungan, dll).
3. Tahap pelaksanaan apoptosis (degradasi DNA, pembongkaran sel, dll).
4. Fagositosis.

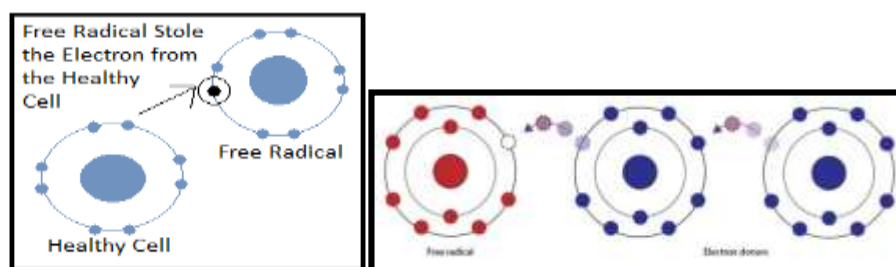
Radikal bebas adalah suatu molekul atau ion yang mengandung satu elektron yang tidak berpasangan. Senyawa ini merupakan zat antara yang berusia pendek, sangat reaktif dan berenergi tinggi, sehingga memiliki kecenderungan menarik elektron dari molekul lainnya dan memicu reaksi berantai. Radikal bebas dihasilkan dari pemutusan ikatan kovalen secara homolitik dimana terbentuk dua fragmen yang memiliki elektron tak berpasangan dan bersifat radikal (Lobo V dkk., 2010). Radikal bebas dapat didefinisikan sebagai molekul atau fragmen molekul yang mengandung satu atau lebih elektron pada atom atau molekul orbital. Dalam konsentrasi yang tinggi, radikal bebas akan membentuk stres oksidatif, suatu proses penghancuran yang dapat merusak seluruh sel tubuh. Proses kerusakan tubuh ini terjadi bila tidak

diimbangi dengan kadar antioksidan tubuh yang baik. Radikal bebas merupakan molekul yang kehilangan satu atau lebih elektron pada permukaan kulit luarnya. Contohnya, O_2 merupakan struktur normal dengan elektron yang lengkap dari oksigen. Bila kehilangan elektronnya, struktur kimianya berubah menjadi O_2^- atau dinamakan superoksida yang merupakan salah satu radikal bebas (Pham-Huy dkk., 2008).

Atom terdiri dari nukleus, proton, dan elektron. Jumlah proton (bermuatan positif) dalam nukleus menentukan jumlah dari elektron (bermuatan negatif) yang mengelilingi atom tersebut. Elektron mengelilingi, atau mengorbit sebuah atom dalam satu atau lebih lapisan. Jika satu lapisan penuh, elektron akan mengisi lapisan kedua. Lapisan kedua akan penuh jika telah memiliki 8 elektron, dan seterusnya. Gambaran struktur terpenting sebuah atom dalam menentukan sifat kimianya adalah jumlah elektron pada lapisan luarnya. Suatu bahan yang elektron lapisan luarnya penuh tidak akan terjadi reaksi kimia. Karena atom-atom berusaha untuk mencapai keadaan stabilitas maksimum, sebuah atom akan selalu mencoba untuk melengkapi lapisan luarnya dengan:

1. Menambah atau mengurangi elektron untuk mengisi maupun mengosongkan lapisan luarnya.
2. Membagi elektron-elektronnya dengan cara bergabung bersama atom yang lain dalam rangka melengkapi lapisan luarnya.

Atom sering kali melengkapi lapisan luarnya dengan cara membagi elektron-elektron bersama atom yang lain. Dengan membagi elektron, atom-atom tersebut bergabung bersama dan mencapai kondisi stabilitas maksimum untuk membentuk molekul. Oleh karena radikal bebas sangat reaktif, maka mempunyai spesifitas kimia yang rendah sehingga dapat bereaksi dengan berbagai molekul lain, seperti protein, lemak, karbohidrat, dan DNA. Dalam rangka mendapatkan stabilitas kimia, radikal bebas tidak dapat mempertahankan bentuk asli dalam waktu lama dan segera berikatan dengan bahan sekitarnya. Radikal bebas akan menyerang molekul stabil yang terdekat dan mengambil elektron, zat yang terambil elektronnya akan menjadi radikal bebas juga sehingga akan memulai suatu reaksi berantai, yang akhirnya terjadi kerusakan pada sel tersebut (Lobo V dkk., 2010).



Gambar 13. Radikal bebas

Radikal bebas dapat terbentuk in-vivo dan in-vitro secara:

1. Pemecahan satu molekul normal secara homolitik menjadi dua.
Proses ini jarang terjadi pada sistem biologi karena memerlukan tenaga yang tinggi dari sinar ultraviolet, panas, dan radiasi ion.
2. Kehilangan satu elektron dari molekul normal.

3. Penambahan elektron pada molekul normal.

Pada radikal bebas, elektron yang tidak berpasangan tidak mempengaruhi muatan elektrik dari molekulnya, dapat bermuatan positif, negatif ataupun netral (Droge W., 2002).

II.6.2. Tipe Radikal Bebas

Radikal bebas terpenting dalam tubuh adalah radikal derivat dari oksigen yang disebut kelompok oksigen reaktif (*reactive oxygen species/ROS*), termasuk di dalamnya adalah triplet ($3O_2$), tunggal (singlet/ $1O_2$), anion superoksida (O_2^-), radikal hidroksil ($-OH$), nitrit oksida (NO^-), peroksinitrit ($ONOO^-$), asam hipoklorus ($HOCl$), hidrogen peroksida (H_2O_2), radikal alkoxy (LO^-), dan radikal peroksil (LO_2). Radikal bebas yang mengandung karbon (CCL_3^-) yang berasal dari oksidasi radikal molekul organik. Radikal yang mengandung hidrogen hasil dari penyerangan atom H (H^-). Bentuk lain adalah radikal yang mengandung sulfur yang diproduksi dari oksidasi 4 glutathion menghasilkan radikal thiy ($R-S^-$). Radikal yang mengandung nitrogen juga ditemukan misalnya radikal fenyl diazine (Husain N dkk., 2012).

Kelompok Oksigen Reaktif	
O_2^-	Radikal superoksida (<i>Superoxide Radical</i>)
$-OH$	Radikal hidroksil (<i>Hydroxyl Radical</i>)
ROO^-	Radikal peroksil (<i>Peroxyl Radical</i>)
H_2O_2	Hidrogen Peroksida (<i>Hydrogen peroxide</i>)
1O_2	Oksigen tunggal (<i>Single oxygen</i>)
NO	Nitrit oksida (<i>Nitric oxide</i>)
$ONOO$	Nitrit peroksida (<i>Nitric peroxide</i>)
$HOCl$	Asam hipoklor (<i>Hypochlorous acid</i>)

Tabel 2. Jenis ROS

II.6.3. Sumber Radikal Bebas

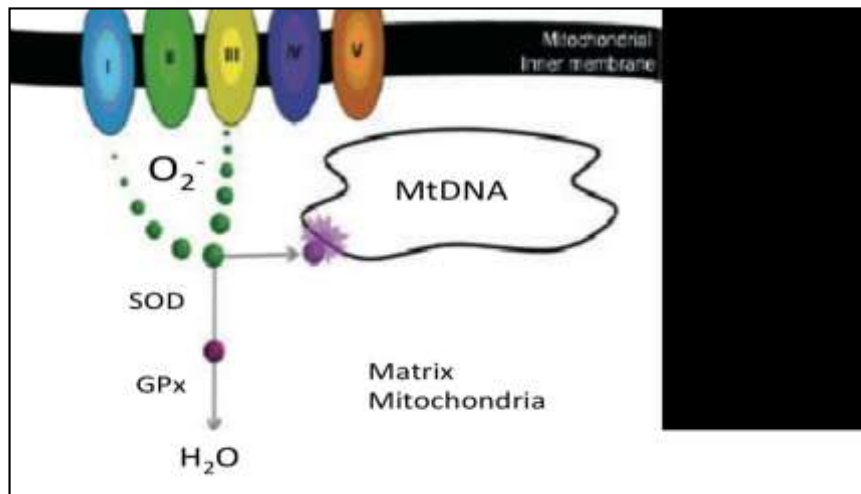
Radikal bebas dapat berasal dari:

1. Endogen

Senyawa radikal dapat berasal dari proses biologis normal namun bisa terdapat dalam jumlah berlebihan. Radikal dari sistem biologi terlibat dalam penggunaannya dalam metabolisme asam arakhidonat melalui biosintesis eikosanoid, sebagai senyawa antara dan atau produk dalam reaksi yang dikatalisis enzim, misalnya pada rantai transpor elektron di mitokondria, dan bagian dari respon jaringan dalam melawan mikroorganisme. Selain itu juga dapat berasal dari faktor NO dan iskemia reperfusi yang melibatkan metabolisme xantin oleh xantin oksidase.

- Mitokondria:

Diantara berbagai organel dalam sel, mitokondria adalah tempat utama pembentukan ROS selama proses metabolisme normal. Beberapa studi meyakini bahwa 90% pembentukan ROS dihasilkan di mitokondria (Fletcher AE., 2010). Umumnya, mitokondria merupakan sumber yang paling penting dari ROS dimana produksi ROS seluler berlangsung secara terus menerus. Hal ini merupakan hasil dari transpor rantai elektron yang terletak di membran mitokondria, yang penting untuk produksi energi dalam sel (Valco dkk., 2006).



Gambar 14. Pembentukan ROS di Mitokondria

Rangkaian transport elektron fosforilasi oksidatif dalam mitokondria menghasilkan ROS sebagai hasil samping yang tidak dapat dihindari. Rangkaian transport elektron tersebut meliputi kompleks satu sampai empat dan ATP sintase yang terletak pada membran dalam mitokondria. Kurang lebih 80% superoksida yang terbentuk pada kompleks I dan III, dilepas pada ruang diantara membran dalam mitokondria, sedangkan 20% sisanya dilepas ke matriks mitokondria. Permeabilitas *transition pore mitochondria* (PTPM) di membran luar mitokondria memungkinkan superoksida bocor ke sitoplasma, yang kemudian diubah menjadi H_2O_2 baik di matriks mitokondria atau di sitoplasma oleh SOD. Berbagai data mutakhir menunjukkan bahwa hidrogen peroksida dapat menembus membran sel melalui aquaporin spesifik seperti aquaporin 8. Aquaporin 8 telah dapat dideteksi pada membran dalam mitokondria dan menunjukkan fungsi sebagai saluran air dan hidrogen peroksida.

- Peroksisom

Peroksisom merupakan tempat kedua terbanyak dalam memproduksi radikal bebas. Pada saat berlangsungnya proses transpor elektron, terbentuk O_2 dan H_2O_2 . Autooksidasi dari sitokrom P-450 dan oksidasi dari NADPH oleh NADPH dehidrogenase akan memicu terbentuknya O_2 . Aktivasi nukleofil melalui proses reduksi oleh flavin monooxygenase sistem merupakan proses lain terbentuknya ROS di mikrosom (Cederbaum Al., 2015). Di dalam organel respirasi, superoksi dan hidrogen peroksida dibentuk dari reaksi yang dikatalisis oleh enzim xanthin oksidase pada matriks dan membran peroksisom.

- Enzim

Beberapa enzim dapat memproduksi O_2^- dalam sel. Dalam keadaan hipoksia, oksidase xantine dan hipoxantine oleh xantine oksidase menghasilkan O_2^- yang akan memicu kerusakan sel. Indole amine dioxigenase, enzim yang umumnya terdapat di jaringan kecuali di hati, terlibat dalam pembentukan O_2^- . Tryptophan dehydrogenase yang terdapat di sel hati juga memproduksi O_2^- ketika bereaksi dengan triptophan (Murphy MP., 2009).

- Makrofag

Makrofag dapat memproduksi ROS dalam perannya melawan mikroorganisme, partikel asing dan stimulus-stimulus lain. Aktivasi fagosit memicu suatu *respiratory burst*, yang ditandai dengan

peningkatan *uptake* O₂, metabolisme glukosa dan penggunaan NADPH. NADPH-oksidadase mengkatalisis reaksi tersebut, dan memicu pembentukan ROS (Bae YS dkk., 2009), menghasilkan superoksida dan halogen radikal sebagai agen yang sitotoksik untuk membunuh mikroorganisme yang telah di fagosit (Halliwell B.,2006).

2. Eksogen

Senyawa radikal yang berasal dari lingkungan misalnya radiasi, asap rokok, senyawa pencemar lingkungan, makanan olahan, olahraga yang berlebihan, dan obat-obatan. Konsumsi lemak yang berlebihan khususnya lemak tidak jenuh sangat berpotensi menimbulkan radikal bebas. Lemak tidak jenuh mudah sekali dioksidasi atau terserang radikal hidroksil membentuk radikal lemak peroksida. Oksigen berlebihan saat beraktivitas masuk melalui pernafasan lalu menyebabkan reaksi yang kompleks dalam tubuh dan menghasilkan produk-produk sampingan berupa radikal bebas atau muncul dalam metabolisme normal lemak.

- Obat-obatan

Beberapa macam obat dapat meningkatkan produksi radikal bebas dalam bentuk peningkatan tekanan oksigen. Bahan-bahan tersebut bereaksi bersama hiperoksida dapat mempercepat tingkat kerusakan. Termasuk di dalamnya antibiotika kelompok quinolon atau berikatan logam untuk aktifitasnya (nitrofurantoin), obat kanker seperti bleomycin, anthracyclines (adriamycin), dan methotrexate, yang memiliki aktifitas pro-oksidan. Selain itu, radikal juga berasal dari fenilbutason, beberapa asam fenamat dan komponen

aminosalisilat dari sulfasalasin dapat menginaktivasi protease, dan penggunaan asam askorbat dalam jumlah banyak mempercepat peroksidasi lemak (Conklin., 2004).

- Radiasi

Radioterapi memungkinkan terjadinya kerusakan jaringan yang disebabkan oleh radikal bebas. Radiasi elektromagnetik (sinar X, sinar gamma) dan radiasi partikel (partikel elektron, photon, neutron, alfa dan beta) menghasilkan radikal primer dengan cara memindahkan energinya pada komponen seluler seperti air. Radikal primer tersebut dapat mengalami reaksi sekunder bersama oksigen yang terurai atau bersama cairan seluler (Conklin., 2004).

II.6.4. Stres Oksidatif

Stress oksidatif didefinisikan sebagai sebagai suatu keadaan dimana terdapat ketidakseimbangan antara proses oksidasi oleh radikal bebas dan proses penetralan oleh antioksidan dalam tubuh. Pada keadaan stress oksidatif terbentuk *reactive oxygen species* (ROS) yang terdiri dari radikal bebas oksigen (superoksida) dan derivatnya (radikal hidroksil) yaitu O_2^- , OH dan H_2O_2 (Yoshikawa T dkk., 2002).

Stres oksidatif adalah gangguan dalam keseimbangan antara radikal bebas (FR), *reactive oxygen species* (ROS), dan mekanisme pertahanan antioksidan endogen (Vishal dkk.,2005), atau yang lebih sederhana, adalah gangguan dalam keseimbangan antara oksidan–antioksidan (Chandra J dkk.,2000). Baik oksidan dan antioksidan sama-sama penting untuk

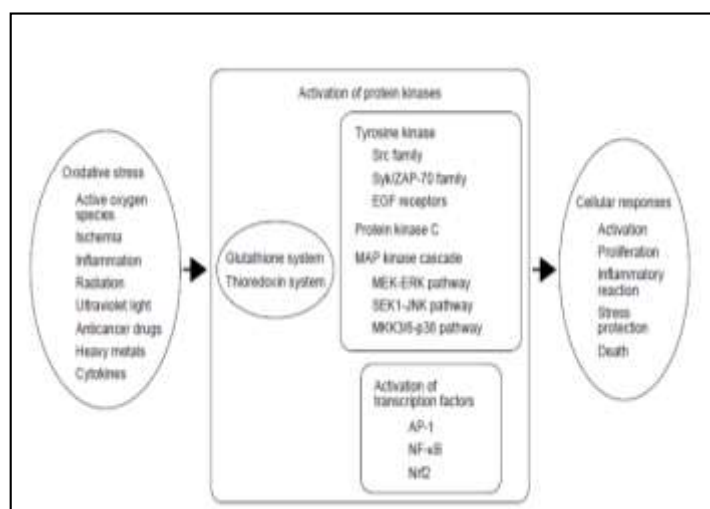
metabolisme normal, transduksi sinyal dan regulasi fungsi seluler. Oleh karena itu, setiap sel dalam tubuh manusia mempertahankan kondisi homeostasis antara oksidan dan antioksidan (Poli G dkk., 2004).

Stres oksidatif dapat mengakibatkan cedera pada semua komponen seluler yang penting seperti protein, DNA dan membran lemak, yang dapat menyebabkan kematian sel. Stres oksidatif telah terbukti terlibat dalam berbagai proses fisiologis dan patologis, termasuk pada kerusakan DNA, proliferasi, adhesi dan kelangsungan hidup sel. Bahkan terdapat beberapa penelitian yang memberikan bukti kuat terhadap keterlibatan stres oksidatif pada proses karsinogenesis (Chen X. dkk, 2012, Birben dkk, 2012, Athar M., 2002).

ROS tidak hanya memiliki efek sitotoksik, tetapi juga memiliki peran penting dalam modulasi *messenger* yang mengatur fungsi penting dari membran sel, yang untuk pertahanan hidup. Hal ini mempengaruhi status redoks intraseluler, NF- κ B. Mitokondria dianggap sebagai sumber utama dari ROS. Dalam sel yang kurang mitokondria, kerusakan yang disebabkan oleh TNF- α dan NF- κ B yang tergantung pada produksi IL-6 ditekan. Ini juga telah menunjukkan bahwa antimycin A, suatu inhibitor dari *mitochondrial electron transport*, meningkatkan jumlah ROS intraseluler dan juga meningkatkan aktivasi dari NF- κ B. Dalam sel yang mengalami istirahat, NF- κ B terikat dengan I κ B dan tetap tinggal dalam sitoplasma. Sinyal ekstraseluler menyebabkan disosiasi dari 2 molekul dan I κ B menjadi terurai

kemudian NF- κ B akan berpindah ke nukleus dan mengaktifkan transkripsi (Teppo HR., 2017, Bowie dan O'neil, 2000).

Kaskade fosforilasi yang menghasilkan kompleks NF- κ B/ I κ B telah terbukti tergantung pada interaksi antar protein yang berasal dari aktivasi reseptor IL-1 dan reseptor TNF. Aktivasi NF- κ B membutuhkan sinyal yang berasal dari *active oxygen species*. Keterlibatan *active oxygen species* dalam pelepasan NF- κ B sebagian disebabkan oleh I κ B yang mengalami fosforilasi melalui sekelompok kinase yang terlibat dalam kaskade fosforilasi. Induksi thioedoksin oleh *active oxygen species* juga terlibat dalam aktivasi NF- κ B, karena thioedoksin memberikan NF- κ B kemampuan untuk mengikat DNA dalam proses yang diatur oleh reaksi redoks. NF- κ B tampaknya menjadi kunci faktor transkripsi untuk menjelaskan hubungan stres oksidatif dengan berbagai macam penyakit yang berkaitan dengan gaya hidup dan mengidentifikasi mekanisme yang tepat yang terlibat mengarah pada pengembangan terapi baru untuk berbagai penyakit (Choudhary, 2013, Viatour P., dkk, 2005, Masutani, dkk, 2007).



Gambar 15. Stres oksidatif dan respon seluler

ROS adalah molekul yang tidak berpasangan dan oleh karena itu sangat tidak stabil dan sangat reaktif. ROS hanya dapat bertahan dalam hitungan *millisecond* (10^{-9} - 10^{-12}) sebelum bereaksi dengan molekul lain untuk menstabilkan dirinya (Lobo, 2010). Diketahui berbagai macam ROS, namun yang paling banyak dipelajari karena efeknya yang berbahaya dan merusak adalah superoksida ($O^{\cdot-}$), hidroksil (OH), dan perhidroksil (O_2H) (Katakwar dkk, 2016, Das K. dan Aryadeep R, 2014).

Kerusakan jaringan akibat serangan ROS dikenal dengan stres oksidatif, sedangkan faktor yang dapat melindungi jaringan terhadap ROS disebut antioksidan. Berbagai jaringan yang dapat mengalami kerusakan akibat ROS diantaranya adalah DNA, lemak dan protein (Birben E, dkk, 2012, Bhattacharyya, 2014).

Interaksi ROS dengan basa dari DNA dapat merubah struktur kimia DNA, apabila tidak direparasi akan mengalami mutasi yang dapat diturunkan, terutama bila terjadi pada DNA sel germinal baik di dalam ovarium maupun di testis, sedangkan kerusakan DNA pada sel somatik dapat mengarah pada inisiasi keganasan. Reaksi ROS terhadap lemak tidak jenuh membran sel dan plasma lipoprotein menyebabkan pembentukan lemak peroksida (malondialdehyde) yang secara kimiawi dapat memodifikasi protein dan basa asam nukleat. Selain itu ROS secara kimia juga dapat memodifikasi langsung asam amino dalam protein, sehingga tidak lagi dikenal sebagai milik sendiri (*self*) tetapi sebagai *non self* oleh sistem imun. Antibodi yang dihasilkan juga akan bereaksi silang

dengan protein dari jaringan normal, sebagai awal dari munculnya berbagai macam penyakit autoimun (Birben E, dkk, 2012, Bhattacharyya, 2014).

Modifikasi kimia dalam protein dan lemak pada lipoprotein (LDL) menyebabkan LDL tidak lagi dapat dikenal oleh reseptor LDL hati, akibatnya LDL tidak dapat dibersihkan oleh hati. Sebaliknya, LDL akan diambil oleh reseptor makrofag, yang kemudian membuat makrofag mempunyai ukuran lebih besar dan menginfiltrasi lapisan pembuluh darah di bawah endothelium, terutama bila sudah terjadi kerusakan endothelium sebelumnya. Infiltrasi LDL tersebut kemudian ditutup oleh akumulasi kolesterol yang tidak teresterifikasi.

Keadaan ini menyebabkan plak aterosklerosis berkembang, sehingga pembuluh darah menjadi tersumbat. Selain itu kerusakan tirosin residu dalam protein akibat ROS juga dapat mengarahkan pembentukan dihidroksiphenilalanin yang selanjutnya mampu bereaksi secara non enzimatis untuk membentuk radikal bebas baru. (Elahi M, 2009, Phaniendra dkk, 2015, dr Groot LJ, dkk, 2000).

Salah satu penyebab kerusakan sel atau jaringan adalah karena terjadinya stress oksidatif oleh radikal bebas. Sistem biologi dapat terpapar oleh radikal bebas baik yang terbentuk endogen oleh proses metabolisme tubuh maupun eksogen seperti pengaruh radiasi ionisasi. Radikal bebas bersifat sangat reaktif, dapat menimbulkan perubahan biokimiawi dan merusak berbagai komponen sel hidup seperti protein, lemak, karbohidrat dan nukleat. Membran sel terutama terdiri dari komponen-komponen

lemak. Serangan radikal bebas terhadap komponen lemak akan menimbulkan reaksi peroksidasi lemak yang menghasilkan produk yang bersifat toksik terhadap sel. Dengan bertambahnya usia, kerusakan sel akibat stres oksidatif tadi menumpuk selama bertahun-tahun sehingga terjadi penyakit-penyakit degeneratif, keganasan, kematian sel-sel vital tertentu yang pada akhirnya akan menyebabkan proses penuaan (Elahi M, 2009, Phaniendra dkk, 2015, dr Groot LJ, dkk, 2000).

Akibat serangan radikal bebas maka akan terbentuk produk oksidatif yang sering digunakan sebagai *marker* untuk menilai stress oksidatif, dengan penilaian yang akurat terhadap *marker* tersebut dapat diketahui kondisi patologis yang terjadi pada tubuh seseorang. *Biomarker* dapat ditemukan dalam darah, urin, dan cairan tubuh lainnya. Beberapa *marker*/petanda yang digunakan adalah malondialdehid (MDA), 4-hidroksinenal akibat peroksidasi lemak, isoprostan akibat kerusakan asam arakidonat, 8-hidroksiguanin dan thiaminglikol akibat kerusakan DNA (Marocco I, 2017).

Malondialdehyde (MDA) merupakan salah satu senyawa produk dari reaksi peroksidasi lemak yang digunakan sebagai *marker* (penanda) terjadinya stres oksidatif. Pada keadaan stres oksidatif yang tinggi, terjadi peningkatan kadar MDA serum secara signifikan. Bila keadaan stres oksidatif teratasi, kadar MDA kembali menurun. MDA merupakan salah satu produk final dari peroksidasi lemak. Senyawa ini terbentuk akibat degradasi radikal bebas OH terhadap asam lemak tak jenuh yang nantinya ditransformasi menjadi radikal yang sangat reaktif (Ayala A, dkk, 2014).

Berikut 3 macam target kerusakan oleh radikal bebas:

1. DNA dan RNA

Radikal bebas dapat memutus cincin deoksiribosa, menyebabkan kerusakan basa, terjadi mutasi, kesalahan translasi, dan menghambat sintesis protein.

2. Protein

Pada protein yang terserang radikal bebas dapat terjadi agregasi dan *cross linking*, fragmentasi, modifikasi gugus thiol, menyebabkan perubahan transpor ion, peningkatan influks kalsium, dan perubahan aktivitas enzim.

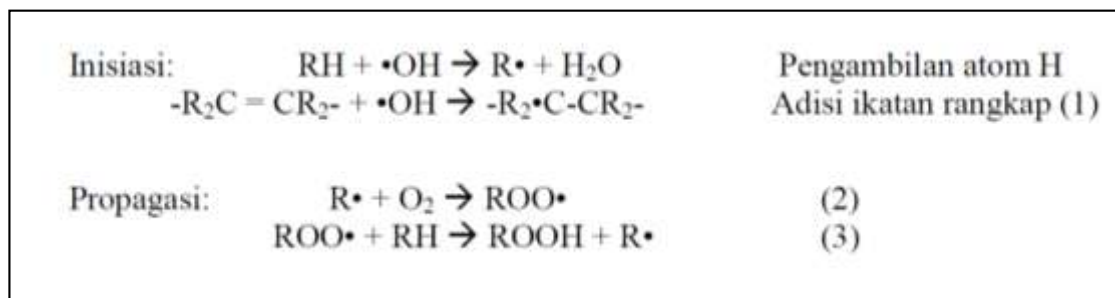
3. Lemak

Radikal bebas dapat mengakibatkan lemak kehilangan ketidakejenuhan, membentuk metabolit reaktif yang mengubah fluiditas, permeabilitas membran dan mempengaruhi enzim yang terikat membran. Lemak tidak jenuh merupakan target yang paling rentan karena mengandung banyak ikatan rangkap.

II.6.5 Peroksidasi Lemak

Oksidasi lemak terdiri dari tiga tahap utama, yaitu inisiasi, propagasi, dan terminasi (Ayala A dkk., 2014). Lemak yang diserang bisa berasal dari aliran darah, seperti kolesterol dan lemak netral, juga dapat berasal dari asupan makanan, yaitu lemak tidak jenuh (Devi GS dkk., 2000). Pada tahap inisiasi terjadi pembentukan radikal asam lemak, yaitu suatu senyawa turunan asam lemak yang bersifat tidak stabil dan sangat reaktif akibat dari

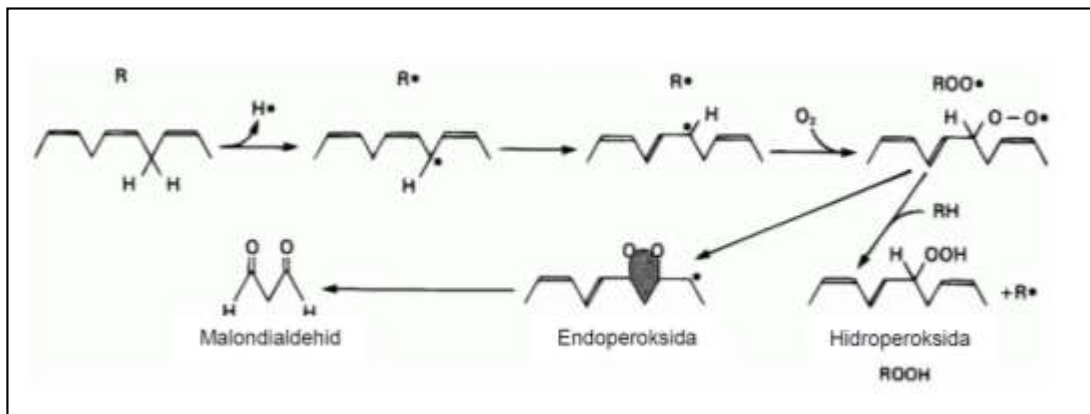
hilangnya satu atom hidrogen atau adisi pada karbon rangkap. Lemak tidak jenuh mudah diserang radikal pada rantai asil karena memiliki sistem 1,4-pentadien yang memungkinkan pengambilan atom hidrogen dari salah satu gugus metilen-CH₂- membentuk radikal karbon. Keberadaan ikatan rangkap karbon melemahkan ikatan karbon hidrogen dan memfasilitasi pengambilan atom hidrogen. Pada tahap propagasi, penghilangan atom hidrogen melibatkan penyusunan ulang ikatan sebagai stabilisasi dengan pembentukan konjugasi diena, yang mudah diserang oleh oksigen membentuk radikal peroksil ROO[•] (2) (Barrera G dkk., 2012). Radikal peroksil lebih lanjut akan menyerang asam lemak lain menghasilkan hidroperoksida (ROOH) dan radikal asam lemak baru melalui reaksi berantai hingga menghasilkan lebih banyak lagi hidroperoksida (Aikens dan Dix, 1991).



Gambar 16. Tahapan peroksidasi lemak

Pada tahap terminasi, sesama radikal dapat bergabung menjadi molekul yang tidak reaktif atau bereaksi dengan senyawa antioksidan sesudah senyawa tersebut terbentuk. Hati dan ginjal merupakan tempat kegiatan oksigen radikal dan peroksidasi lemak terbanyak. Peroksida lemak bersifat adhesif terhadap molekul lain, memiliki potensial aksi yang sedang,

dan aksi yang panjang dalam sel, tetapi juga tidak dapat dikeluarkan melalui ginjal dan tetap tinggal di dalam tubuh (Ayala A dkk., 2014). Lemak hidroperoksida dapat terurai dan dikatalisis oleh logam transisi menghasilkan senyawa karbonil rantai pendek seperti aldehida dan keton yang bersifat sitotoksik. Pemecahan ikatan karbon selama peroksidasi lemak menyebabkan pembentukan alkanal seperti malondialdehid. Proses peroksidasi lemak hingga terbentuknya malondialdehid dapat terlihat seperti pada gambar.



Gambar 17. Proses peroksidasi lemak hingga terbentuk malondialdehid

Malondialdehid merupakan dialdehid tiga karbon yang sangat reaktif yang juga dapat diperoleh dari hidrolisis pentosa, deoksiribosa, heksosa, beberapa asam amino dan DNA. Senyawa ini dapat berinteraksi dengan thiol protein, gugus asam amino, crosslink lemak dan protein, dan agregasi protein. Selain itu juga dapat dihasilkan alkanal seperti 4-hidoksinonenal dan senyawa alkana (Ayala A dkk., 2014).

Malondialdehid (MDA) merupakan salah satu senyawa produk dari reaksi peroksidasi lemak yang digunakan sebagai *marker* (petanda)

terjadinya stres oksidatif. Pada keadaan stres oksidatif yang tinggi, terjadi peningkatan kadar MDA serum secara signifikan. Bila keadaan stres oksidatif teratasi, kadar MDA kembali menurun. MDA merupakan salah satu produk final dari peroksidasi lemak. Senyawa ini terbentuk akibat degradasi radikal bebas OH terhadap asam lemak tak jenuh yang nantinya ditransformasi menjadi radikal yang sangat reaktif. Proses terbentuknya MDA dapat dijelaskan sebagai berikut, radikal bebas oksigen (O^2) diproduksi melalui proses enzimatik dan non enzimatik (Ayala A, dkk, 2014).

- **Produksi MDA Melalui Proses Enzimatik**

MDA dapat dihasilkan secara in vivo sebagai produk sampingan dari proses enzimatik selama biosintesis tromboksan A_2 . TXA_2 merupakan metabolit aktif dari asam arakidonat yang dibentuk melalui sintesis tromboksan A_2 pada endoperoksida prostaglandin atau prostaglandin H_2 (PGH_2). PGH_2 dulunya dihasilkan oleh aksi siklooksigenase pada asam arakhidonat (Ayala A, dkk, 2014).

- **Produksi MDA Melalui Proses Non Enzimatik**

Satu campuran dari hidroperoksida lemak yang terbentuk selama proses peroksida lemak. Radikal peroksil dari hidroperoksida dengan ikatan ganda-cis homolitik yang bergabung menjadi kelompok peroksil mengakibatkan siklisasi lebih mudah dilakukan oleh radikal intramolekuler untuk membentuk ikatan ganda dan radikal baru. Melalui proses non enzimatik reaksi radikal oksigen dependen, AA merupakan prekursor utama endoperoksida bisiklik, yang kemudian mengalami reaksi lebih lanjut dengan atau tanpa keterlibatan senyawa lain untuk

menghasilkan MDA. Namun, eikosanoid lainnya dapat juga dihasilkan oleh proses non enzimatis reaksi radikal oksigen dependen yang menjadi prekursor dari bisiklik endoperoksida dan MDA. Penelitian terakhir telah membahas jalur untuk pembentukan non enzimatis dari MDA di bawah kondisi tertentu (Ayala A, dkk, 2014).

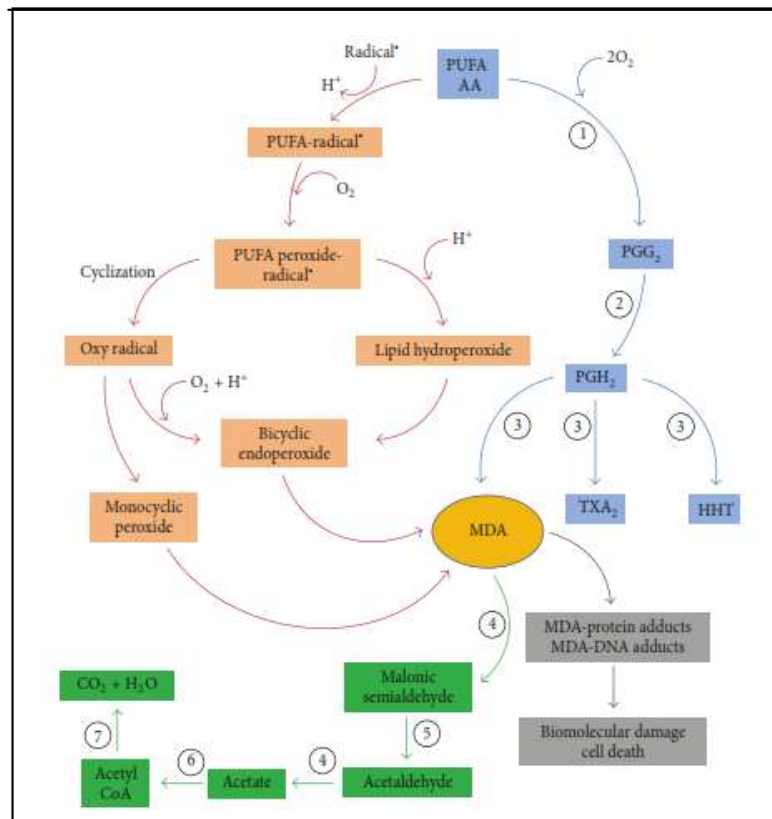
Malondialdehyde (MDA) secara luas banyak digunakan sebagai salah satu indikator peroksidasi lemak yang dapat ditentukan dalam suatu pengukuran dengan menggunakan asam tiobarbiturat. Metode pengukuran ini disebut *TBA-reactant* substansi (TBARs) (Ayala A, dkk, 2014, Tsikas D, 2017).

MDA telah digunakan selama bertahun-tahun sebagai *biomarker* yang tepat untuk peroksidasi lemak dari asam lemak omega-3 dan omega-6 karena reaksi dengan asam tiobarbiturat (TBA) yang relatif mudah dilakukan. Tes TBA dapat memprediksi reaktivitas TBA terhadap MDA untuk menghasilkan warna merah pada kromogen; tes ini digunakan pertama kali pada makanan oleh ahli kimia untuk mengevaluasi degradasi auto-oksidatif dari lemak dan minyak. Namun, tes asam tiobarbiturat (TBARs) dikenal tidak spesifik karena menyebabkan hanya digunakan untuk pemeriksaan kuantifikasi MDA dari sampel *in vivo*. Beberapa teknologi untuk menentukan jumlah total dan MDA bebas, seperti spektrometri massa gas kromatografi (GC-MS/MS), spektrometri cairan kromatografi (LC-MS/MS) dan beberapa pemeriksaan berbasis derivatisasi, telah berkembang selama beberapa dekade. Karena MDA merupakan salah satu *marker* yang paling

banyak digunakan dan terpercaya untuk menentukan stres oksidatif pada kondisi-kondisi klinis dan juga karena MDA memiliki reaktivitas yang tinggi dan toksisitas yang rendah, mendasari penggunaan MDA menjadi sangat relevan untuk riset biomedis (Ayala A, dkk, 2014).

II.6.6. Metabolisme MDA

MDA dapat terbentuk melalui metabolisme secara enzimatik atau dapat melalui reaksi protein seluler dan jaringan atau DNA yang akan mengakibatkan kerusakan biomolekuler. Penelitian awal menunjukkan bahwa jalur biokimia untuk metabolisme MDA melibatkan oksidasi mitokondrial aldehyd dehidrogenase yang kemudian diikuti oleh dekarboksilasi untuk menghasilkan asetaldehyd, yang teroksidasi oleh aldehyd dehidrogenase menjadi asetat dan selanjutnya menjadi CO₂ dan H₂O. Di sisi lain, phosphoglucose isomerase mungkin bertanggung jawab untuk metabolisme sitoplasma MDA untuk metilglyoxal (MG) dan lebih lanjut untuk D-laktat oleh enzim dari sistem glyoxalase dengan menggunakan GSH sebagai kofaktor. Sebagian dari MDA diekskresikan dalam urin sebagai berbagai enaminal (RNH-CH-CH-CHO) seperti N-epsilon (2-propenal) lisin atau N-2-(propenal) serin (Ayala A, dkk, 2014).



Gambar 18. Metabolisme MDA (Ayala A, dkk, 2014)

II.7. Peranan Malondialdehyde pada Thalasemia

Stres oksidatif adalah ketidakseimbangan antara produksi radikal bebas dengan antioksidan. Stres oksidatif terjadi bilamana antioksidan tidak dapat lagi menetralkan radikal bebas yang terbentuk secara berlebihan dari reaksi yang dikatalisis oleh besi bebas Fe (II) (reaksi Fenton). Radikal bebas adalah atom atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Adanya satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan menyebabkan radikal bebas mudah berinteraksi dengan molekul lain yang membuat mereka semakin reaktif dan menyebabkan reaksi rantai yang dapat menyebabkan kerusakan sel. Radikal bebas

merupakan turunan oksigen atau *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang dihasilkan terus-menerus di dalam sel sebagai produk metabolisme.

Thalassemia merupakan penyakit hereditas, sehingga diperlukan diagnosis dan tatalaksana yang tepat bagi penderitanya. Penatalaksanaan anemia pada pasien thalassemia adalah pemberian transfusi darah. Transfusi yang dilakukan terus-menerus dapat menyebabkan kelebihan besi dalam tubuh (*iron overload*) (Longo *et al.*, 2012). Besi yang jumlahnya meningkat ini, dalam bentuk *ferrous iron* (Fe^{2+}) dapat mengalami reaksi *Fenton* yang membentuk radikal bebas, menyebabkan stres oksidatif dengan salah satu akibatnya adalah peroksidasi lipid (Chiou *et al.*, 2006; Rubin dan Strayer, 2012).

Peroksidasi lipid dapat mengurai lipid menjadi malondialdehid (MDA) (Rahman *et al.*, 2012; Ayala *et al.*, 2014). Peroksidasi lipid membran dapat mengganggu fungsi dan integritas sel normal. Maka pengukuran produk peroksidasi lipid adalah cara yang umum untuk menggambarkan stres oksidatif (Montuschi *et al.*, 2004; Chiou *et al.*, 2006; Comporti *et al.*, 2008). Peroksidasi lipid dapat diukur dengan pengukuran kadar MDA yang merupakan produk peroksidasi.

Penderita thalassemia mengalami anemia hemolitik yang terjadi karena umur eritrosit yang memendek oleh karena peningkatan destruksi eritrosit yang terjadi dalam sirkulasi (hemolisis intravaskular) (Hilman RS, 2005). Pemberian transfusi darah kronik yang akhirnya mengakibatkan kadar besi berlebih dalam tubuh akan memacu timbulnya oksidan berupa

reaktive oxygen species (ROS)(Laksmitawati DR, 2003). Oksidan merupakan senyawa yang dapat mengganggu integritas membran sel dan memperberat hemolisis yang terjadi. Peningkatan ROS dalam tubuh akan menimbulkan peroksidasi lipid yang ditandai dengan peningkatan kadar MDA serum. Peningkatan produksi ROS dan MDA dapat menyebabkan kerusakan membran sel yang mengandung senyawa lipid termasuk eritrosit. Peroksidasi membran eritrosit menyebabkan hemolisis sehingga terjadi penurunan kadar Hb (Dissayabutra , 2005).

Dalam penelitian Patne et al (2012), dinyatakan bahwa pada pasien thalassemia β mayor terdapat kenaikan radikal bebas seperti superoksida, radikal hidroksil, dan hidrogen peroksida (H_2O_2) pada eritrosit dan menyebabkan terjadinya stress oksidatif. Stres oksidatif ini mengakibatkan pemendekan umur eritrosit, dapat menghambat tumbuh kembang, kerusakan hati, ginjal, jantung dan saraf pada pasien thalassemia β mayor (Khan et al, 2007). Sehingga jika terbukti terdapat peningkatan kadar malondialdehid pada penderita thalassemia maka dapat dilakukan intervensi dengan pemberian suplementasi antioksidan sebagai tambahan dalam tatalaksana thalassemia, untuk mencegah terjadinya keterhambatan tumbuh kembang dan juga kerusakan organ yang dapat terjadi pada penderita thalassemia.

II.8 Kerangka Teori

