

**KARYA AKHIR**

**KADAR IMUNOGLOBULIN- G (IgG) ANTI- HPA DENGAN METODE ENZYM LINKED  
IMMUNOSORBANT ASSAY (ELISA) PADA PASIEN *IMMUNE THROMBOCYTOPENIA* Di  
RUMAH SAKIT WAHIDIN SUDIROHUSODO MAKASSAR  
ANTI-HPA IMMUNOGLOBULIN G (IgG) VALUES WITH LINKED ENZYM  
IMMUNOABSORBANT ASSAY (ELISA) METHOD IN IMMUNE THROMBOCYTOPENIA  
PATIENTS IN WAHIDIN SUDIROHUSODO HOSPITAL MAKASSAR**

**ANWAR SADAQ  
C108216206**



**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS  
PROGRAM STUDI ILMU PATOLOGI KLINIK  
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS  
HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2021**

**KADAR IMUNOGLOBULIN G (IgG) ANTI- HPA DENGAN METODE ENZYM LINKED  
IMMUNOASSAY (ELISA) PADA PASIEN *IMMUNE THROMBOCYTOPENIA* di RS  
*WAHIDIN SUDIROHUSODO MAKASSAR***

Karya Akhir

Sebagai Salah Satu Syarat Mencapai Gelar Spesialis-1 (Sp.1)

Program Studi  
Ilmu Patologi Klinik

Disusun dan Diajukan oleh

**Anwar Sadaq**

**C108216206**

Kepada

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS  
DEPARTEMEN ILMU PATOLOGI KLINIK  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2021**

**KARYA AKHIR**

**KADAR IMUNOGLOBULIN- G (IGG) ANTI-HPA DENGAN METODE ENZYM LINK  
IMMUNOASSAY (ELISA) PADA PASIEN IMMUNE THROMBOCYTOPENIA DI RUMAH SAKIT  
WAHIDIN SUDIROHUSODO MAKASSAR "**

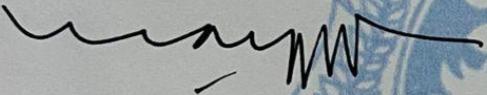
**Disusun dan diajukan oleh:**

**ANWAR SADAQ**

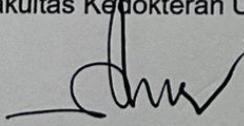
**Nomor Pokok: C108216206**

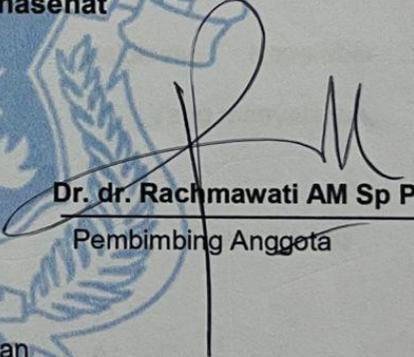
**Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Tesis  
pada tanggal 30 November 2021  
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat**

**Menyetujui  
Komisi Penasehat**

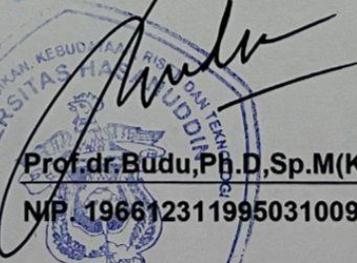
  
**Prof dr. Mansyur Arif Sp PK (K) Ph.D M.Kes**  
Pembimbing Utama

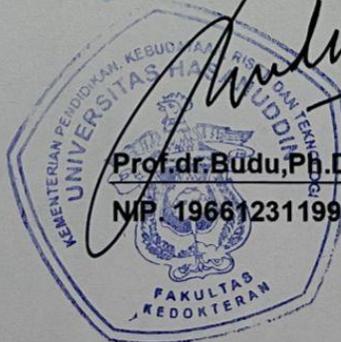
  
**Dr. dr. Rachmawati AM Sp PK (K)**  
Pembimbing Anggota

  
Ketua Program Studi  
Ilmu Patologi Klinik  
Fakultas Kedokteran Unhas

  
Dekan  
Fakultas Kedokteran Unhas

**Dr. dr. Tenri Esa, M.Si, Sp.PK(K)**  
NIP. 1969022519990302004

  
**Prof. dr. Budu, Ph.D, Sp.M(K), M.Med.Ed**  
NIP. 196612311995031009





## PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR

Yang bertanda tangan di bawah ini :

**Nama** : ANWAR SADAQ

**Nomor Pokok** : C108216206

**Program Studi** : Ilmu Patologi Klinik

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

Makassar, November 2021

Yang menyatakan,



Anwar Sadaq

## PRAKATA

Segala puji dan syukur yang tak terhingga penulis haturkan ke hadirat Allah SWT yang Maha Esa, Maha Pengasih dan Penyayang atas segala karunia inayah dan anugerah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis yang berjudul “ **Kadar Immunoglobulin- G (IgG) Anti-HPA Dengan Metode Enzym Linked Immunoassay (Elisa) Pada Pasien *Immune Thrombocytopenia* di Rumah Sakit Wahidin Sudirohusodo Makassar** ” sebagai salah satu persyaratan dalam Program Pendidikan Dokter Spesialis Patologi Klinik di Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, Makassar.

Penulis menyadari bahwa tesis ini masih sangat jauh dari kesempurnaan dan memiliki banyak kekurangan sehingga dengan segala kerendahan hati penulis mengharapkan kritik dan saran serta koreksi dari semua pihak. Terima kasih yang setulusnya atas bantuan dan partisipasi berbagai pihak, olehnya itu pada kesempatan ini, dengan segenap ketulusan hati penulis menghaturkan terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya atas bimbingan dan perhatian serta kesabaran yang tulus dari **Prof.dr. Mansyur Arif, PhD,SpPK (K),M.Kes** selaku Ketua Komisi Penasihat/Pembimbing Utama dan **Dr. dr. Rachmawati Adiputri Muhiddin, Sp.PK(K)** selaku Anggota Penasihat / Sekretaris Pembimbing, **Dr.dr.Ilhamjaya Patellongi, M. Kes** sebagai Anggota Komisi Penasihat / Pembimbing Metode Penelitian dan Statistik, **dr. Rahmawati Minhajat, SpPD, PhD, KHOM**, sebagai Anggota Tim Penilai, dan **Dr.dr. Asvin Nurulita, M.Kes Sp.PK(K)**, sebagai Anggota Tim Penilai, yang telah meluangkan banyak waktu, tenaga dan pikiran untuk memberikan bimbingan dan arahan kepada penulis sejak awal masa penelitian, penyusunan naskah hasil penelitian

hingga seminar hasil penelitian ini.

Pada kesempatan ini pula, penulis menyampaikan terima kasih yang tulus dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada:

1. Guru besar di Departemen Ilmu Patologi Klinik, Prof. dr. Mansyur Arif, PhD, Sp.PK(K), M.Kes, guru kami yang telah membimbing, mengajar dan memberikan ilmu yang tidak ternilai dengan penuh ketulusan hati.
2. Guru sekaligus orang tua kami, dr. H.Ibrahim Abdul Samad, Sp.PK(K) Dan dr.Hj. Adriani Badji, Sp.PK yang senantiasa mendukung pendidikan penulis sejak awal mendidik, membimbing, memberi ilmu yang tidak ternilai harganya, arahan dan dukungan serta nasehat kepada penulis.
3. Ketua Departemen Ilmu Patologi Klinik FK-UNHAS Dr. dr. Yuyun Widaningsih, M.Kes, SpPK, guru kami yang senantiasa membimbing dan memberikan arahan kepada penulis dalam berbagai kegiatan, mengajar, memberi nasehat dan mendorong penulis supaya lebih maju.
4. Ketua Program Studi Departemen Ilmu Patologi Klinik FK-UNHAS, Dr. dr. Tenri Esa, M.Si, Sp.PK (K), guru kami yang senantiasa mengajar, memberi bimbingan, nasehat serta motivasi kepada penulis.
5. Sekretaris Program Studi Departemen Ilmu Patologi Klinik FK-UNHAS, dr. Raehana Samad, Sp.PK (K), guru kami yang senantiasa meluangkan waktu untuk mengajar, memberi bimbingan, arahan, serta nasehat dan motivasi kepada penulis.
6. Dr.dr. Rachmawati AM Sp.PK(K), guru kami senantiasa dengan tulus memotivasi membimbing, memberikan ilmu serta mengarahkan penulis selama masa pendidikan dan dalam penyusunan karya akhir kami.

7. dr. Fitriani Mangarengi, Sp.PK(K), Ph.D, guru kami sekaligus penasehat Akademik kami yang senantiasa membimbing, memberikan ilmu serta mengarahkan penulis selama masa pendidikan dan dalam penyusunan karya akhir kami.
8. Semua guru, Supervisor di Departemen Ilmu Patologi Klinik FK-UNHAS yang senantiasa memberikan bimbingan dan arahan selama penulis menjalani pendidikan sampai pada penyusunan karya akhir ini.
9. Pembimbing metodologi, Dr. dr. Ilhamjaya Patellongi, M. Kes yang telah membimbing penulis dalam bidang Metode Penelitian dan Statistik selama penyusunan karya akhir ini.
10. Dosen Penguji dr. Rahmawati Minhajat, PhD, Sp.PD, KHOM, yang telah meluangkan waktu untuk memberikan kami ilmu dalam penyempurnaan penelitian ini.
11. Direksi RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk menjalani pendidikan di rumah sakit ini.
12. Kepala Instalasi Laboratorium Patologi Klinik RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar, Dr. dr. Asvin Nurulita, M.Kes, Sp.PK(K) beserta staf yang telah membantu selama masa pendidikan, penyelesaian tesis ini.
13. Kepala Instalasi Laboratorium RSPTN UNHAS, Kepala Instalasi Laboratorium RS. Labuang Baji, Kepala Instalasi Laboratorium RS. Stella Maris, Kepala Instalasi Laboratorium RS. Ibnu Sina, Direktur UTD PMI, Ketua Departemen Ilmu Penyakit Dalam, membantu penulis dalam menjalani masa pendidikan.
14. Kepala Unit Penelitian Fakultas Kedokteran UNHAS beserta staf yang telah memberi izin dan membantu dalam proses pemeriksaan sampel penelitian ini.

15. Seluruh pasien yang telah bersedia menjadi subyek dalam penelitian ini, penulis mengucapkan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya.
16. Teman-teman sejawat PPDS Departemen Ilmu Patologi Klinik, khususnya teman angkatan periode Januari 2017 (Troponin) : **dr. Eko Putri Rahajeng, dr. Rini Rahman, dr. Marini Kalatanan (Alm), dr. Anton Triyadi, dr. Ummul Khair, dr. A. Ahmad Tarau , dr. Ivonne Desiana, dr. Gillian Seipalla, dr. Faigah Aprilia** dan teman-teman residen Patologi Klinik yang telah banyak memberikan bantuan, dukungan dan motivasi serta semangat selama masa pendidikan dan penyelesaian tesis ini.
17. Nurilawati, SKM, Narti Ningsih, Bella, lin dan bu Salma atas semua bantuan dan dukungannya selama masa pendidikan dan penyelesaian penelitian akhir ini.
18. Kepada Sahabat Saudara **Bulky Muhammad Maharsa S.Ab, MM** yang telah banyak memberikan bantuan, dukungan dan motivasi serta semangat selama masa pendidikan dan penyelesaian tesis ini.
19. Kepada Sahabat Saudara **Herbert Adrianto M.Ked Trop** yang telah banyak memberikan masukan dan ide –ide dalam penyelesaian tesis ini.
20. Kepada teman sejawat syariah Akk **dr. Firman Sp JP, dr herdyansyah, dr herwin, dr firdaus, dr Nurul, drg hendri andrean** yang telah banyak memberikan masukan dan ide –ide dalam penyelesaian tesis ini

Akhirnya ucapan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada kedua orang tua saya tercinta, **Ayahanda Muh Tahrir . dan Ibunda Wd St Rosnah Biku**, kedua mertua saya Bapak Mangerang Mandeng Tanro dan Ibu Rosana Gitowati atas doa tulus, kasih sayang, dukungan semangat, dan pengertian selama menjalani

pendidikan. Terima kasih buat kakak, adik (**Novitha Tahrir Apt, Arwan Arsyad SH, MH**) dan saudara ipar saya tercinta, Ronald dan Ilham Hedianto, serta seluruh keluarga besar atas doa yang tulus, kasih sayang dan dukungan yang selalu mengiringi penulis selama menjalani pendidikan.

Khusus kepada istri tercinta **Ika Mariescha M. Tanro ST,M.Si** penuh keharuan dan kecintaan penulis ucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya atas segala pengorbanan, kesabaran, pengertian, dukungan, kasih sayang dan doa tulus selama dalam proses pendidikan.

Penulis berharap karya akhir ini dapat memberi sumbangan bagi perkembangan ilmu pengetahuan terutama di bidang Ilmu Patologi Klinik di masa yang akan datang. Semoga Allah SWT senantiasa menyertai dan memberkati setiap langkah pengabdian kita. Aamiin YRA.

Makassar, November 2021

Anwar Sadaq

## ABSTRAK

**ANWAR SADAQ.** Kadar Immunoglobulin- G Anti- Hpa Dengan Metode *Enzym Linked Immunosorbant Assay* (Elisa) Pada Pasien *Immune Thrombocytopenia* di rumah sakit wahidin sudirohusodo Makassar (Dibimbing oleh Mansyur Arif dan Rachmawati A Muhiddin)

*Immune thrombocytopenia* didefinisikan sebagai kondisi trombotopenia dengan jumlah trombosit kurang dari  $100 \times 10^9/L$ . *Immune thrombocytopenia* dapat disebabkan oleh adanya anti platelet autoantibodi, kerusakan platelet yang dimediasi oleh sel T dan gangguan fungsi megakariosit . pengujian serologis pada ITP adalah untuk mendeteksi autoantibodi yang terikat pada trombosit pasien sendiri yang dirancang untuk mendeteksi immunoglobulin yang mengikat epitop spesifik trombosit yang ditemukan pada kompleks glikoprotein trombosit.

Penelitian dengan desain *cross sectional* ini menggunakan sampel penderita ITP 79 sampel yang terdiri dari 55 sampel ITP dan 24 sampel kontrol sehat. Ig-G anti-HPA diperiksa menggunakan metode ELISA. Data dianalisis secara statistik dengan Uji *mann whitney* dan *Spearman*.

Hasil penelitian diperoleh bahwa terdapat perbedaan kadar Ig-G anti HPA pada kelompok ITP primer dan kontrol normal, namun tidak signifikan ( $p > 0,05$ ).

Kata kunci: *Immune Thrombocytopenia* , Immunoglobulin G (IgG), *Anti Human Platelet(HPA)*

## ABSTRACT

ANWAR SADAQ. Levels of Anti-Hpa Immunoglobulin-G Using Enzyme Linked Immunosorbant Assay (Elisa) Method in Immune Thrombocytopenia Patients (Supervised by Mansyur Arif and Rachmawati A Muhiddin)

Immune thrombocytopenia is defined as a thrombocytopenia condition with a platelet count of less than  $100 \times 10^9/L$ . Immune thrombocytopenia can be caused by the presence of antiplatelet autoantibodies, T cell-mediated platelet destruction and impaired megakaryocyte function. Serological testing in ITP is to detect autoantibodies bound to the patient's own platelets designed to detect immunoglobulins that bind to platelet-specific epitopes found in platelet glycoprotein complexes.

This study with a cross sectional design used 79 samples of ITP patients, consisting of 55 ITP samples and 24 healthy control samples. Anti-HPA Ig-G was examined using the ELISA method. The data were analyzed statistically with the Mann Whitney and Spearman tests.

The results showed that there were differences in the levels of Ig-G anti HPA in the primary ITP group and normal controls, but not significant ( $p > 0.05$ ).

Keywords: Immune Thrombocytopenia, Immunoglobulin G Ig-G, Anti Human Platelet (HPA)

## DAFTAR ISI

PRAKATA .....	i
ABSTRAK .....	vi
ABSTRACT .....	vii
DAFTAR ISI .....	viii
DAFTAR GAMBAR DAN BAGAN .....	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR SINGKATAN .....	xiii
BAB I. PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang Penelitian .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	7
1.3 Tujuan Penelitian .....	7
1.3.1 Tujuan Umum .....	7
1.3.2 Tujuan Khusus .....	7
1.4 Manfaat Penelitian .....	8
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA .....	9
2.1 Trombosit .....	9
1. Struktur Trombosit .....	9
a. Struktur Internal .....	10
a.1 <i>Surface receptors</i> .....	11
a.2 Platelet Membrane Glycoprotein (GP) .....	12
a.3 <i>Human Platelet Antigen</i> .....	14
2.2 Fungsi Trombosit .....	17

a.	Hemostasis Primer .....	17
b.	Fungsi Adhesi .....	18
c.	Fungsi Agreggasi .....	19
2.3	<i>Immune trombocytopenia</i> (ITP) .....	20
2.3.1	Definisi .....	20
2.3.2	Epidemiologi .....	23
2.3.3	Etiopatofisiologi .....	24
2.3.4	Manifestasi Klinis .....	28
2.3.5	Diagnosis.....	30
2.3.6	Pemeriksaan Ig G pada pasien ITP .....	33
2.3.7	Penatalaksanaan .....	36
2.3.8	Prognosis .....	38
2.3.9	Komplikasi .....	49
2.4	Penelitian Uji Diagnostik dan skrining kedokteran dan kesehatan masyarakat .....	40
BAB III.	KERANGKA KONSEP PENELITIAN .....	42
3.1	Kerangka Teori Penelitian .....	42
3.2	kerangka Konsep penelitian .....	43
BAB IV	METODE PENELITIAN .....	44
4.1	Rancangan Penelitian .....	44
4.2	Sampel Penelitian .....	44
4.2.1	Subyek Penelitian .....	44
4.2.2	Kriteria Inklusi dan Ekslusi .....	45

4.2.3	Izin Subyek penelitian .....	46
4.2.4	Cara Pengambilan Sampel .....	46
4.3.	Variabel Penelitian .....	46
4.4	Tempat dan Waktu Penelitian .....	47
4.4.1	Tempat Penelitian .....	47
4.4.2	Waktu Penelitian.....	47
4.4.4	Populasi Sampel .....	47
4.5	Prosedur Penelitian .....	47
4.5.1	Pemilihan Sampel .....	47
4.5.2	<i>Persiapan Sampel</i> konsentrasi Ig-G Anti-HPA .....	48
4.5.2.1	Persiapan sampel .....	48
4.5.2.2	Alat dan Bahan .....	49
4.5.2.3	Persiapan reagen .....	49
4.6	Prinsip tes .....	
4.7	Definisi Operasional dan Kriteria Obyektif .....	50
4.8	Alur Penelitian .....	52
4.9	Analisis Statistik .....	53
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN .....		55
5.1	HASIL PENELITIAN .....	55
5.1.1	Karakteristik Sampel Penelitian .....	55
5.2	PEMBAHASAN .....	57
5.2.1	Karakteristik sampel penelitian .....	58
5.2.2	Perbedaan Kadar IgG pada ITP primer dan sekunder	59

5.2.3 Perbedaan Kadar IgG Anti HPA pada Kelompok ITP dan Kontrol .....	60
5.2.4 Keterbatasan Penelitian .....	61
5.2.5 Ringkasan Hasil Penelitian.....	61
5.2.6 BAB VI SIMPULAN DAN SARAN .....	63
<b>6.1</b> Simpulan .....	63
<b>6.2</b> Saran .....	63
DAFTAR PUSTAKA .....	64

## DAFTAR GAMBAR dan BAGAN

Gambar 1. Struktur Trombosit.....	11
Gambar 2. Kompleks glikoprotein trombosit .....	13
Gambar 3. Fungsi Hemostasis Trombosit .....	18
Gambar 4. Patofisiologi Imun trombositopenia.....	29
Gambar 5. Manifestasi Klinis pada pasien ITP .....	30
Gambar 6. Apusan darah tepi dan sumsum tulang pasien ITP.....	32
Gambar 6. Tahapan deteksi IgG HPA metode MAIPA dan ELISA .....	36
Gambar 8. Kadar Ig-G anti-HPA pada kelompok ITP dan kontrol .....	57
Bagan 1 kerangka teori .....	42
Bagan 2 kerangka konsep .....	43
Bagan 3 Alur penelitian .....	53

## DAFTAR TABEL

	<b>Hal</b>
Tabel 1. Tata Nama <i>Human Platelet Antigen</i> .....	16
Tabel 2. Kategori ITP menurut International working group.....	22
Tabel 3. Rekomendasi Pemeriksaan pada suspek ITP .....	33
Tabel 4. Karakteristik sampel berdasarkan kelompok ITP dan kontrol.....	55
Tabel 5. Perbedaan Kadar Ig-G Anti-HPA pada Kelompok ITP primer dan ITP sekunder .....	56
Tabel 6. Perbedaan Kadar IgG Anti HPA pada Kelompok ITP dan Kontrol.....	56

## DAFTAR SINGKATAN

ADP	: Adenosin dipospat
APC	: <i>Agent Precenting Cell</i>
ATP	: Adenosin tripospat
BAFF	: <i>B cell Activating Factor</i>
CMV	: Citomegalovirus
EBV	: <i>Epstein Barr Virus</i>
ELISA	: <i>Enzyme Linked Immunosorbant Assay</i>
FNAIT	: <i>Fetal Neonatal Allaoimmune Trombocytopenia</i>
HIV	: <i>Human Immunodeficiency Syndrome</i>
HPA	: <i>Human Platelet Antigen</i>
HPV	: <i>Human Papilloma Virus</i>
Ig-G	: Immunoglobulin G
ITP	: <i>Immune Trombositopenia purpura</i>
IWG	: <i>International Working Group</i>
vWF	: <i>Von Willebrand Factor</i>
MACE	: <i>Modified Capture Enzyme Linked Immunosorbant Assay</i>
MAIPA	: <i>Monoclonal Antibody Immobilization Platelet Antigen</i>
MHC	: <i>Major Histocompatibilty</i>
PAigG	: <i>Platelet Associated IgG</i>
pPNPP	: <i>P-Nitrophenyl Phospate</i>
PTR	: <i>Platelet Tranfusion Refractory</i>
PTP	: <i>Post Tranfution Purpura</i>

PIFT : *Platelet Immunofluorescence test*

SNP : *Single Nucleotide Polymorphisme*

Th : T helper

TRA : *Thrombopoetin Receptor Agonist*



## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang Penelitian

*Immune Thrombocytopenia* (ITP) adalah penyakit autoimun yang ditandai dengan penurunan jumlah trombosit dengan resiko meningkatnya perdarahan (Neunert *et al.*, 2011). *Imunne thrombocytopenia* dapat terjadi pada pria dan wanita tanpa membedakan kelompok ras, dan usia (Neunert *et al.*, 2011). Berdasarkan analisis data *Maryland Health Care Commission*, prevalensi ITP di Amerika Serikat adalah 9,5 kasus per 100.000 anak usia 1 – 5 tahun, 7,3 kasus per 100.000 anak pada usia 6 – 10 tahun, dan 4,1 kasus per 100.000 anak usia 11 – 14 tahun (Kistangari and McCrae, 2013a). *Immune trombocytopenia* dapat dikategorikan menjadi ITP primer dan sekunder. *Immune trombocytopenia* primer merupakan jenis ITP terbanyak, dan paling banyak disebabkan karena adanya autoantibodi IgG (Swinkels *et al.*, 2018). Idiopatik Trombositopenik purpura oleh *International Working Group* (IWG) dikenal dengan istilah *Immune Trombocytopenia* (ITP), terminologi ini berdasarkan patogenesis imun ITP dan kemungkinan ITP sendiri tidak secara menyeluruh memberikan gambaran yang sama seperti purpura atau manifestasi perdarahan lainya (Kistangari and McCrae, 2013a).

*Immune thrombocytopenia* ditandai dengan peningkatan kerusakan trombosit dan adanya trombositopenia ( kadar trombosit <  $100 \times 10^9/L$ ) (Zufferey *et al.*, 2017a). Beberapa penelitian menyatakan penyebab

terjadinya destruksi trombosit dimediasi oleh imun dan juga mungkin tidak hanya melibatkan penghancuran trombosit, tetapi juga penghambatan pelepasan trombosit oleh megakariosit (Cooper and Bussel, 2006).

*Immune thrombocytopenia* dapat disebabkan oleh adanya autoantibodi IgG, yang mengikat trombosit dan megakariosit, dan memiliki target pada permukaan antigen seperti glikoprotein (GPIIb3) (GPIIbIIIa) dan GPIb-IX-V. Trombosit dengan autoantibodi yang terikat kemudian dikenali oleh fagosit yang membawa reseptor Fc (FcRs), yang menyebabkan peningkatan fagositosis trombosit yang dimediasi oleh antibodi dan destruksi terutama di limpa (Zufferey et al., 2017a). Pengikatan autoantibodi ke megakariosit dapat menghambat pematangannya atau dapat menyebabkan kehancuran megakariosit (Zufferey et al., 2017). Megakariosit mengekspresikan GPIIb/IIIa dan GPIb/IX, yang merupakan salah satu target oleh antibodi anti-platelet. Faktanya, IgG antiplatelet yang terkandung dalam plasma pasien ITP dewasa tidak hanya menurunkan pembentukan megakariosit dan poliploidinya (Audia et al., 2017). Antibodi yang diproduksi di ITP terutama menargetkan dua permukaan trombosit yang paling banyak diekspresikan protein; GPIIb/IIIa (integrin  $\alpha IIb\beta 3$ ) atau GPIba. Autoantibodi trombosit yang paling dapat dideteksi (70-80%) ditujukan terhadap  $\alpha IIb\beta 3$ , dan 20–40% memiliki kekhususan untuk GPIb/IX atau keduanya (Li et al., 2018). Penghancuran trombosit yang dimediasi oleh autoantibodi merupakan hipotesis utama dalam memahami patofisiologi ITP. Autoantibodi juga telah terlibat dalam

kekurangan produksi trombosit, karena telah terbukti autoantibodi tersebut menargetkan megakariosit di sumsum tulang. Secara umum, autoantibodi menargetkan antigen trombosit utama termasuk glikoprotein (GP) IIb/IIIa dan GPIb/IX. Berbagai metode pengujian telah dikembangkan untuk mendeteksi spesifik Glikoprotein autoantibodi trombosit baik terikat pada permukaan trombosit (tes langsung) atau dalam plasma atau serum (tes tidak langsung)(Vrbensky et al., 2019a). Eksperimen in vitro yang terbaru mendefinisikan peran autoantibodi pada pasien dengan ITP. Dua studi khususnya, oleh Chang et al. dan McMillan et al mendukung pandangan bahwa autoantibodi pada pasien ITP berperan dalam menekan produksi megakariosit dan pematangan serta pelepasan trombosit (Stasi, 2011).

Metode untuk mengukur antibodi antiplatelet telah berkembang selama bertahun-tahun. Penelitian awal mendeteksi trombosit terkait IgG dengan penyakit gangguan trombositopenia baik oleh karena imun ataupun non imun, hal tersebut dikaitkan dengan adanya ikatan antibodi IgG yang terikat pada permukaan trombosit, namun demikian pemeriksaan tersebut masih memiliki kadar diagnostik yang rendah (Chan et al., 2003). Pengenalan *file* uji *immunobead* oleh McMillan et al (1987) dan Kiefel et al (1987) mengenai uji spesifik antibodi monoklonal (MAIPA) memungkinkan peneliti mengukur kadar autoantibodi platelet pada kondisi trombositopenia imun (Chan, H Moore, JC Finch, CN 2003). Pemeriksaan oleh McMillan, 1995 yang mengukur antibodi secara spesifik terhadap glikoprotein trombosit memberi

harapan yang baik, namun sensitivitas masih cukup rendah. Kelton, 1995; McMillan, 1995, melakukan uji Imobilisasi glikoprotein (tes fase III) mengukur platelet spesifik Glikoprotein autoantibodi antiplatelet dan telah membuktikan penyebab masalah adanya gangguan imun dan non-imun dengan mengukur konsentrasi IgG yang terdapat pada trombosit (Chan, H Moore, JC Finch, CN 2003). Dalam penelitian yang dilakukan Kelton, 1995; George & Raskob, 1998; McMillan, 2000, pada 75% pasien, autoantibodi berikatan langsung pada glikoprotein (GP) kompleks IIb/IIIa (alphaIIb beta3) atau Ib/IX/V dan dapat diidentifikasi menggunakan uji khusus GP (Chan, H Moore, JC Finch, CN 2003). Terdapat 25% kejadian pada pasien ITP, diperkirakan oleh adanya epitop lain dari trombosit yang terlibat yang menunjukkan bahwa trombositopenia disebabkan oleh mekanisme lain (McMillan, 2007).

Tes lain yang digunakan untuk mendeteksi *Human Platelet Antigen* (HPA) yang dapat dilakukan antara lain modifikasi *microtoxicity* yaitu mendeteksi kedua imunoglobulin baik IgM dan IgG, dengan beberapa metode antara lain *Platelet immunofluorescence test (PIFT)* dan *Monoclonal antibody immobilization of platelet antigen (MAIPA)* (Bub et al., 2013). Penelitian yang dilakukan oleh Shulman, 1965 melaporkan bahwa terdapat faktor yang dapat menyebabkan trombositopenia pada plasma pasien ITP, yang disebut sebagai antibodi Imunoglobulin-G (IgG) (Kistangari and McCrae, 2013a). Studi yang sama pada tahun 1970 menunjukkan adanya

peningkatan level IgG (90%) pada pasien ITP (Kistangari and McCrae, 2013a). Deteksi terhadap trombosit yang dikaitkan adanya reaktivitas terhadap antibodi merupakan alat bantu diagnosis yang dianggap cukup penting terhadap kecurigaan adanya imun trombositopenia misalnya pada *fetal neonatal alloimmune thrombocytopenia (FNAIT)*, *platelet transfusion refractory (PTR)*, dan *posttransfusion purpura (PTP)* (Metzner et al., 2017).

Pemeriksaan autoantibodi antiplatelet di Indonesia belum begitu banyak dilakukan, salah satu penelitian yang dilakukan oleh Alvina 2011 yang dapat digunakan sebagai salah satu acuan untuk mendukung diagnosis pada ITP meskipun pada hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa hasil pemeriksaan tidak selalu positif pada pasien ITP dan bila hasil negatif tidak menyingkirkan bahwa seseorang dalam kategori ITP (Alvina, 2011). Perkembangan pemeriksaan untuk deteksi *platelet associated igG (PAIgG)* semakin berkembang dan saat ini yang cukup umum digunakan adalah metode *enzyme linked immunosorbent assay (ELISA)* yang digunakan untuk mendeteksi ikatan antara trombosit dan imunoglobulin (Alvina, 2011). Pemeriksaan ini cukup sensitif untuk mendeteksi ikatan antara trombosit dengan imunoglobulin namun kurang spesifik karena peningkatan level PAIgG dapat meningkat baik pada pasien dengan adanya gangguan imun ataupun tidak adanya gangguan imun (Alvina, 2011).

Beberapa studi melaporkan hasil uji yang menggunakan *antiplatelet autoantibodies* pada trombosit baik yang secara *direct test* dan *indirect* pada

pasien ITP dengan perkiraan hasil sensitifitas dan spesifitas yang dihitung dengan menggunakan metode acak (Vrbensky et al., 2019a). Kesimpulan yang didapatkan adalah pemeriksaan autoantibodi pada pasien ITP memiliki spesifitas yang tinggi namun memiliki sensitivitas yang rendah (Vrbensky et al., 2019a). Hasil pemeriksaan autoantibodi yang positif berguna untuk menentukan jenis ITP (Vrbensky et al., 2019b).

Data tentang genotipe dan frekuensi HPA terhadap trombosit pada populasi di Indonesia belum ada, khususnya di Makassar, penelitian lain yang dilakukan oleh Muhiddin R dkk, mengenai IgG anti-HPA tahun 2019 yang menyatakan bahwa adanya *Human Platelet antigen* dapat menyebabkan adanya respon alloimun yang dapat menyebabkan manifestasi klinis seperti *Fetal Neonatal Allo-immune Thrombocytopenia* (FNAIT), *Post Transfusion Purpura* (PTP), dan *Platelet Transfusion Refractory* (PTR), *Idiopathic Thrombocytopenic Purpura* (ITP) (Muhiddin et al., 2019). Penelitian Oleh Muhiddin R dan kawan-kawan juga menyatakan adanya hasil positif HPA pada pasien *Immune thrombocytopenia* dan *non immun thrombocytopenia*, dalam penelitian tersebut disimpulkan bahwa frekuensi HPA 1b, 2a,4a didapatkan tertinggi pada *non-immune and immune Thrombocytopenia* (Muhiddin et al., 2019).

Berdasarkan beberapa penelitian yang telah dilakukan sebelumnya diatas, maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian erbandingan kadar

IgG anti-HPA terhadap pasien ITP dan kontrol sehat di Rumah sakit Wahidin Sudirohusodo Makassar.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Berdasarkan uraian latar belakang peneliti merumuskan pertanyaan penelitian sebagai berikut : Apakah dapat dibandingkan antara kadar IgG anti-HPA dengan metode menggunakan ELISA pada pasien ITP dengan kontrol normal ?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

### **1.3.1 Tujuan Umum**

Mengetahui kadar IgG anti-HPA dengan metode menggunakan ELISA pada pasien ITP dan kontrol sehat ?

### **1.3.2 Tujuan Khusus**

1. Mengetahui kadar IgG anti-HPA metode ELISA pada pasien ITP dan kontrol sehat.
2. Membandingkan kadar IgG anti-HPA metode ELISA pada pasien ITP dan kontrol sehat.

## **1.4 Manfaat Penelitian**

1. Hasil penelitian diharapkan memberikan informasi ilmiah kadar IgG anti-HPA dengan metode ELISA pada pasien ITP.
2. Menjadi bahan acuan bagi penelitian terhadap pemeriksaan IgG anti-HPA pada pasien ITP.

3. Kadar IgG anti-HPA diharapkan dapat menjadi salah satu pemeriksaan penunjang yang dapat membantu dalam penegakkan diagnosa ITP.

## BAB II

### TINJUAN PUSTAKA

#### 2.1 Trombosit

##### 1. Struktur Trombosit

Gulio Bizzozero pertama kali mendeskripsikan trombosit sebagai '*spherules piastrine*' (piring kecil) sebagai fragmen kecil yang berkumpul pada pembuluh darah yang mengalami kerusakan. Oleh Bizzozero menunjukkan bahwa komponen darah ini tidak memiliki inti (Twomey et al., 2018). Produksi trombosit berasal dari jalur hematopoiesis, trombosit diproduksi oleh megakariosit yang terjadi di sumsum tulang belakang (Holinstat, 2017).

Trombosit dihasilkan melalui proses megakariopoiesis yang dihasilkan di sumsum tulang belakang yang dimulai pembentukan *Hemopoietic stem cell* yang akan berdiferensiasi menjadi Multipotent progenitor yang selanjutnya berkembang menjadi *megakaryocyte Erythroid progenitor* (MEPs) yang akan matur menjadi eritrosit dan trombosit. Megakariosit yang mengalami pematangan melalui proses endomitotik dengan volume sitoplasma yang akan terus membesar dan akan membentuk granula yang akan dibebaskan menjadi trombosit, setiap satu sel megakariosit akan menghasilkan antara 1000-5000 trombosit (Hoffbrand et al., 2016).

Ukuran Trombosit atau *platelet* berkisar antara diameter 2-4  $\mu\text{m}$ , dengan

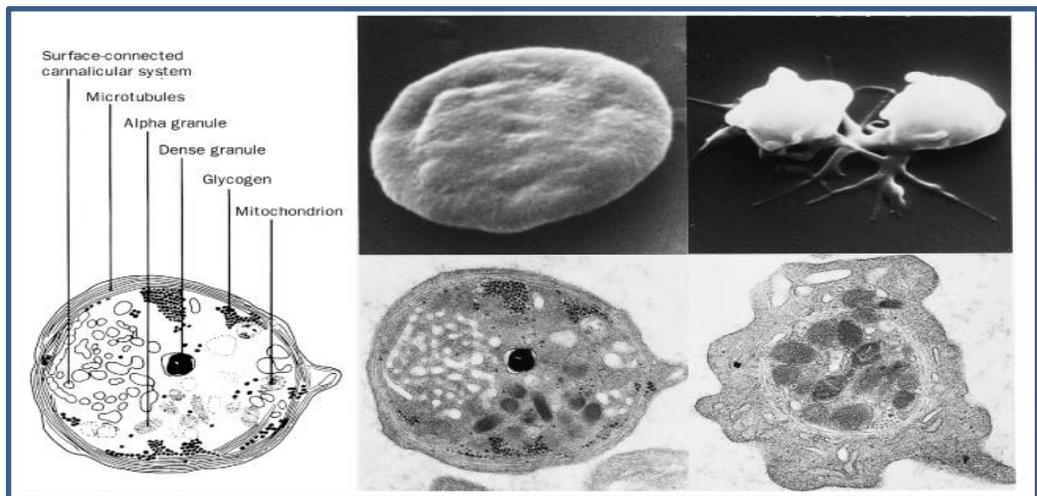
ketebalan 0,5  $\mu\text{m}$  dan memiliki volume 7-8 fl (Twomey et al., 2018). Masa hidup trombosit antara 5-7 hari setelah terbentuk dan terpisah dari megakariosit (Holinstat, 2017). Selama siklus hidup normal, ukuran trombosit akan berkurang, diakhir siklus hidup di pembuluh darah atau setelah diaktifkan, trombosit akan berkumpul dan membentuk bekuan/*platelet plug* pada pembuluh darah dan di transportasikan menuju lien untuk didestruksi dan dikeluarkan dari tubuh (Holinstat, 2017).

#### **a. Struktur internal**

Trombosit memiliki komposisi struktur yang unik, dengan tanpa inti sel mengandung beberapa komponen seluler, seperti mitokondria, granula. Terdapat 3 granula yang dapat diidentifikasi pada trombosit (Twomey et al., 2018). Tipe yang pertama adalah dense granul yang memiliki bentuk lebih kecil dan jumlah yang sedikit di setiap trombosit (3-8 per trombosit) (Twomey et al., 2018). Dense granul mensekresi Adenosin dipospat (ADP), adenosin tripospat (ATP), histamin, poliphospat, calcium, dan serotonin, yang berfungsi untuk menguatkan agregasi dan reaksi koagulasi pada trombosit (Twomey et al., 2018) (James N George, 2000). Tipe kedua adalah alfa ( $\alpha$ ) granule yang memiliki ukuran lebih besar dengan jumlah yang cukup banyak di setiap trombosit, antara 50-80 per trombosit (Twomey et al., 2018).  $\alpha$  granula meliputi 10 % dari ukuran trombosit,  $\alpha$  granula mensekresi beberapa protein penting yang berfungsi pada hemostasis primer yaitu antara lain integrin ( $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ ), reseptor immunoglobulin seperti (GPIV, PECAM), *Leucrine*

*rich receptors* seperti (GPIb-IX-V), tetraspanin (CD9) dan beberapa protein yang berfungsi untuk adhesi antara lain *von Willebrand Factor* (vWF), fibrinogen dan faktor koagulasi( faktor V, XI) yang berperan pada homeostasis sekunder (Twomey et al., 2018).

Granul lisosom, merupakan salah satu struktur trombosit yang menghasilkan beberapa enzim seperti asam Hidrolase dan protease, yang memiliki fungsi digestif pada komponen sistolitik (Twomey et al., 2018). Sekresi dari granul lisosom ini berfungsi sebagai kunci mekanisme ekstraseluler trombosit seperti fibrinolisis dan degradasi matriks ekstraseluler (Twomey et al., 2018).



Gambar 1. Struktur Trombosit , platelet inaktif dan platelet aktif menggunakan mikroskop elektron  
Sumber : (James N George, 2000)

### **a.1 Surface receptors**

Lapisan membran plasma Trombosit tersusun atas lapisan fosfolipid yang terdiri atas kolestrol, glikolipid,dan glikoprotein (Thon and Italiano,

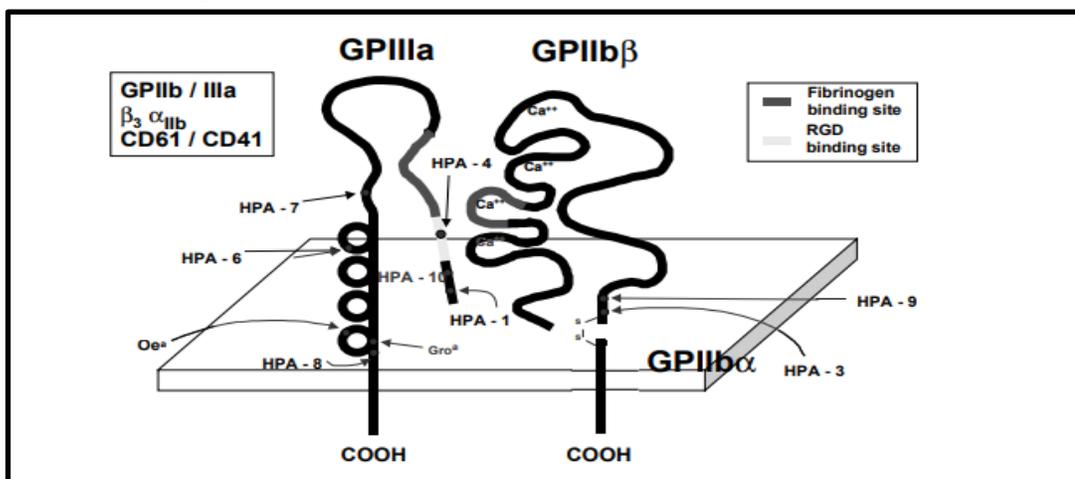
2012). Berbeda dengan struktur eritrosit, pada trombosit komponen tersebut di permukaan trombosit ketika teraktifasi, trombosit akan berubah bentuk cakram menjadi bentuk sferis dengan lengan dendritik yang memanjang (gambar 1) (James N George, 2000).

Trombosit mengekspresikan berbagai macam reseptor pada permukaan membran, yang memiliki fungsi sangat penting untuk platelet (Twomey et al., 2018). Beberapa reseptor utama termasuk integrin, *leucinerich repeat receptors*, (Glikoprotein GPIb / IX / V, Toll like Receptor (TLR)), reseptor lektin tipe-C (P-Selectin, CLEC-2), reseptor tirosin kinase (Ephrins dan Eph kinase), beberapa protein imunoglobulin (GPVI, FcγRIIA) (Twomey et al., 2018).

Membran Reseptor glikoprotein trombosit berfungsi untuk memediasi adhesi jaringan subendotel kemudian agregasi pada hemostasis primer (James N George, 2000). Glikoprotein Ib-V-IX adalah merupakan reseptor aktif faktor von Willebrand (VWF), menyebabkan terjadinya segera perlekatan trombosit ke von Willebrand ketika terpapar faktor Willebrand (James N George, 2000). Glikoprotein Ia-IIa, merupakan reseptor aktif untuk kolagen, juga terlibat di awal adhesi trombosit ke matriks subendotel. Glikoprotein IIb-IIIa, membutuhkan perubahan konformasi selama trombositaktivasi untuk mengekspresikan fungsi reseptor, terutama untuk fibrinogen (James N George, 2000). Fibrinogen mengikat glikoprotein IIb-IIIa memediasi terjadinya agregasi trombosit (James N George, 2000).

## a.2 Platelet membrane glycoproteins (GP)

Autoantibodi Antigen target trombosit paling sering dipelajari dalam kompleks GP IIb/IIIa dan GP Ib/IX. GP IIb/IIIa dan GP Ib/IX telah diakui sebagai glikoprotein trombosit yang paling imunogenik, membawa beberapa autoepitop, serta aloantigen yang diketahui, polimorfisme yang penting secara klinis, Sistem Antigen Trombosit Manusia (HPA) digunakan sebagai nomenklatur untuk aloantigen spesifik trombosit (Joutsu-Korhonen, 2000). GP IIb/IIIa merupakan anggota dari superfamili integrin, yang terdiri dari  $\alpha$  dan  $\beta$  heterodimer. Kompleks GP IIb/IIIa diperlukan untuk agregasi trombosit normal. Kompleks ini tidak hanya berfungsi sebagai perekat pada fibrinogen, tetapi juga pada protein perekat lainnya, seperti fibronektin, vitronektin dan faktor von Willebrand. Kompleks GP IIb/IIIa muncul sangat awal pada tahap promegakarioblastik, dan dianggap sebagai penanda paling awal dari garis keturunan megakariosit (Joutsu-Korhonen, 2000).



Gambar 2 ; Kompleks glikoprotein trombosit GP IIb IIIa. Diindikasikan sebagai antigen trombosit manusia (HPA)  
Sumber : (Joutsu-Korhonen, 2000)

### **a.3 Human Platelet Antigen**

*Human Platelet Antigen* (HPA) merupakan bentuk polimorfisme yang terjadi pada glikoprotein dan membran trombosit, hingga saat ini, telah dilaporkan terdapat , 33 HPA diekspresikan pada trombosit yang berbeda glikoprotein, GPIIb, GPIIIa, GPIIb, GPIIb, GPIIb, GPIIb dan CD109. Sistem tata nama HPA dibuat sesuai dengan urutan penemuan, dengan antigen frekuensi yang lebih tinggi yang disebut ' $\alpha$ ' dan antigen frekuensi yang lebih rendah yang ditunjuk ' $\beta$ '.(Curtis and McFarland, 2014) (Tan et al., 2012)

Residu asam amino polimorfik di daerah alel hipervariabel dari molekul HPA telah terbukti memainkan peran penting dalam menentukan kerentanan atau resistensi terhadap penyakit autoimun. Molekul biasanya menyajikan fragmen peptida antigen ke sel T (Joutsu-Korhonen, 2000). Molekul HLA yang berbeda memiliki sifat pengikatan peptida yang berbeda dan selektif untuk sel T tertentu. Karena sel T memiliki peran yang beragam dan sentral dalam sistem kekebalan, perbedaan dalam molekul HLA dapat berkontribusi pada perkembangan penyakit autoimun, oleh karena itu, banyak penyakit autoimun telah dikaitkan dengan alel histokompatibilitas utama tertentu (Joutsu-Korhonen, 2000). Nomenklatur HPA saat ini mengenali 21 sistem biallelic HPA, yang semuanya ditentukan oleh substitusi asam amino tunggal, umumnya disebabkan oleh *single nucleotide polymorphisme* (SNP) dalam gen yang mengkode membran glikoprotein trombosit (Tan et al., 2012). Seperti pada polimorfisme lainnya yang menghasilkan epitop yang dikenali

oleh efektor Sel-T dan sel-B, dengan demikian menunjukkan peranan penting dalam imunogenisitas (Mangerona et al., 2015). Pengetahuan Genotipe HPA pada donor darah dan pembentukan registrasi pada donor untuk HPA berguna untuk mengelola aloimun spesifik trombosit dan membantu untuk memfasilitasi pemilihan jenis HPA yang cocok untuk pasien yang memiliki alel langka.(Tan et al., 2012)

Frekuensi HPA yang sudah banyak dipelajari pada populasi ras Kaukasia,namun perlu diketahui bahwa frekuensi HPA cukup bervariasi pada kelompok ras dan etnis lain juga.(Curtis and McFarland, 2014). Penelitian yang dilakukan oleh (Muhiddin et al., 2019)Rachmawati M., Mansyur A., 2019, pada populasi donor di Makassar, menunjukkan frekuensi HPA-1 $\alpha$  (100%), HPA-2 $\alpha$  (100%), HPA-2 $\beta$  (80,83%), HPA-3 $\alpha$  (75,83%), HPA-3 $\beta$  (57,5%), HPA4 $\alpha$  (99,17%), dan HPA-5 $\alpha$  (39,17%) sampel penelitian mewakili semua suku (Bugis, Makassar, Mandar, dan Toraja) di Makassar. (Muhiddin *et al.*, 2019)

Human Platelet Antigen-3a adalah paling sering ditemukan pada alloimunisasi pada orang kulit putih. Frekuensi tertinggi HPA-5 $\beta$  ditemukan di Afrika Tengah, Aborigin, Afrika Utara, dan orang Amerika kulit hitam. Frekuensi rendah ditemukan pada kulit putih dan orang Asia Tenggara, dan frekuensi terendah pada orang Asia, Amerindians, dan Amerika utara. (Kunichi TJ, 2007).

Tabel 1. Tata nama Human Platelet Antigen

Biallelic HPA						
Antigens	Allele frequency <sup>a</sup>			Glycoprotein / Amino acid change	Encoding gene / Nucleotide change	Immune platelet disorder reports
	Caucasian (%)	African (%)	Asian (%)			
HPA-1a	72 a/a	90	100	GPIIIa / L33P	<i>ITGB3</i> / T196C	FNAIT, PTP, MPR
HPA-1b	26 a/b 2 b/b	10	0			
HPA-2a	85 a/a	71	95	GPIIb $\alpha$ / T145M	<i>GPIBA</i> / C524T	FNAIT, PTP, MPR
HPA-2b	14 a/b 1 b/b	29	5			
HPA-3a	37 a/a	68	59.5	GPIIb / I843S	<i>ITGA2B</i> / T2621G	FNAIT, PTP, MPR
HPA-3b	48 a/b 15 b/b	32	40.5			
HPA-4a	>99.9 a/a	100	99.5	GPIIIa / R143Q	<i>ITGB3</i> / G526A	FNAIT, PTP, MPR
HPA-4b	< 0.1 a/b < 0.1 a/b	0	0.5			

Low frequency HPA:					
Antigens	Phenotypic frequency <sup>a</sup>		Glycoprotein / Amino acid change	Encoding gene / Nucleotide change	Immune platelet disorder reports
	Caucasian (%)				
GPIIb					
HPA-9bw	<1 b/b		GPIIb / V837M	<i>ITGA2B</i> / A2603G	FNAIT
HPA-20bw	<1 b/b		GPIIb / T619M	<i>ITGA2B</i> / C1949T	FNAIT
HPA-22bw	<1 b/b		GPIIb / K164T	<i>ITGA2B</i> / A585C	FNAIT
HPA-24bw	<1 b/b		GPIIb / S472N	<i>ITGA2B</i> / G1508A	FNAIT
HPA-27bw	<1 b/b		GPIIb / L841M	<i>ITGA2B</i> / C2614A	FNAIT
GPIIIa					
HPA-6bw	<1 b/b		GPIIIa / R489Q	<i>ITGB3</i> / A1564G	FNAIT
HPA-7bw	<1 b/b		GPIIIa / P407A	<i>ITGB3</i> / G1317C	FNAIT
HPA-8bw	<1 b/b		GPIIIa / R636C	<i>ITGB3</i> / T2004C	FNAIT
HPA-10bw	<1 b/b		GPIIIa / R62Q	<i>ITGB3</i> / A281G	FNAIT
HPA-11bw	<1 b/b		GPIIIa / R633H	<i>ITGB3</i> / A1996G	FNAIT
HPA-14bw	<1 b/b		GPIIIa / K611del	<i>ITGB3</i> / AAG1929-31	FNAIT
HPA-16bw	<1 b/b		GPIIIa / T140I	<i>ITGB3</i> / C517T	FNAIT
HPA-17bw	<1 b/b		GPIIIa / T195M	<i>ITGB3</i> / C622T	FNAIT
HPA-19bw	<1 b/b		GPIIIa / K137Q	<i>ITGB3</i> / A487C	FNAIT
HPA-21bw	<1 b/b		GPIIIa / E628K	<i>ITGB3</i> / G1960A	FNAIT
HPA-23bw	<1 b/b		GPIIIa / R622W	<i>ITGB3</i> / C1942T	FNAIT
HPA-26bw	<1 b/b		GPIIIa / K580N	<i>ITGB3</i> / G1818T	FNAIT
GPIb					
HPA-12bw	<1 b/b		GPIb $\beta$ / G15E	<i>GPIBB</i> / A141G	FNAIT
GPIa					
HPA-13bw	<1 b/b		GPIa / M799T	<i>ITGA2</i> / T2531C	FNAIT
HPA-18bw	<1 b/b		GPIa / Q716H	<i>ITGA2</i> / G2235T	FNAIT
HPA-25bw	<1 b/b		GPIa / T187M	<i>ITGA2</i> / C3347T	FNAIT

Sumber : (Curtis and McFarland, 2014)

## 2.2 Fungsi Trombosit

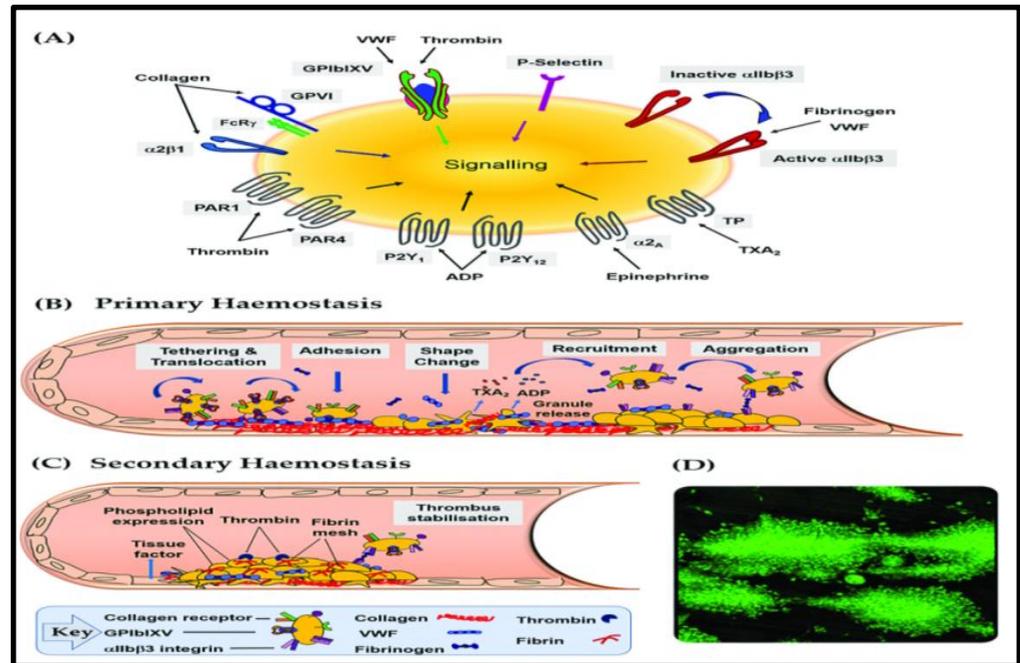
### a. Fungsi Hemostasis

Trombosit berperan penting dalam proses hemostasis dan trombosis (Twomey *et al.*, 2018). Hemostasis dapat di bagi menjadi hemostasis primer dan hemostasis sekunder (Twomey *et al.*, 2018). ( gambar 2 )

Trombosit mencegah kehilangan darah pada hemostasis primer, proses fisiologis yang menghentikan pendarahan pada pembuluh darah yang terluka, sambil mempertahankan darah normal mengalir di tempat lain dalam sirkulasi, dengan pembentukan '*platelet plug*'. Hemostasis sekunder mengacu pada deposit fibrin yang tidak terlarut yang dihasilkan pada proses kaskade koagulasi (Twomey *et al.*, 2018).

Sebagai proses akhir, adalah proses fibrinolisis yang menghasilkan pemecahan terhadap sumbat trombosit selama penyembuhan luka yang melibatkan:interaksi sejumlah enzim Proses ini dicapai melalui tiga proses yang berbeda — adhesi trombosit,aktivasi dan sekresi trombosit, dan agregasi trombosit (Twomey *et al.*, 2018).

Selain peran utama dalam hemostasis, trombosit memiliki beberapa fungsi lain. Trombosit berpartisipasi dalam pembentukan respon inflamasi dengan melepaskan faktor-faktor yang meningkatkan permeabilitas pembuluh darah dan menarik granulosit. Granul- $\alpha$  trombosit mengandung faktor mitogenik yang dapat meningkatkan regenerasi sel endotel yang rusak/terlepas.



Gambar 3: Mekanisme Hemostasis Trombosit  
 Sumber : (Twomey et al., 2018).

Keterangan :

- Diagram yang menunjukkan reseptor membran trombosit yang terlibat dalam fungsi trombosit di hemostasis dan trombosis
- Fase yang berbeda dari fungsi trombosit pada hemostasis primer: agregasi dan adhesi trombosit awal pada situs kerusakan vaskular, adhesi kuat dan perubahan bentuk, aktivasi, sekresi granul dan perekrutan lebih lanjut trombosit yang mengarah ke agregasi trombosit.
- Hemostasis sekunder: Pembentukan, deposisi dan ikatan silang yang tidak larut
- Gambar agregat trombosit(berlabel fluoresen, hijau)

Sumber : (Twomey et al., 2018)

### b. Fungsi Adhesi

Setelah terjadinya cedera pada pembuluh darah, trombosit melekat pada jaringan ikat subendotel yang terbuka. Trombosit menjadi aktif apabila terpajan ke kolagen subendotel dan bagian jaringan yang cedera. Adhesi trombosit melibatkan interaksi antara membran glikoprotein trombosit dan

jaringan yang terpajan atau cedera (Holinstat, 2017). Adhesi trombosit bergantung pada faktor protein plasma yang disebut faktor von Willebrand, yang memiliki hubungan yang integral dan kompleks dengan faktor koagulasi antihemofilia VIII plasma dan reseptor trombosit yang disebut membran glikoprotein Ib trombosit (Holinstat, 2017). Adhesi trombosit berhubungan dengan peningkatan daya lekat trombosit sehingga trombosit berlekatan satu sama lain serta dengan endotel (Twomey et al., 2018).

### **c. Fungsi Agreggasi**

Hasil akhir pada hemostasis primer adalah agregasi platelet, yang disebabkan oleh ikatan silang  $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$  pada trombosit yang berdekatan oleh fibrinogen (Gambar 2). Sedangkan agregasi trombosit bersifat kompleks prosesnya melibatkan reseptor yang berbeda ( $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$  dan  $\text{GPIIb}\alpha$ ) dan ligan (fibrinogen, fibronectin, dan vWF), proses utama melibatkan integrin tersebut  $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$  (Twomey et al., 2018).

Integrin  $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$  memiliki afinitas rendah untuk ligan fibrinogen dan vWF pada trombosit yang inaktif, secara bertahap akan meningkatkan aktivasi trombosit. Pengikatan agonis utama ke reseptor masing-masing menginduksi sinyal intraseluler yang mengganggu kompleks antara tepi sitoplasma  $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$  (Twomey et al., 2018). Secara *In vitro*, agregasi dapat dipicu dengan reagen ADP, thrombin, epinefrin, serotonin, kolagen atau antibiotik ristocetin.

Aktivasi  $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$  menyebabkan terjadinya agregasi ireversibel trombosit (Twomey et al., 2018).  $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$  memiliki peranan penting dalam agregasi

platelet, yang berfungsi sebagai penghubung antara reseptor platelet dengan ligannya sehingga terbentuk agregasi (Twomey et al., 2018). Beberapa di antaranya terdiri dari interaksi ligan CD40 dengan  $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ , kompleks vWF-GPIb, dan keterlibatan fibronektin dalam menstabilkan platelet agregasi (Twomey et al., 2018).

Setelah stimulasi trombosit oleh ADP, sinyal dari reseptor ADP ditransmisikan ke domain intraseluler sitoplasma  $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$  dan kemudian ditransmisikan melalui sebuah seri ekstraseluler domain (inside-out) menyebabkan perubahan konformasi pada domain ekstraseluler untuk mengikat ligannya (Twomey et al., 2018). Adanya sinyal ( *inside dan out* ) memerlukan pengikatan talin dan kindlin ke sitoplasma domain dari  $\beta\text{3}$  (Twomey et al., 2018).

## **2.3 Immune Thrombocytopenia (ITP)**

### **2.3.1 Definisi**

*Immune thrombocytopenia* pertama kali diperkenalkan oleh seorang dokter Jerman yaitu Paul Gootlieb Werholf, yang kemudian dikenal sebagai *Werholf disease* (Stasi, 2011) (Aert et al., 2011). Tahun 1951 William J Harrington dan James W Hollingsworth membuktikan bahwa ITP merupakan suatu kondisi autoimun (Aert et al., 2011). *Immune thrombocytopenia* awalnya merupakan singkatan *idiopathic thrombocytopenic*, yang kemudian berubah menjadi *immune thrombocytopenic purpura* (Stasi, 2011). Banyak pasien tidak memiliki gejala purpura dan perdarahan, sehingga disepakati

bahwa istilah purpura tidak digunakan lagi dan saat ini telah disepakati bahwa ITP merupakan singkatan *immune thrombocytopenia* (Kistangari and McCrae, 2013a; Neunert et al., 2011). *Immune thrombocytopenia* merupakan suatu gangguan autoimun yang didapat dengan ditandai dengan trombositopenia terisolasi dengan tidak adanya kondisi yang diketahui sebagai penyebab trombositopenia, misalnya seperti infeksi, gangguan autoimun lainnya, obat-obatan, dll (Stasi, 2011).

Manifestasi dari ITP dapat berupa perdarahan lokal pada kulit atau membran mukosa yang biasanya sedikit atau tidak ada klinis konsekuensi (petekie, purpura, ekimosis, epistaksis (Stasi, 2011)). Penyakit ini terbagi menjadi dua kategori, yaitu ITP primer dan sekunder, tergantung penyebab (Swinkels et al., 2018). Selain itu, terdapat kategori lain yang dapat menentukan jenis terapi, yaitu ITP yang baru terdiagnosis, ITP kronis, ITP persisten, dan ITP berat (Wijaya, 2020). Terdapat dua mekanisme dasar yang dapat menyebabkan terjadi penurunan jumlah trombosit, yaitu penurunan produksi trombosit dan peningkatan destruksi trombosit (Stasi, 2012).

*Immune thrombocytopenia* didefinisikan sebagai kondisi trombositopenia dengan jumlah trombosit kurang dari  $100 \times 10^9/L$  (Kistangari and McCrae, 2013a) (Neunert et al., 2011). Berdasarkan *International Working Group* (IWG) ITP didefinisikan sebagai *newly diagnosis* jika kondisi trombositopenia berlangsung hingga 3 bulan, ITP persisten jika

perlangsungan terjadi 3-12 bulan sejak diagnosis awal, dan ITP kronik jika perlangsungan lebih dari 12 bulan (McCRAE, 2011; Neunert et al., 2011). *Severe* ITP didefinisikan sebagai suatu kondisi perdarahan yang cukup massif dan segera membutuhkan pengobatan intervensi terapeutik (McCRAE, 2011).

Tabel 2 . Kategori ITP menurut *International Working Group*

Kategori ITP	
ITP primer	Tidak ditemukan faktor lain yang menyebabkan trombositopenia
ITP sekunder	Dapat terjadi akibat penyakit atau kondisi lain yang mendasari terjadinya trombositopenia
ITP yang baru terdiagnosis	Merujuk pada kasus ITP yang baru terdiagnosis dalam 3 bulan
ITP persisten	Merujuk pada kasus ITP yang terdiagnosis 3 – 12 bulan sebelumnya
ITP kronis	Kasus ITP yang sudah lebih dari 12 bulan
ITP berat	Muncul gejala perdarahan yang membutuhkan terapi atau gejala perdarahan baru yang membutuhkan intervensi tambahan atau peningkatan dosis terapi

Sumber : (Wijaya, 2020)

*Immune thrombocytopenia* dapat disebabkan oleh adanya anti platelet autoantibodi, kerusakan platelet yang dimediasi oleh sel T dan gangguan fungsi megakariosit (McCRAE, 2011; Zufferey et al., 2017a). ITP sekunder adalah kondisi trombositopenia yang dipicu oleh adanya faktor predisposisi penyakit yang diturunkan atau didapat seperti infeksi kronis, termasuk *Helicobacter pylori* dan human immunodefisiensi virus (HIV), atau penyakit autoimun seperti lupus eritematosus sistemik atau artritis reumatoid, sindrom Wiskott-Aldrich, kronik limfositik leukemia, sindrom antifosfolipid dan

penggunaan beberapa obat seperti golongan kuinin dan Sulfametazole (McCRAE, 2011; Zufferey et al., 2017a). Pada kasus infeksi, kemungkinan antigen virus dikenali sebagai serupa dengan antigen platelet, suatu proses yang disebut mimikri molekuler, yang kemudian menimbulkan reaksi silang autoantibodi anti-platelet (Zufferey et al., 2017a).

### **2.3.2 Epidemiologi**

*Immune thrombocytopenia* dapat terjadi pada semua jenis kelamin, ras, dan usia. (Aert et al., 2011) Beberapa penelitian sebelumnya gangguan ITP sering ditemukan pada jenis kelamin wanita pada usia dekade ketiga dan kedua (McCRAE, 2011). Insiden kejadian ITP antara 1.9-6.4 per 100.000 anak/ tahun dan 3,3 – 3,9 per 100.000 dewasa / tahun dan angka ini meningkat tiap tahunnya (Swinkels et al., 2018). Dari analisis data *Maryland Health Care Commission*, prevalensi ITP di Amerika Serikat adalah 9,5 kasus per 100.000 anak usia 1 – 5 tahun, 7,3 kasus per 100.000 anak pada usia 6 – 10 tahun, dan 4,1 kasus per 100.000 anak usia 11 – 14 tahun (Kistangari and McCrae, 2013a; Michel, 2009). Insiden di Eropa Utara per tahun mencapai 2,68 kasus per 100.000 orang (Michel, 2009). Angka di Indonesia, Insiden ITP akut pada anak, 4 – 5,3 kasus per 100.000 per tahun, distribusi hampir sama antara pria (52%) dan wanita (48%). Sekitar 7 – 28% anak-anak dengan ITP akut berkembang menjadi ITP kronik, sehingga diperkirakan terjadi pada 3 – 4 dari 100.000 kasus ITP dewasa per tahun (Perhimpunan Dokter Spesialis Penyakit Dalam Indonesia, 2007). Insiden ITP meningkat

pada dewasa seiring dengan bertambahnya umur, antara umur 18 sampai 65 tahun dan pada wanita lebih banyak dibandingkan dengan pria (2,6 : 1). (Hashemi, et al, 2011)

### **2.3.3 Etiopatofisiologi**

Berdasarkan etiologi, ITP dapat dikategorikan menjadi ITP primer dan sekunder. ITP primer merupakan jenis ITP terbanyak, tidak ditemukan adanya kondisi atau penyakit yang mendasari terjadinya ITP (McCRAE, 2011). Penurunan produksi trombosit dapat disebabkan antara lain oleh karena hipoplasia atau penekanan pada megakariosit (Joutsu-Korhonen, 2000). Produksi trombosit yang tidak efektif atau tidak mencukupi atau cacat dalam regulasi trombopoiesis juga dapat menyebabkan penurunan produksi trombosit.(Joutsu-Korhonen, 2000). Peningkatan destruksi trombosit perifer mungkin disebabkan oleh banyak kondisi, dan biasanya melibatkan proses imunologi (Joutsu-Korhonen, 2000). Autoimun trombositopenia lebih sering ditemui daripada kondisi alloimun. Pemanfaatan trombosit dalam trombus intravaskular atau pada permukaan endotel yang rusak, seperti yang ada di diseminata koagulasi intravaskular, dianggap sebagai proses non-imunologis yang menyebabkan trombositopenia (Joutsu-Korhonen, 2000).

Imun trombositopenia primer paling banyak disebabkan karena adanya autoantibodi IgG anti platelet (Swinkels et al., 2018; Zufferey et al., 2017a). imunoglobulin g (IgG) berikatan dengan glikoprotein GPIIb/IIIa di permukaan trombosit dan GPIb/IX-V yang banyak terdapat pada permukaan

megakariosit (Zufferey, Kapur and Semple, 2017; Vrbensky et al., 2019) Membran plasma trombosit terdiri dari banyak glikoprotein (GP) dan fosfolipid. glikoprotein pada permukaan trombosit terbanyak adalah GPIIb-IIIa, GPIa-IIa, dan GPIb-IX (Muhiddin et al., 2019). Dua puluh empat HPA telah diidentifikasi secara serologis, dan dasar molekuler dari 22 di antaranya telah diidentifikasi. Dua belas anti-HPA dikelompokkan menjadi enam binomial (HPA1a / 1b, 2a / 2b, 3a / 3b, 4a / 4b, 5a / 5b, dan 15a / 15b) (Muhiddin et al., 2019).

Terdapat dua faktor utama yang berhubungan dengan kejadian ITP antara lain faktor genetik dan faktor lingkungan. (Audia et al., 2017)

#### a. Faktor genetik

Berdasarkan beberapa temuan sebelumnya, telah dilaporkan bahwa adanya keterlibatan faktor genetik dengan kejadian ITP (Audia et al., 2017) . Dilaporkan adanya reseptor terhadap polimorfisme pada *Major Histocompatibility (MHC)*, reseptor Fcγ (FcγR) , *transcription factors*, kemokines , Sitokin pro inflamasi dikaitkan dengan angka kejadian ITP, juga adanya protein regulator polimorfisme seperti fosfatase PTPN22 juga dilaporkan dengan angka kejadian ITP (Audia et al., 2017). Epitop spesifik pada Human platelet antigen (HPA) juga telah dikaitkan dengan ITP akut atau kronis, dilaporkan adanya variasi tingkat beberapa microRNA, non-coding RNA yang mengatur gen pada tingkat pasca-transkripsi, telah dilaporkan sebagai salah satu faktor pada kejadian ITP (Audia et al., 2017).

Variasi mikroRNA ini menyebabkan disregulasi sitokin terlibat dalam respons imun, seperti IFN- $\gamma$ , IL-21, IL18 atau TGF- $\beta$  (Audia et al., 2017).

b. Faktor lingkungan

Mekanisme yang berbeda berpartisipasi dalam proses inisiasi autoimun pada pasien ITP khususnya disebabkan oleh infeksi (Audia et al., 2017). Reaksi antara komponen infeksius dan platelet glikoprotein (GP) telah dibuktikan dengan jelas secara *in vitro* memicu terjadinya terjadinya molekuler mimikri, antara lain yang dilaporkan adalah GP120 HIV atau HCV dan platelet glikoprotein GPIIb / IIIa (Audia et al., 2017).

Analisis teknologi yang baru, beberapa protein virus yang berbeda dari Herpes simpleks virus (HPV) , virus Varicella zoster, Epstein Barr Virus (EBV) , Citomegalovirus (CMV) dengan GP IIb/IIIa dapat dibedakan (Audia et al., 2017). Beberapa peptida yang berasal dari protein ini dikenali oleh antiplatelet antibodi *in vitro*. (Audia et al., 2017) Mimikri molekuler dapat terlibat terutama pada ITP sekunder, terhitung 70%, 50% dan 30% dari CMV neonatal, EBV dan infeksi HIV, memicu respon autoimun yang selanjutnya (Audia et al., 2017). *Toll* like receptor sebagai media perantara agen infeksi juga dikaitkan dengan kejadian ITP sebagai contoh *Tool* like receptor 7 (TLR7), mengenali RNA virus ikut terlibat dalam patogenesis terjadinya ITP (Audia et al., 2017). Stimulasi TLR7 yang diekspresikan pada APC dalam hal ini termasuk sel dendritik, makrofag, bertanggung jawab untuk peningkatan

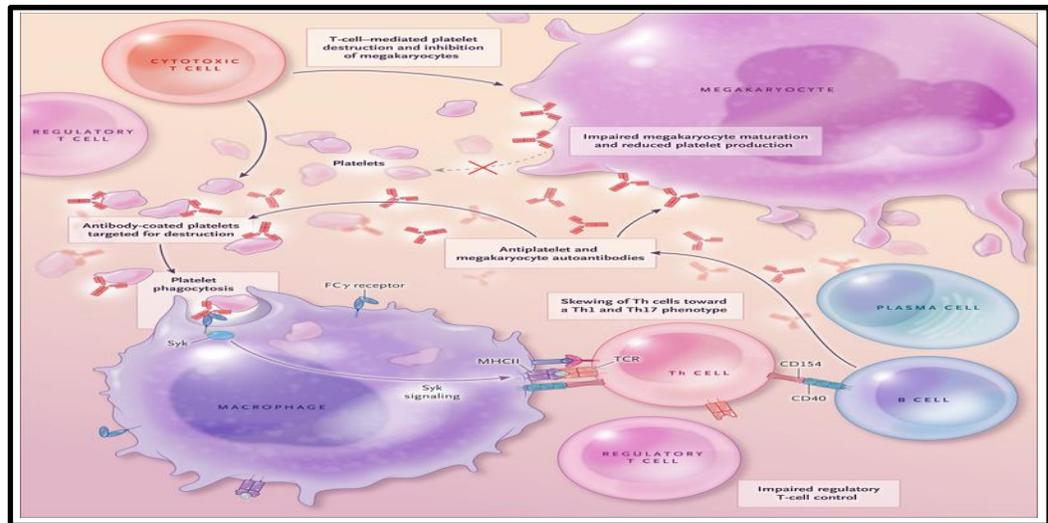
dalam sekresi BAFF (*B cell activating factor*) yang menstimulasi sel B autoreaktif, sehingga meningkatkan produksi antibodi antiplatelet (Audia et al., 2017).

Patofisiologi ITP masih belum dipahami sepenuhnya (Gambar 3). Konsep sederhana adalah adanya ikatan antibodi dengan glikoprotein di permukaan trombosit yang memicu peningkatan destruksi trombosit di limpa, dan hepar terjadi sebelum waktu hidup trombosit yang diperantarai oleh reseptor Fcγ (Cooper and Ghanima, 2019). Autoantibodi juga dapat menginduksi mediasi komplemen atau desialilasi destruksi trombosit dan juga menghambat fungsi megakariosit, pada 40-50% pasien ITP antibodi antiplatelet tidak terdeteksi, terdapat dua pendapat dalam hal ini yaitu jumlah produksi antibodi yang kurang atau kemampuan dari tes untuk menguji adanya antibodi yang kurang, hal tersebut menggambarkan adanya alternatif lain yang menyebabkan terjadinya destruksi trombosit (Cooper and Ghanima, 2019; Zufferey et al., 2017b).

Abnormalitas pada Sel T telah digambarkan terhadap destruksi trombosit, Sel T *helper* (Th) dianggap memiliki peranan cukup penting dalam hal ini adalah Th1 dan sel Th 17 serta disfungsi regulator, yang bisa mendorong peningkatan proses autoimun (Cooper and Ghanima, 2019). Respon imun terhadap adanya autoantibodi akan di terima oleh APC (*Agent presenting cell*) (sel dendritik, makrofag,) dan kemudian akan di prenetasikan MHC I dan MHC II.(Cooper and Ghanima, 2019) MHC II melalui *T-Cell receptor*

yang kemudian menstimulasi sel T autoreaktif terlibat dalam proses destruksi trombosit dan megakariosit, yang akan membentuk ikatan ligan seperti (CD40/CD154 atau B7/C28), ikatan yang terjadi akan menyebabkan sel T teraktivasi yang akan menstimulasi produksi beberapa sitokin dan imunomodulator lainnya (McMillan, 2007) (Joutsu-Korhonen, 2000). CD4<sup>+</sup> dan sel T helper yang diaktifasi akan merangsang proliferasi dan diferensiasi sel B untuk memproduksi antibodi, selain itu adanya autoantibodi juga di tangkap oleh APC yang kemudian di ekspresikan oleh MHC I yang akan menstimulasi T sel regulator yang akan merangsang sel T sitotoksik (CD8<sup>+</sup>) yang akan bekerja langsung terhadap destruksi trombosit dan megakariosit (McMillan, 2007).

Pasien ITP akan memproduksi antibodi IgG anti platelet (jarang antibody IgM atau IgA ) yang akan berikatan dengan trombosit yang akan memicu fagositosis di limpa dan Hati (Zufferey et al., 2017b) antibodi ini sering berikatan dengan glikoprotein (GP) pada permukaan trombosit khususnya GPIIb/IIIa dan GPIb-IX-V namun pada 30-40% pasien ITP tidak terdeteksi kemungkinan disebabkan oleh sensitifitas antibody yang digunakan ataupun oleh karena mekanisme imun Sel T yang belum diketahui (Zufferey et al., 2017b)



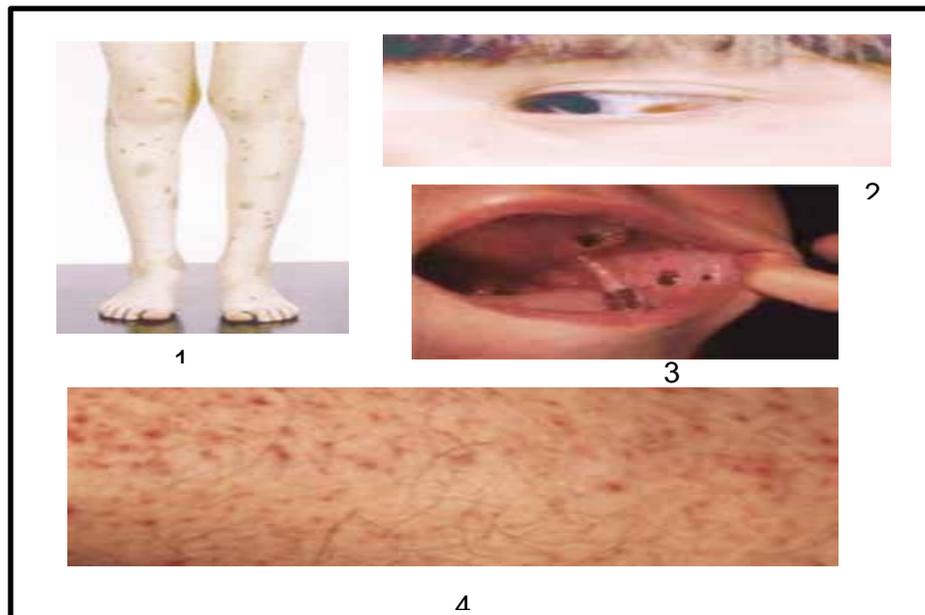
Gambar 4. Patofisiologi ITP  
 Sumber : Cooper, Ghanima 2019)

### 2.3.4 Manifestasi Klinis

Tanda dan gejala pada *ITP* memiliki variasi yang berbeda-beda, hampir 25% pasien *ITP* tidak memberikan gejala yang khas dan biasanya terdiagnosa setelah melakukan pemeriksaan darah rutin (Aert et al., 2011). Perdarahan merupakan manifestasi klinis yang paling sering. Perdarahan dapat terjadi pada mukokutaneus seperti rongga mulut dan kulit. Perdarahan kulit dapat berupa purpura tanpa penyebab yang jelas yang biasanya ditemukan pada lutut dan sering kali ditemukan pada kedua lengan dan siku, pada mukosa dapat berupa mimisan, gusi berdarah, dan perdarahan saluran gastrointestinal, perdarahan pada saluran urogenital dan perdarahan menstruasi yang berlangsung lama (Aert et al., 2011; Kistangari and McCrae, 2013a). Perdarahan intrakranial dan saluran cerna sangat jarang namun cukup berbahaya. Perdarahan intrakranial memiliki insidens kurang dari 0,2% dan terjadi pada jumlah trombosit kurang dari 10.000/ $\mu$ L (Kistangari and

McCrae, 2013a; Matzdorff et al., 2018; Swinkels et al., 2018).

Keluhan lain yang sering diabaikan adalah kelelahan (fatigue). Gejala ini bisa terjadi pada pasien ITP dengan trombosit di bawah 10.000/  $\mu$ L, perdarahan, serta terapi steroid. Beberapa penelitian menyebutkan bahwa rasa lelah dapat dipengaruhi oleh meningkatnya sitokin inflamasi seperti IL-2 dan IFN- $\gamma$ . Pasien ITP memiliki risiko tromboemboli disebabkan peningkatan antiphospholipid antibodies (APLA) (Kistangari and McCrae, 2013a).



Gambar 5: manifestasi klinis pada pasien ITP.  
Keterangan 1. Purpura dan Hematoma 2. Hemoragik konjungtiva,  
3. perdarahan mukosa 4. Petekie  
Sumber : (Aert et al., 2011)

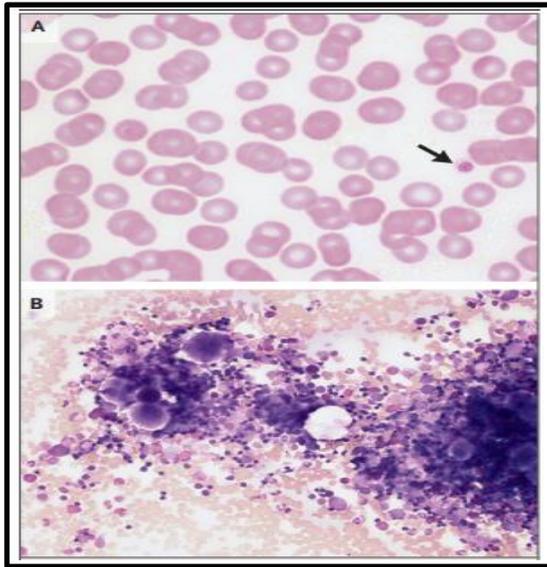
### 2.3.5 Diagnosis

Belum ada p  
pasti ITP, penentuan diagnosis melalui beberapa pemeriksaan dasar seperti anamnesis, pemeriksaan fisik, pemeriksaan darah tepi, dan pemeriksaan sumsum tulang belakang (Aert et al., 2011; McCRAE, 2011; Wijaya, 2020).

Anamnesis untuk riwayat keluarga, riwayat perdarahan, riwayat penyakit sebelumnya, serta penggunaan obat-obatan. Pemeriksaan fisik lengkap terutama pada bagian-bagian tubuh yang sering mengalami perdarahan seperti mukokutan dan persendian; namun pada sebagian besar pasien ITP tidak didapati kelainan pada pemeriksaan fisik (Stasi, 2012). Pada pasien ITP juga perlu dicari adanya limfadenopati atau splenomegali untuk menyingkirkan keganasan seperti gangguan limfoproliferatif (McCRAE, 2011). Pada pasien dewasa perlu dilakukan pemeriksaan HCV dan HIV untuk menyingkirkan kemungkinan ITP sekunder (Neunert et al., 2011).

Pemeriksaan laboratorium apusan darah tepi merupakan pemeriksaan sederhana yang sangat penting. ITP ditandai dengan menurunnya jumlah trombosit terisolasi kurang dari  $100.000/\mu\text{L}$  (Neunert et al., 2011). Trombositopenia terisolasi didefinisikan sebagai trombositopenia tanpa gangguan morfologi serta jumlah eritrosit dan leukosit (Stasi, 2011).

Menurut *American Society of Hematology*, pemeriksaan sumsum tulang belakang tidak perlu karena pemeriksaan apusan darah tepi yang cermat sudah dapat menegakkan diagnosis ITP (Neunert et al., 2011). Pada pemeriksaan sumsum tulang belakang, dapat ditemukan jumlah megakariosit meningkat atau normal, dapat terjadi peningkatan jumlah megakariosit imatur (Kistangari and McCrae, 2013a).



Keterangan gambar:  
 Apusan Darah Perifer dan Sumsum Tulang dan Aspirasi dari Pasien dengan ITP.  
**Gambar A** menunjukkan pemeriksaan Apusan darah tepi trombositopenia (hanya satu trombosit [panah] dengan eritrosit normal).  
**Gambar B** menunjukkan pemeriksaan BMP pada pasien dengan ITP, dengan seluleritas yang baik, atau perkembangan mal eritroid dan sel myeloid, dengan peningkatan jumlah megakariosit

Gambar 6 : Apusan Darah Perifer dan Sumsum Tulang dan Aspirasi dari Pasien dengan ITP  
 Sumber : (Cooper and Ghanima, 2019b)

Pemeriksaan anamnesis, pemeriksaan fisik, pemeriksaan darah, dan pemeriksaan apusan darah tepi jika belum memberikan diagnosa yang jelas, diperlukan untuk melakukan investigasi tambahan seperti evaluasi sumsum tulang. Pemeriksaan tersebut membantu diagnosis dalam yang kompleks, meskipun sumsum tulang telah dilaporkan normal dalam beberapa penelitian pasien dengan dugaan ITP, namun demikian, pemeriksaan sumsum tulang direkomendasikan untuk pasien di atas usia 60 tahun dan pada mereka yang pasien yang penyakitnya kambuh setelah selesai remisi, terapi ITP lini pertama yang gagal, atau yang sedang dipertimbangkan untuk splenektomi, sejumlah tes laboratorium khusus juga telah dikembangkan, dengan berbagai tingkat keberhasilan, untuk membantu diagnosis ITP dalam pasien dewasa dengan fitur atipikal. Pada anamnesis, biasanya pasien datang dengan keluhan adanya perdarahan yang terjadi secara tiba-tiba. Lamanya

perdarahan dapat membantu untuk membedakan kasus akut dan kronik, serta tidak terdapatnya gejala sistemik untuk menyingkirkan ITP sekunder. Beberapa tes yang dapat dilakukan antara lain seperti terlihat pada tabel berikut : ( tabel 2)

Tabel 2 : Rekomendasi pemeriksaan pada suspek ITP

Pemeriksaan Dasar	Tes yang berpotensi	Tes yang belum memiliki bukti
Riwayat pasien Riwayat keluarga Pemeriksaan fisis Apusan darah tepi Quantitative immunoglobulin level measurement Bone Marrow puncture Blood group ( rhesus)	<i>Glycoprotein specific antibody</i> <i>Antiphospholipid antibodies</i> <i>Anti- thyroid antibodies and thyroid function</i> <i>Viral Polymerase chain reaction (PCR) for parvovirus and CMV</i>	Trombopoetin <i>Reticulated platelets</i> <i>Platelet –associated immunoglobulin G</i> <i>Platelet survival study</i> <i>serum complement</i>

Sumber : Aerts E et al 2011

### 2.3.6 Pemeriksaan Immunoglobulin G ( IgG pada pasien trombositopenia)

Imun trombositopenia merupakan suatu kondisi jumlah trombosit kurang dari  $100 \times 10^9 / L$  (Hamidpour et al., 2014). Penyebab terjadinya ITP salah satunya dikaitkan dengan adanya autoantiabodi dalam hal ini Ig G yang memiliki reseptor pada permukaan trombosit yaitu GpIIb/IIIa GpIb/IX (Hamidpour et al., 2014). Pemeriksaan IgG anti-HPA cukup sulit dilakukan

dan bukan merupakan salah satu pemeriksaan rutin yang sering dilakukan sehingga karakteristik IgG anti-HPA masih memiliki beberapa pertanyaan yang belum terjawab. (Hamidpour et al., 2014)

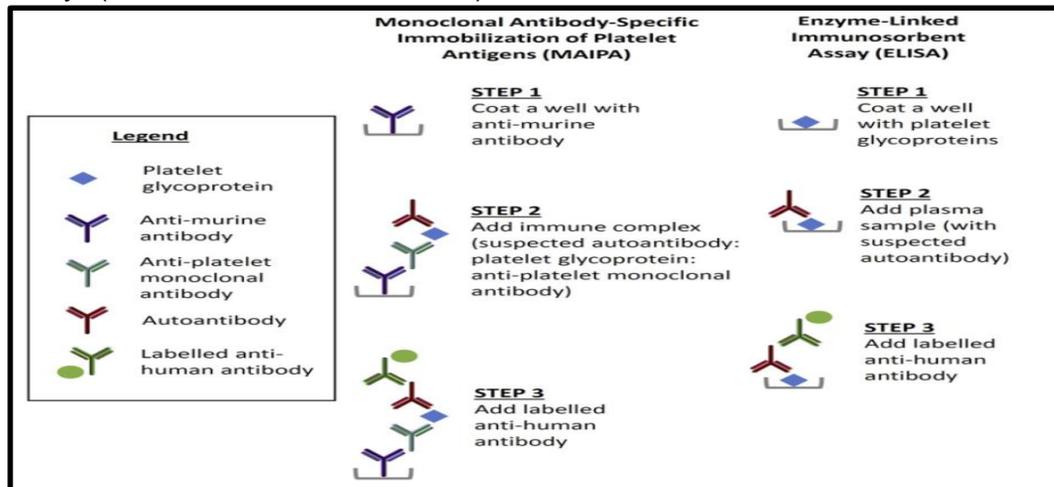
Berdasarkan pedoman *American Society of Hematology (ASH)* untuk ITP menyatakan bahwa pengujian serologis tidak diperlukan, dengan asumsi temuan klinis sesuai dengan diagnosis; tes antibodi trombosit dapat membantu dalam evaluasi untuk pasien yang diduga menderita ITP ketika penyebab trombositopenia non-imun lainnya berada didiagnosis banding (McFarland, 2003). Tujuan pengujian serologis pada ITP adalah untuk mendeteksi autoantibodi yang terikat pada trombosit pasien sendiri yang dirancang untuk mendeteksi imunoglobulin yang mengikat epitop spesifik trombosit yang ditemukan pada kompleks glikoprotein trombosit GPIIb/IIIa, GPIa/IIa, GPIb/IX. (McFarland, 2003)

Pemeriksaan terhadap *antiplatelet autoantibodi* dimulai sejak tahun 1950 yang berkembang melalui 3 fase (Alvina, 2011). Metode awal yang digunakan adalah *indirect* yang dikembangkan untuk mengukur *adanya antiplatelet autoantibodies* pada serum, serum pasien dicampurkan dengan serum pasien normal dengan hasil dapat berupa agregasi atau terjadi lisis (Alvina, 2011). Metode tersebut memiliki kekurangan yaitu rendahnya sensitivitas dan spesifitas oleh karena banyaknya kandungan substrat dalam serum seperti kompleks imun dan komplemen yang dapat menginduksi terjadinya aktivasi trombosit sehingga dapat menyebabkan hasil positif palsu

(Alvina, 2011). Perkembangan Fase kedua adalah *enzym link Immunosorbent assay* (Elisa) yang mendeteksi ikatan antara trombosit dan imunoglobulin (Alvina, 2011). Fase yang ketiga adalah deteksi spesifik antibodi pada glikoprotein yang dikenal sebagai *modified capture enzyme linked immunosorbant assay* ( MACE), perkembangan dari metode ini kemudian menjadi *monoclonal antibody specific immobilization of platelet antigen assay* ( MAIPA) (Alvina, 2011). Terdapat 2 pemeriksaan yang umum dilakukan untuk mendapatkan konsentrasi Ig G anti-HPA. Pertama adalah *monoclonal antibody specific immobilization of platelets antigen* ( MAIPA) dan *enzyme –linked immunoabsorbant assay* ( ELISA) (John G Kelton et al., 2018)

Pemeriksaan MAIPA dapat mendeteksi autoantibodi secara langsung pada permukaan trombosit atau secara tidak langsung dalam plasma. Langkah pertama MAIPA, *plate* dilapisi dengan antibodi anti-murine. Dalam uji langsung, trombosit pasien yang dicurigai mengandung glikoprotein yang terikat oleh autoantibodi dicampur dengan antibodi monoklonal anti-platelet. (John G Kelton et al., 2018) Untuk pemeriksaan metode MAIPA, trombosit normal dicampur dengan plasma uji pasien untuk memungkinkan mengikat autoantibodi, dalam langkah ketiga, keberadaan autoantibodi dideteksi dengan berlabel *anti human antibody* (John G Kelton et al., 2018). Metode ELISA adalah pengujian tidak langsung di mana plate dilapisi glikoprotein trombosit diikuti dengan sampel plasma uji pasien. Seperti pemeriksaan

metode MAIPA, keberadaan autoantibody dideteksi dengan label anti-human antibody. (John G Kelton et al., 2018) Gambar 5



Gambar 7 : Tahapan deteksi IgG anti-HPA menggunakan metode MAIPA dan ELISA  
Sumber : ( Kelton ,JG et al 2018)

### 2.3.7 Penatalaksanaan

Pasien anak yang baru didiagnosis ITP dan tidak memiliki gejala perdarahan atau perdarahan ringan (misalnya perdarahan kulit) tidak membutuhkan terapi spesifik dan disarankan istirahat total (bed rest). Pasien dewasa yang baru terdiagnosis ITP dengan jumlah trombosit di bawah  $30 \times 10^9 / L$  membutuhkan terapi walaupun tanpa perdarahan mukosa (Neunert et al., 2011). Angka morbiditas dan mortalitas pasien dewasa meningkat sehingga membutuhkan tatalaksana yang lebih kompleks dibandingkan pasien anak. Hal ini karena banyak pasien ITP dewasa berkembang menjadi kasus kronis dan risiko perdarahan menjadi lebih besar (Neunert et al., 2011).

Target trombosit agar mencapai kondisi hemostatik adalah  $20-30 \times 10^9$  /L (Kistangari and McCrae, 2013a). Apabila jumlah trombosit di atas  $50 \times 10^9$  /L, terapi tidak lagi diperlukan (Kistangari and McCrae, 2013a). ITP sekunder yang disebabkan infeksi HCV, eliminasi infeksi dengan obat antivirus dapat meningkatkan trombosit dan menurunkan kadar titer autoantibodi, namun interferon juga dapat menyebabkan trombositopenia (Neunert et al., 2011). Apabila terjadi perdarahan, IVIg dapat menjadi lini pertama (Neunert et al., 2011). Pada ITP sekunder yang berhubungan dengan HIV, terapi antiviral dapat langsung diberikan; terapi ITP jika diperlukan adalah IVIg, kortikosteroid, dan anti-D imunoglobulin (Neunert et al., 2011).

Pada ITP primer, terapi lini pertama terdiri dari kortikosteroid, IVIg, dan IV anti-D, sedangkan terapi lini kedua terdiri dari splenektomi dan tindakan medis lain (Kistangari, 2011). Kortikosteroid oral menjadi pilihan utama karena efek samping tidak parah, dan tidak membutuhkan infus intravena; terdiri dari dua regimen, yaitu prednison dan deksametason (Neunert, 2017). Terapi prednison standar dengan dosis 1-2 mg/kgBB/hari, diberikan hingga terlihat respons, kemudian dosis dapat diturunkan (tapered off) (McCRAE, 2011). Deksametason diberikan per oral 40 mg/hari selama 4 hari berturut-turut dan dapat diulang hingga 3 siklus; dosis tersebut adalah dosis tinggi. Pada penelitian Wei Y, et al, pengobatan ITP dewasa yang baru terdiagnosis lebih menguntungkan dengan deksametason dosis tinggi dibandingkan dengan prednison (Wei et al., 2016). Pada penelitian tersebut, keuntungan yang

didapat adalah berkurangnya gejala perdarahan terutama pada stadium awal ITP dan dosis tinggi deksametason setara dengan pemberian prednison konvensional sehingga dapat mengurangi efek samping penggunaan steroid jangka lama (Wei et al., 2016).

*Immunoglobulin Intravena (IVIg)* dapat digunakan jika membutuhkan peningkatan trombosit secara cepat, terutama pada kasus perdarahan yang mengancam jiwa (Neunert, 2017). Dosis IVIg adalah 0,8 – 1,0 g/kgBB dosis tunggal. Kontraindikasi penggunaan kortikosteroid juga dapat menjadi dasar penggunaan IVIg (Neunert, 2017). Terapi IVIg memiliki beberapa kekurangan, misalnya biaya mahal, tidak nyaman saat pemberian, serta efek samping yang dapat berupa trombosis, insufisiensi renal, nyeri kepala, dan reaksi anafilaksis pada pasien defisiensi Ig-A (Neunert, 2017).

### **2.3.8 Prognosis**

Secara keseluruhan prognosis dari ITP bervariasi, sangat berbeda untuk tiap individu dan tidak ada cara untuk memprediksi perjalanan penyakit (Aert et al., 2011). Orang dewasa lebih mungkin mengalami ITP kronis dan kesembuhan spontan jarang terjadi. Namun, banyak pasien ITP dewasa mengalami penyakit ringan dan stabil yang tidak memerlukan pengobatan (Aert et al., 2011). Sebaliknya, ITP biasanya akut pada anak-anak, terutama pada mereka yang berusia di bawah 10 tahun, dengan pemulihan yang diamati pada sebagian besar kasus bahkan setelah beberapa minggu hingga bulan trombositopenia parah (Aert et al., 2011). Sekitar 80% anak akan pulih

secara spontan dalam 6 bulan dengan atau tanpa menerima pengobatan (Aert et al., 2011). Namun, sekitar 15-20% anak-anak akan menjadi ITP kronis. (Aert et al., 2011). Pasien ITP yang memberikan respon terhadap terapi, maka angka kematian sama dengan populasi umum (tidak ada peningkatan mortalitas). (Aert et al., 2011) Di antara mereka yang tidak merespon dalam beberapa tahun pertama menerima terapi, terdapat risiko morbiditas dan mortalitas yang lebih tinggi. Kematian jarang terjadi, tetapi memiliki kemungkinan sebesar 3% per tahun pada pasien ITP refrakter dan biasanya terkait dengan perdarahan atau infeksi intrakranial (Aert et al., 2011).

### **2.3.9      *Komplikasi***

Penderita ITP memiliki peningkatan risiko mengalami memar dan kejadian perdarahan spontan (Aert et al., 2011). Pasien dengan jumlah trombosit kurang dari  $30 \times 10^9/L$  berisiko tinggi mengalami perdarahan serius atau yang mengancam jiwa (misalnya perdarahan intrakranial, perdarahan mukokutan, perdarahan gastrointestinal bagian bawah, perdarahan internal dan menoragia lainnya). Perdarahan yang mengancam jiwa, bagaimanapun, jarang terjadi pada pasien dengan jumlah trombosit di atas  $10 \times 10^9 / L$  (Aert et al., 2011). Usia tampaknya menjadi faktor risiko independen untuk perdarahan yang parah dan / atau fatal, dengan orang tua berisiko lebih tinggi (Aert et al., 2011) .

## 2.4 Penelitian uji diagnostik dan skrining kedokteran dan kesehatan masyarakat.

Istilah uji diagnostik dan uji skrining pada dasarnya memiliki tujuan yang sama. Uji diagnostik digunakan didunia kedokteran, dalam melakukan prosedur diagnostik sering digunakan beberapa test secara bertahap untuk meningkatkan probabilitas individu mengalami suatu penyakit tertentu. Ukuran yang digunakan adalah validitas yang terdiri dari sensitifitas, spesifisitas dan akurasi (Putra et al., 2016).

1. Sensitifitas, adalah proporsi hasil tes positif diantara orang-orang yang sakit atau dapat diterjemahkan dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{Sensitifitas} = \frac{\text{TP}}{\text{TP} + \text{FN}} \times 100 \%$$

Sensitifitas menunjukkan kemampuan suatu tes untuk menyatakan positif orang orang yang sakit. Semakin tinggi sensitifitas suatu tes maka semakin banyak mendapatkan hasil tes positif pada orang-orang yang sakit atau semakin sedikit jumlah negatif palsu.(Putra et al., 2016)

2. Spesitifitas, adalah proporsi hasil tes negatif diantara orang orang yang tidak sakit atau dapat diterjemahkan dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Spesitifitas} = \frac{\text{TN}}{\text{FP} + \text{TN}} \times 100 \%$$

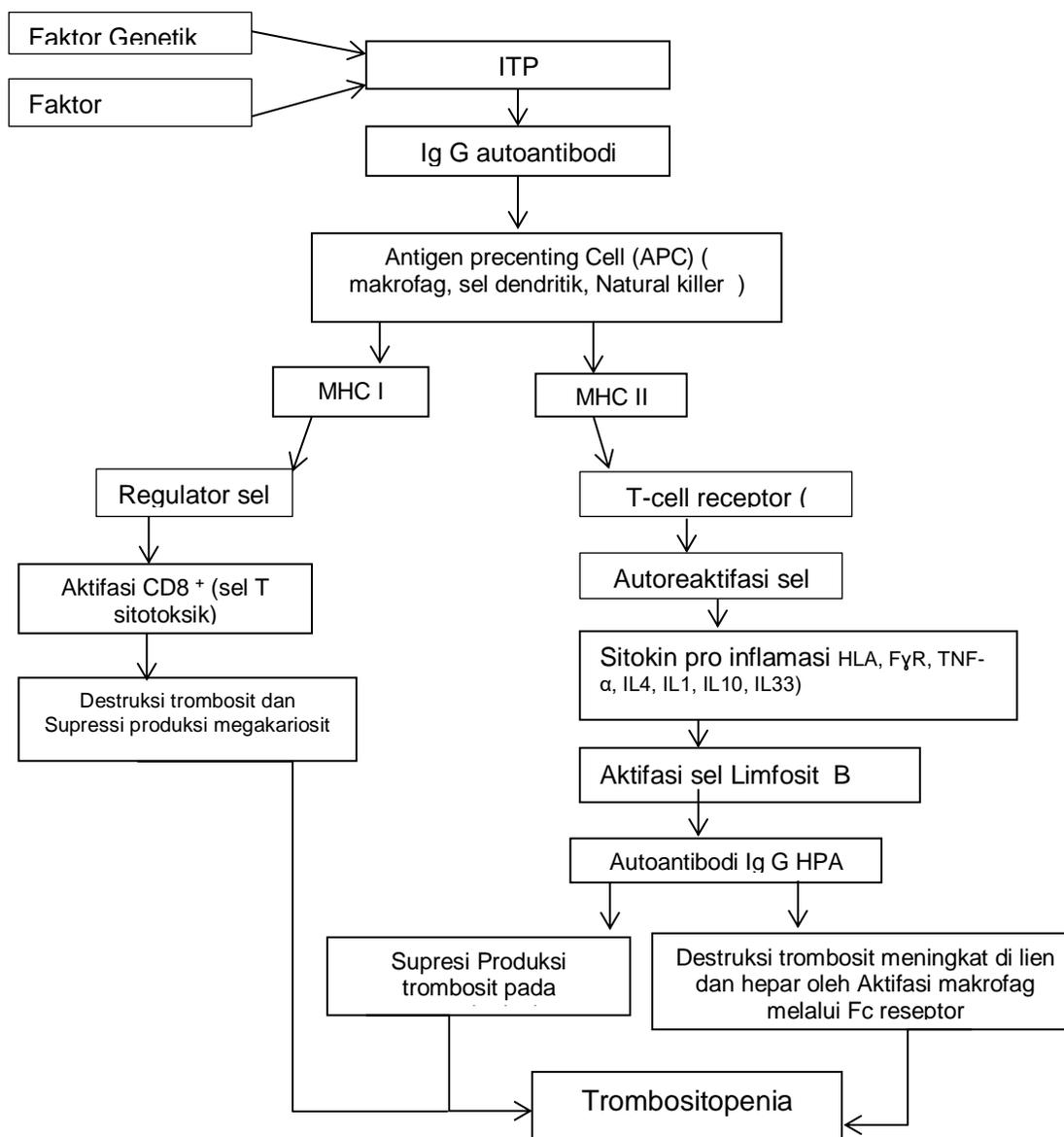
Spesifisitas menunjukkan kemampuan suatu tes untuk menyatakan negatif orang-orang yang tidak sakit. Semakin tinggi spesifisitas suatu tes maka semakin banyak mendapatkan hasil tes negatif pada orang-orang yang tidak sakit atau semakin sedikit jumlah positif palsu (Putra et al., 2016) .

1. TP = jumlah yang dinyatakan positif oleh tes dan baku emas menyatakan sakit.
2. FP = jumlah yang dinyatakan positif oleh tes tetapi baku emas menyatakan tidak sakit.
3. FN = jumlah yang dinyatakan negatif oleh tes tetapi baku emas menyatakan sakit.
4. TN = jumlah yang dinyatakan negatif oleh tes dan baku emas juga menyatakan tidak sakit.
5. TP+FN adalah keseluruhan jumlah orang yang sakit
6. FP+TN adalah keseluruhan jumlah yang tidak sakit
7. TP+FP adalah keseluruhan jumlah yang hasil tesnya positif
8. FN+TN adalah keseluruhan jumlah yang hasil tesnya negatif
9. Total adalah jumlah total sampel yang diteliti.(Putra et al., 2016)

## BAB III

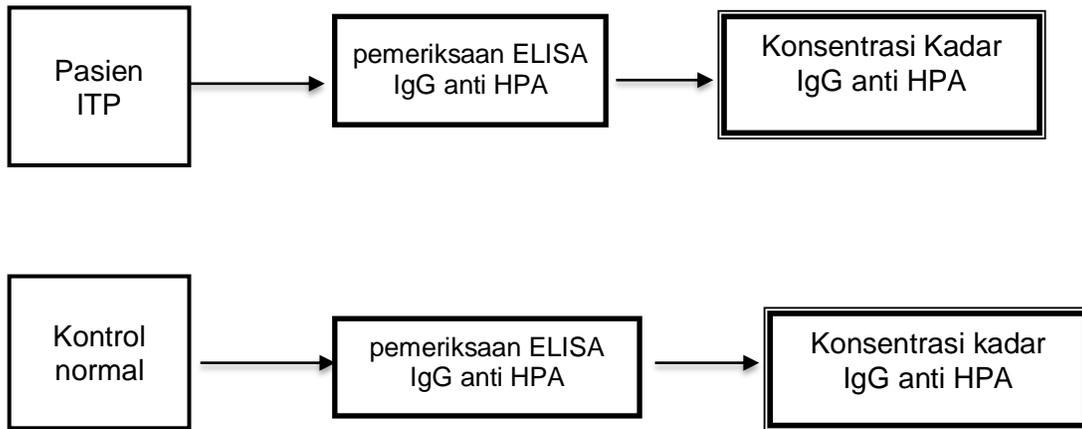
### KERANGKA PENELITIAN

#### 3.1 Kerangka Teori



Bagan 1 . Kerangka Teori Penelitian

### 3.2 Kerangka Konsep Penelitian



**Keterangan :**

 = variabel independen

 = Variabel kontrol

 =variabel dependen

**Bagan 2 .** Kerangka Konsep Penelitian