

HASIL KARYA AKHIR

**KORELASI KADAR INTERLEUKIN-10 TERHADAP
DERAJAT ANEMIA PADA PASIEN ANEMIA HEMOLITIK
AUTOIMUN**

*CORRELATION OF INTERLEUKIN-10 LEVELS WITH THE
DEGREE OF ANEMIA IN AUTOIMMUNE HEMOLYTIC
ANEMIA*



NURUL AFIAH

C085192007

PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS

PROGRAM STUDI ILMU PATOLOGI KLINIK

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2023



**KORELASI KADAR INTERLEUKIN-10 TERHADAP DERAJAT ANEMIA
PADA PASIEN ANEMIA HEMOLITIK AUTOIMUN**

Karya Akhir

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

Program Studi
Ilmu Patologi Klinik

Disusun dan Diajukan oleh

NURUL AFIAH
C085192007

Kepada

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

2023



TESIS

KORELASI KADAR INTERLEUKIN-10 TERHADAP DERAJAT ANEMIA PADA PASIEN ANEMIA HEMOLITIK AUTOIMUN

Disusun dan diajukan oleh:

NURUL AFIAH
NIM : C085192007

Telah dipertahankan didepan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka
Penyelesaian Studi Program Pendidikan Dokter Spesialis Ilmu Patologi
Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin
pada tanggal 13 Oktober 2023
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui

Pembimbing Utama



dr. Raehana Samad, M.Kes, Sp.PK(K)

NIP. 19731208 200212 2 005

Pembimbing Pendamping



Dr. dr. Rachmawati A. Muhiddin, Sp.PK(K)

NIP. 19680103 199712 2 001

Ketua Program Studi
Ilmu Patologi Klinik



run, Sp.PK(K), Ph.D

3 199802 2 001.

Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Hasanuddin



Prof. Dr. dr. Haerani Rasvid, M.Kes, Sp.PD, KGH, Sp.GK, FINASIM

NIP. 19680530 199603 2 001

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Nurul Afiah
Nomor Pokok : C085192007
Program Studi : Ilmu Patologi Klinik

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa tesis yang saya tulis ini, benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri dan mengutip pemikiran orang lain, bukan merupakan pengambilalihan tulisan milik 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, 10 Oktober 2023
Yang menyatakan,



Nurul Afiah



Optimized using
trial version
www.balesio.com

UCAPAN TERIMA KASIH

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas anugerah-Nya yang luar biasa, sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis berjudul **"KORELASI KADAR INTERLEUKIN-10 TERHADAP DERAJAT ANEMIA PADA PASIEN ANEMIA HEMOLITIK AUTOIMUN"**. Tesis ini merupakan salah satu persyaratan dalam Program Pendidikan Dokter Spesialis Patologi Klinik. Penulis sadar bahwa tesis ini masih jauh dari kesempurnaan, oleh karena itu dengan kerendahan hati, penulis mengharapkan saran dan koreksi dari semua pihak yang dapat membantu penulis mengembangkan penelitian ini. Dalam kesempatan ini, penulis ingin menyampaikan terima kasih yang tulus kepada dr. Raehana Samad, M.Kes, Sp.PK(K) selaku Ketua Komisi Penasihat/ Pembimbing Utama dan Dr. dr. Rachmawati A. Muhiddin, Sp.PK(K) selaku Anggota Penasihat / Sekretaris Pembimbing, Dr. dr. Burhanuddin Bahar, Ms sebagai Anggota Komisi Penasihat/Pembimbing Metode Penelitian dan Statistik, dr. Rahmawati Minhajat, Ph.D, Sp.PD, K-HOM sebagai Anggota Tim Penilai, dan dr. Darwati Muhadi, Sp.PK(K) sebagai Anggota Tim Penilai yang telah dengan baik hati memberikan waktu, saran, dan bimbingan sejak awal penelitian hingga penyelesaian tesis ini.



Da kesempatan ini pula penulis ingin menyampaikan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada:

1. Guru Besar di Bagian Patologi Klinik dan Guru Besar Emeritus FK-UNHAS, Alm. Prof. dr. Hardjoeno, SpPK(K), yang telah merintis pendidikan dokter spesialis Patologi Klinik di FK Unhas.
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 penulis memulai pendidikan, membimbing dengan penuh ketulusan hati, kasih sayang dan memberi nasehat kepada penulis.
3. Guru besar di Departemen Ilmu Patologi Klinik, Prof. dr. Mansyur Arif, Ph.D, Sp.PK(K), M.Kes, sebagai pembimbing akademik yang telah membimbing, mengajar dan memberikan ilmu yang tidak ternilai dengan penuh ketulusan hati serta memberi masukan selama penulis menjalani pendidikan.
4. Ketua Departemen Ilmu Patologi Klinik FK-UNHAS Dr. dr. Yuyun Widaningsih, M. Kes, Sp.PK(K) sebagai guru kami yang bijaksana, senantiasa membimbing dan memberikan arahan kepada penulis dalam berbagai kegiatan, mengajar, memberi nasehat dan semangat serta mendorong penulis supaya lebih maju.



Ketua Program Studi Ilmu Patologi Klinik sekaligus Manajer PPDS FK-UNHAS periode 2018-2022, dr. Ulung Bahrn, Sp.PK(K), Ph.D

yang senantiasa memberi bimbingan, nasehat dan semangat serta motivasi selama mengerjakan karya akhir ini.

6. Ketua Program Studi Ilmu Patologi Klinik FK-UNHAS periode 2017-2022, Dr. dr. Tenri Esa, M.si, Sp.PK(K), yang senantiasa memberi bimbingan, nasehat dan semangat serta motivasi selama mengerjakan karya akhir ini.
7. Sekretaris Program Studi Ilmu Patologi Klinik FK-UNHAS, dr. Raehana Samad, M.Kes, Sp.PK(K), yang senantiasa memberi ilmu, bimbingan, nasehat dan semangat serta motivasi selama mengerjakan karya akhir ini.
8. Sekretaris Program Studi Ilmu Patologi Klinik FK-UNHAS periode 2018-2021, dr. Rachmawati A. Muhiddin, Sp.PK(K), yang senantiasa memberi bimbingan, nasehat dan semangat serta motivasi selama mengerjakan karya akhir ini.
9. Dr. dr. Liong Boy Kurniawan, M.Kes, Sp.PK(K), sebagai pembimbing akademik selama masa pendidikan Program Spesialis Patologi Klinik, yang senantiasa memberikan nasehat dan semangat dalam menjalankan pendidikan
10. Semua guru, Supervisor di Departemen Ilmu Patologi Klinik FK-UNHAS, yang senantiasa memberikan bimbingan dan saran selama penulis menjalani pendidikan sampai pada penyusunan karya akhir ini.



11. Pembimbing metodologi penelitian, Dr. dr. Burhanuddin Bahar, Ms yang telah membimbing penulis dalam bidang Metode Penelitian dan Statistik selama penyusunan tesis ini.
12. Dosen penguji dr. Salman Ardi Syamsu, Sp.B(K).Onk yang telah meluangkan waktu untuk memberikan kami ilmu dan saran-sarannya dalam penyempurnaan tesis ini.
13. Direktur RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar, atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk menjalani pendidikan di rumah sakit ini.
14. Direktur RSUD. Banggai Laut dan Kepala Instalasi Laboratorium Patologi Klinik RSUD. Banggai Laut, atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk menjalani sebagian tahap pendidikan di rumah sakit ini.
15. Kepala Instalasi Laboratorium Patologi Klinik RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar, Kepala Instalasi Laboratorium Patologi Klinik RSPTN UNHAS, Kepala Instalasi Laboratorium RS. Labuang Baji, Kepala Instalasi Laboratorium RS. Ibnu Sina, Ketua Departemen Ilmu Kesehatan Anak, Ketua Departemen Ilmu Penyakit Dalam beserta staf yang telah menerima dan membantu penulis dalam menjalani masa pendidikan.



16. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar yang telah memberikan kesempatan untuk melanjutkan pendidikan dan mendukung penulis selama menjalani Pendidikan.
17. Seluruh pasien yang telah bersedia menjadi subyek dalam penelitian ini, penulis mengucapkan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya.
18. Teman-teman sejawat PPDS Program Studi Ilmu Patologi Klinik, khususnya kepada teman-teman seangkatan Kreatinin; dr. Budi Parabang, dr. Nurul Afiah, dr. Fauziah, dr. Agnes Motulo, dr. Wihelmina Beatrix, dr. Verliyanti, dr. Nefie Ilona, dr. Linda Mayliana, dr. Nanda Amelia yang telah berbagi suka dan duka selama masa pendidikan penulis. Kebersamaan dan persaudaraan merupakan hal yang tak terlupakan dan semoga persaudaraan ini tetap terjaga.
19. Seluruh teman-teman residen Patologi Klinik serta analis yang telah memberikan bantuan, dukungan dan motivasi kepada penulis selama masa pendidikan dan penyelesaian tesis ini.
20. Tim admin Prodi Ilmu Patologi Klinik lantai 4 RSUH Gedung A ; Nurilawati, SKM, Bela Safira, Andi Rezky Nabila, SH, Indriaty S. Launtina, S.Si atas semua bantuan dan dukungannya selama masa pendidikan dan penyelesaian karya akhir ini.



Seluruh pihak yang tidak dapat penulis tulis satu persatu yang telah memberikan dukungan yang sangat berarti kepada penulis.

Akhirnya ucapan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada kedua orang tua saya, ayahanda Drs. H. Barham. Hi. Daiyan, MM dan Ibunda (Alm) Dra. Hj. Djainab Iskandar Alam atas perhatian, pengorbanan, kasih sayang dan segala doa baik yang senantiasa mengiringi langkah penulis. Penulis juga ingin mengucapkan terima kasih yang tak terhingga kepada keluarga besar, terutama kepada Kakak-kakak tersayang Muhammad Farid, S.Kom; Nurul Ainan, S.Kep, NERS; dan Adik tersayang Muhammad Fikri, serta kepada seluruh keluarga, atas pengorbanan, nasihat, dan doa yang tidak henti-hentinya kalian berikan. Semua dukungan ini sangat berarti dalam perjalanan pendidikan dan penyelesaian tesis ini.

Terima kasih penulis sampaikan pula kepada semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah memberi bantuan baik moril maupun materil secara langsung maupun tidak langsung Melalui kesempatan ini, penulis juga ingin mengungkapkan permohonan maaf yang tulus atas segala kesalahan dan kekhilafan yang mungkin terjadi selama pendidikan dan penelitian ini. Semoga tesis ini dapat memberikan kontribusi berarti dalam perkembangan ilmu pengetahuan, khususnya di bidang Ilmu Patologi Klinik di masa yang akan datang. Terima kasih kepada semua pihak yang turut berperan dalam penelitian ini.



Makassar, 10 Oktober 2023

Nurul Afiah

ABSTRAK

Nurul Afiah, Korelasi Kadar Interleukin-10 Terhadap Derajat Anemia Pada Pasien Anemia Hemolitik Autoimun (dibimbing oleh Raehana Samad dan Rachmawati A.Muhiddin)

Anemia hemolitik autoimun (AHA) adalah kondisi hematologi berat ditandai dengan tingginya tingkat penghancuran eritrosit akibat autoantibodi anti-RBC. Interleukin-10 (IL-10) merupakan sitokin pleiotropik yang berperan dalam perkembangan AHA. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa IL-10 dapat merangsang berbagai respon imun dalam tubuh, dan berperan terhadap pengembangan autoantibodi, seperti systemic lupus erythematosus (SLE) dan hemolitik autoimun.

Penelitian dengan desain *cross sectional* ini menggunakan 30 sampel AHA dan 19 sampel kontrol sehat. Kadar IL-10 serum diperiksa dengan metode ELISA dan dibandingkan berdasarkan derajat anemia pada sampel dan kontrol.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pasien AHA memiliki rentang usia 25-55 tahun dan terutama ditemukan pada wanita, dengan kadar IL-10 ditemukan jauh lebih tinggi pada pasien AHA dibandingkan dengan kontrol sehat ($p < 0,05$). Kadar IL-10 juga ditemukan lebih tinggi pada anemia sedang untuk kedua kelompok. IL-10 ditemukan berkorelasi negatif dengan tingkat keparahan anemia.

Kata kunci: *Anemia Hemolitik Autoimun, Interleukin-10*



ABSTRACT

Nurul Afiah, Correlation Of Interleukin-10 Levels With The Degree Of Anemia In Autoimmune Hemolytic Anemia (Supervised by Raehana Samad and Rachmawati A.Muhiddin)

Autoimmune hemolytic anemia (AHA) is a severe hematological condition characterized by a high level of erythrocyte destruction due to anti-RBC autoantibodies. Interleukin-10 (IL-10) is a pleiotropic cytokine that plays a role in the development of AHA. Studies have shown that IL-10 can stimulate various immune responses in the body, and plays a role in the development of autoantibodies, such as systemic lupus erythematosus (SLE) and hemolytic autoimun.

This cross-sectional study used 30 AHA samples and 19 healthy control. Serum IL-10 levels were examined with ELISA method and compared according to anemia severity in samples and control.

The results showed that AHA patients had a range age of 22-25 years and mainly found in women, with IL-10 levels were found to be higher in AHA patients compared to healthy controls ($p < 0.05$). IL-10 levels were also found to be higher in moderate anemia on both group. IL-10 were found to be negatively correlated with anemia severity.

Keywords: *Autoimmune hemolytic anemia, Interleukin 10*



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	1
PERNYATAAN PENGGAJUAN	2
HALAMAN PENGESAHAN	2
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS	2
UCAPAN TERIMA KASIH	v
ABSTRAK	xi
ABSTRACT	xii
DAFTAR ISI	xi2
DAFTAR TABEL	xivi
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR SINGKATAN	xvii
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.3.1 Tujuan umum	4
1.3.2 Tujuan khusus	4
1.4 Hipotesis	4
1.5 Manfaat Penelitian	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Anemia Hemolitik Autoimun (AHA)	6
2.1.1 Definisi	6
2.1.2 Klasifikasi	6
3 Epidemiologi	7
4 Etiologi	8
5 Patofisiologi	10
6 Diagnosis	15



2.1.7 Pemeriksaan laboratorium	17
2.1.8 Terapi.....	24
2.1.9 Prognosis	27
2.2 Derajat Anemia	28
2.3 Interleukin-10 (IL-10)	28
2.4 Kadar Interleukin-10 pada AHA.....	34
2.5 Kerangka Teori	36
2.6 Kerangka Konsep	37
BAB III. METODE PENELITIAN	38
3.1 Desain Penelitian	38
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	38
3.2.1 Tempat penelitian	38
3.2.2 Waktu penelitian	38
3.3 Populasi Penelitian	38
3.4 Sampel Penelitian.....	39
3.5 Perkiraan Besaran Sampel.....	39
3.6 Kriteria Inklusi dan Eksklusi	40
3.6.1 Kriteria inklusi	40
3.6.2 Kriteria eksklusi.....	40
3.7 Izin Penelitian dan Kelayakan Etik.....	40
3.8 Cara Kerja.....	41
3.8.1 Alokasi subjek.....	41
3.8.2 Cara penelitian.....	41
3.8.3 Prosedur tes laboratorium	42
3.9 Skema Alur Penelitian	50
3.10 Definisi Operasional dan Kriteria Objektif	51
3.11 Metode Analisis dan Pengolahan Data.....	52
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	53
Hasil Penelitian	53
Karakteristik Subyek Penelitian	53
Kadar IL-10	54
Analisis Bivariat	54



4.2 Pembahasan.....	56
4.3 Resume Hasil Penelitian.....	60
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	61
5.1 Kesimpulan	61
5.2 Saran	61
DAFTAR PUSTAKA	52
LAMPIRAN	53



DAFTAR TABEL

Tabel 1. Klasifikasi AHA	7
Tabel 2. Kriteria Anemia Berdasarkan Kisaran Hemoglobin Normal	28
Tabel 3. Klasifikasi Derajat Keparahan Anemia	28
Tabel 4. Pengenceran Larutan Standar	47
Tabel 5. Karakteristik subyek penelitian	53
Tabel 6. Gambaran kadar IL-10 serum pada kelompok subjek penelitian	54
Tabel 7. Perbandingan kadar IL-10 antara kelompok AHA dan non-AHA	55
Tabel 8. Perbandingan kadar IL-10 berdasarkan derajat anemia pada kelompok AHA dan non-AHA	55
Tabel 9. Perbandingan kadar IL-10 antara kelompok	56



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Mekanisme penghancuran eritrosit.....	11
Gambar 2. Aktivasi komplemen untuk eliminasi patogen.....	12
Gambar 3. Alur diagnosis AHA	15
Gambar 4. Apusan Darah Tepi pasien AHA	18
Gambar 5. Direct Antiglobulin Test (DAT) dan Indirect Antiglobulin Test (IAT)	21
Gambar 6. Jaringan interaksi protein-protein dari IL-10.....	29
Gambar 7. Gambaran umum respons kekebalan terhadap infeksi	30
Gambar 8. Imunosupresif IL-10 pada makrofag dan sel dendritik	32
Gambar 9. Interleukin-10 dan <i>maintenance</i> keseimbangan respon imun.....	33
Gambar 10. Disregulasi sitokin pada AHA	35
Gambar 11. ID Liss Card dan ID Diluet	43
Gambar 12. Skor kekuatan reaksi metode gel	45
Gambar 13. Pengenceran Larutan Standar	47



DAFTAR SINGKATAN

AHA	Anemia Hemolitik Autoimun
AK	Autokontrol
APC	<i>Antigen Presenting Cell</i>
CAD	<i>Cold Agglutinin Disease</i>
CD4+	<i>Cluster of differentiation 4</i>
CD8+	<i>Cluster of differentiation 8</i>
CLL	<i>Chronic Lymphoblastic Leukemia</i>
CSIF	<i>Cytokine Synthesis Inhibitory Factor</i>
DAT	<i>Direct Antiglobulin Test</i>
EDTA	<i>Ethylenediaminetetraacetic acid</i>
ELISA	<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
IFN- γ	<i>Interferon-Gamma</i>
IgG	<i>Imunoglobulin G</i>
IgM	<i>Imunoglobulin M</i>
IL-1 α	<i>Interleukin-1 Alpha</i>
IL-4	<i>Interleukin-4</i>
IL-5	<i>Interleukin-5</i>
IL-6	<i>Interleukin-6</i>
IL-10	<i>Interleukin-10</i>
IL-13	<i>Interleukin-13</i>
IL-17	<i>Interleukin-17</i>
KEPK	Komisi Etik Penelitian Kesehatan
LISS	<i>Low ionic strength solution</i>
NK	<i>Natural Killer</i>
NLR	Neutrofil Limfosit Rasio
PCH	<i>Paroxysmal Cold Hemoglobinuria</i>
PRC	<i>Packed Red Cell</i>
RBC	<i>Red Blood Cell</i>
RISKESDAS	Riset Kesehatan Dasar
SLE	<i>Systemic Lupus Eritematosus</i>
TGF- β	<i>Transforming Growth Factor -Beta</i>
	<i>T-helper 1</i>
	<i>T-helper 2</i>
	<i>Tumour Necrosis Factor-Alpha</i>
	<i>T-regulator</i>



UTDRS
wAHA

Unit Transfusi Darah Rumah Sakit
Warm Anemia Hemolitik Autoimun



Optimized using
trial version
www.balesio.com

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Anemia Hemolitik Autoimun (AHA) merupakan penyakit hematologi yang jarang terjadi tetapi penting karena memiliki tingkat keparahan penyakit yang bergejala ringan sampai dengan sindrom yang sangat fatal (DeLougherry, T. G., 2013). Penyakit ini didefinisikan sebagai peningkatan destruksi eritrosit yang melibatkan autoantibodi dan/atau komplemen, bersama dengan makrofag yang teraktivasi, limfosit T, dan sitokin (Michalak, 2020). Destruksi eritrosit pada keadaan normal terjadi setelah 120 hari, namun pada anemia hemolitik kecepatan destruksi eritrosit mengalami peningkatan (Hoffbrand A. V., Moss P. A. H., 2016).

Anemia hemolitik autoimun dapat terjadi pada semua usia, tetapi lebih sering terjadi pada orang dewasa daripada anak-anak. Gejala dan temuan fisik mencerminkan penghancuran dini eritrosit dengan kompensasi sumsum tulang yang tidak memadai dan efek sekunder hemolisis. Diagnosis AHA sederhana dan didasarkan pada adanya anemia hemolitik serta bukti serologis autoantibodi anti-RBC yang terdeteksi dengan uji *Direct Antiglobulin Test* (DAT) (Melca O. B., Dante M.L., 2017).

Insiden AHA diperkirakan antara 0.6 dan 3 kasus per 100.000 orang (DeLougherry, T. G., 2013). Anemia hemolitik autoimun diklasifikasikan berdasarkan karakteristik reaktivitas temperatur saat autoantibodi berikatan dengan eritrosit pasien secara *in vivo*, dengan penekanan pada diagnosis dan pengobatan. Berdasarkan rentang termal autoantibodi, AHA dapat diklasifikasikan sebagai tipe hangat (*warm AHA*), tipe dingin (*cold agglutinin disease* (CAD)), atau tipe campuran hangat dan dingin (*mixed AHA*). Subtipe wAHA merupakan mayoritas kasus AHA (Scherer S., 2021). Pada sebagian besar kasus, imunoglobulin (Ig) G adalah perantara. Jenis AHA ini disebut sebagai AHA "hangat" karena antibodi IgG



berikatan paling baik pada suhu tubuh, sedangkan AHA "dingin" dimediasi oleh antibodi IgM, yang berikatan maksimal pada suhu di bawah 37°C (DeLougherry, T. G., 2013).

Diagnosis AHA dapat dilakukan dengan pendekatan bertahap yang bertujuan untuk mengidentifikasi laboratorium dan bukti klinis hemolisis serta kemudian menentukan sifat imun hemolisis dengan uji DAT. Setelah penyebab alternatif untuk temuan ini disingkirkan, AHA ditegakkan dan klinisi segera mencari penyebab sekunder, serta mengidentifikasi jenis AHA (Hill A., 2018).

Interleukin-10 (IL-10) adalah sitokin *pleiotropik* yang diproduksi oleh sel T teraktivasi, sel B, sel mono/makrofag, sel mast, dan keranosit. IL-10 pertama kali dikenal sebagai faktor penghambat sintesis sitokin karena kemampuannya untuk menekan makrofag, menghambat produksi sejumlah sitokin, dan kemampuan untuk berfungsi sebagai sel aksesori untuk stimulasi sel T dan fungsi sel NK (Marincola F.M., Zdanov A., 2006).

Jaringan sitokin yang kompleks mengatur pertumbuhan, diferensiasi, dan fungsi efektor sel T dan B. Sitokin ini dapat dibedakan menjadi tiga kategori besar menurut subset T-helper (Th). Sel Th-1 menghasilkan interleukin-2 (IL-2), *interferon-gamma* (IFN- γ) dan *tumour necrosis factor-beta* (TNF- β), dan mendukung imunitas yang dimediasi oleh sel, hipersensitivitas tipe lambat, aktivasi makrofag dan produksi *opsonizing antibodies*. Sel T-helper 2 (Th-2) mensintesis IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13, dan mendukung respons humoral, menyediakan produksi antibodi, dan mendorong pertumbuhan sel mast. Sel Th-2 juga mendukung aktivasi dan diferensiasi eosinofil, yang menghasilkan respons humoral dan alergi (Fagiolo, 2002).

Kontribusi masing-masing sitokin Th-1 dan Th-2 terhadap patogenesis penyakit autoimun masih menjadi perdebatan. Karena beberapa sitokin Th-2, yaitu IL-4, IL-6 dan IL-10, diketahui dapat meningkatkan produksi antibodi oleh sel B. Sel Th-2 diduga berperan dalam perkembangan penyakit yang diperantarai oleh autoantibodi seperti *lupus eritematosus sistemik* (SLE) dan hemolitik autoimun (Fagiolo, 2002).



penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Howard *et al* dan Ishida *et al* kan bahwa, IL-10 memediasi berbagai sifat imunostimulan dan presif pada tikus dan uji *in vitro* pada manusia. Dalam upaya terbaru untuk

mengevaluasi peran IL-10, telah dilaporkan bahwa pemberian antibodi anti-IL-10 secara terus menerus menunda timbulnya autoimunitas pada Tikus, karena peningkatan $TNF-\alpha$ sedangkan pemberian IL-10 mempercepat timbulnya autoimunitas (Ishida H.,1992).

Penelitian kalfa *et al*, menyatakan ketidakseimbangan antara sel Th-1 dan Th-2 serta sitokin yang mereka keluarkan mungkin juga berperan. Sel Th-1 mengeluarkan IL-2, IL-12, $IFN-\gamma$, dan $TNF-\beta$ serta meningkatkan imunitas yang diperantarai sel, sedangkan sel Th-2 mengeluarkan IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, dan IL-13 serta meningkatkan respons humoral. Meskipun data tentang peningkatan dan penurunan kadar sitokin pada pasien AHA mungkin agak bertentangan, mereka mendukung bahwa Th-1 yang berkurang dan Th-2 yang menonjol mendorong asal-usul AHA. (Kalfa T.A, 2016).

Penelitian mengenai korelasi kadar IL-10 terhadap derajat anemia pada pasien AHA belum pernah dilakukan di Indonesia. Berdasarkan latar belakang diatas sehingga peneliti tertarik untuk melakukan penelitian ini.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang masalah di atas dapat dirumuskan pertanyaan sebagai berikut:

1. Apakah terdapat perbedaan kadar IL-10 pada pasien AHA dibandingkan pasien non-AHA ?
2. Apakah terdapat perbedaan kadar IL-10 pada pasien AHA dengan anemia derajat berat dibandingkan AHA dengan anemia derajat sedang ?
3. Apakah terdapat korelasi kadar IL-10 terhadap derajat anemia pada pasien anemia hemolitik autoimun ?



1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan umum

Mengetahui korelasi kadar IL-10 terhadap derajat anemia pada pasien AHA dan non-AHA.

1.3.2 Tujuan khusus

- 1.3.2.1 Mengetahui nilai derajat anemia pada pasien AHA dan non-AH.
- 1.3.2.2 Mengetahui nilai perbedaan kadar IL-10 pada pasien AHA dan non-AHA.
- 1.3.2.3 Mengetahui nilai korelasi antara kadar IL-10 terhadap derajat anemia pada pasien AHA dan non-AHA.

1.4 Hipotesis

- 1.4.1 Kadar IL-10 lebih tinggi pada pasien AHA dibandingkan pasien non-AHA.
- 1.4.2 Kadar IL-10 lebih tinggi pada pasien AHA dengan anemia derajat berat dibandingkan AHA dengan anemia derajat sedang.
- 1.4.3 Terdapat korelasi antara kadar IL-10 dengan derajat anemia pada pasien AHA dan non-AHA.

1.5 Manfaat Penelitian

1.5.1 Manfaat bagi pengembangan ilmu



Menambah wawasan dan pengetahuan tentang IL-10 pada pasien anemia remolitik autoimun.

Dapat digunakan sebagai bahan rujukan untuk pengembangan penelitian selanjutnya.

1.5.2 Manfaat bagi aplikasi klinis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi panduan bagi klinisi untuk memantau perkembangan penyakit AHA.

1.5.3 Manfaat bagi pengembangan penelitian

Bagi penelitian selanjutnya, proses serta hasil penelitian ini dapat memberikan masukan dan pembelajaran yang sangat baik terutama untuk perkembangan keilmuan.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Anemia Hemolitik Autoimun

2.1.1 Definisi

Anemia hemolitik autoimun adalah suatu kondisi klinis yakni hemolisis yang disebabkan oleh autoantibodi IgG dan/atau IgM berikatan dengan antigen permukaan eritrosit dan mengawali kerusakan eritrosit melalui sistem komplemen di retikuloendotelial. Autoantibodi IgG pada eritrosit memediasi destruksi eritrosit di luar sirkulasi darah, yakni hemolisis yang terjadi pada sel makrofag dari sistem retikuloendotelial (lien, hepar) dan sumsum tulang yang disebut sebagai hemolisis ekstravaskular. Sebaliknya, autoantibodi IgM yang berpartisipasi dalam proses destruksi eritrosit yang terjadi langsung di dalam sirkulasi yang disebut hemolisis intravaskular (Ronald ED., 1988).

2.1.2 Klasifikasi

Klasifikasi AHA dibagi dengan tujuan agar kelompok tersebut berada pada kategori yang berbeda secara klinis. Klasifikasi yang agak sederhana tercantum karena manifestasi klinis, prognosis, dan terapi berbeda di antara kelompok AHA. Klasifikasi AHA dapat dilihat pada Tabel 1.



Tabel 1. Klasifikasi AHA

1. <i>Warm Autoimmune Hemolytic Anemia</i>
a. Idiopatik
b. Sekunder (kelainan limfoproliferatif, kelainan autoimun)
2. <i>Cold Autoimmune Hemolytic Anemia</i>
a. <i>Cold Agglutinin Syndrome</i>
i. Idiopatik
ii. Sekunder: <i>transient</i> akut (infeksi), kronis (kelainan limfoproliferatif)
b. <i>Paroxysmal Cold Hemoglobinuria</i>
i. Idiopatik
ii. Sekunder: <i>transient</i> akut (infeksi selain sifilis), kronis (sifilis)
3. <i>Mixed Autoimmune Hemolytic Anemia</i>
a. Idiopatik
b. Sekunder (kelainan limfoproliferatif, kelainan autoimun)
4. <i>Drug-Induced Immune Hemolytic Anemia</i>
a. Tipe autoimun
b. Tipe adsorpsi obat
c. Tipe neoantigen

Sumber : Packman, 2015

2.1.3 Epidemiologi

Anemia hemolitik autoimun merupakan penyakit yang relatif jarang terjadi, perkiraan insiden 1-3 kasus per 100.000/tahun. Di Amerika Utara dan Eropa Barat, Insiden AHA diperkirakan 1 kasus per 35.000 sampai 1 kasus per 80.000 populasi pertahun. Kasus wAHA terjadi pada 60-70%, sedangkan CAD terjadi pada 13-15% dari kasus, *Mixed autoimmune hemolytic anemia* terjadi kurang dari 10% dari kasus. Data dari riset kesehatan dasar (Riskesdas) pada tahun 2013 melaporkan insiden anemia di Indonesia adalah 21,7 %. Anemia hemolitik mewakili sekitar 5% dari semua anemia. Penyakit ini lebih sering terjadi setelah usia 40 tahun, tetapi juga pada masa kanak-kanak. Penyakit ini umumnya bersifat akut pada anak karena umumnya berhubungan dengan infeksi virus (Berentsen S., Barcellini W., 2020).

Jenis AHA tipe *paroxysmal cold hemoglobinuria* (PCH) pada umumnya terjadi pada anak-anak dan insidennya sekitar 2-5% dari semua kasus AHA, sedangkan *rug-induced immune hemolytic anemia*, angka kejadiannya sekitar 1 kasus populasi dan sebagian besar disebabkan obat-obatan sefalosporin generasi n ketiga, cefotetan, dan ceftriaxone (Schwartz Robert S., 2012).



Kasus kronis/kambuh lebih sering terjadi pada orang dewasa, terutama jika dikaitkan dengan gangguan autoimun atau limfoproliferatif. Secara global angka kejadian wAHA adalah sekitar 1 kasus per 100.000 populasi pertahun, angka kejadiannya mencapai 10 per 100.000 populasi pertahun setelah usia 60 tahun. Sekitar 65% dari pasien dengan wAHA adalah Wanita (Schwartz Robert S., 2012).

Insiden CAD sekitar 10-20% dari semua kasus AHA. Angka kejadiannya sekitar 14 kasus per 1 juta populasi pertahun, lebih sering mengenai wanita dibandingkan dengan laki-laki (Schwartz Robert S., 2012). Dalam studi multisenter besar baru-baru ini terhadap pasien dengan CAD, prevalensi penyakit ini berbeda 4 kali lipat antara iklim dingin dan hangat yakni 20:5 kasus/juta, begitu juga dengan insidennya 1,9 : 0,48 kasus/juta per tahun. (Berentsen S., Barcellini W., 2020).

Prognosis kelangsungan hidup AHA pada orang dewasa dilaporkan 91% pada satu tahun, 75% pada lima tahun, dan 73% pada sepuluh tahun. Kematian dilaporkan sebesar 4%, terutama disebabkan oleh infeksi, trombositopenia autoimun simultan (sindrom Evans), gagal ginjal akut, dan kejadian trombotik mayor (Barcellini W., 2020).

2.1.4 Etiologi

Etiologi autoantibodi eritrosit belum dipahami sepenuhnya. Hubungan antara AHA dan kelainan autoimun lainnya, disfungsi sistem imun yang menyeluruh tampaknya memiliki peranan. Hubungan antara AHA dan kelainan limfoproliferatif serta neoplasma lainnya juga mendukung adanya disfungsi surveilans imun secara keseluruhan. Sistem imun mempunyai banyak kontrol yang menjaga keseimbangan antara kebutuhan untuk mentoleransi antigen dari tubuh sendiri (*self-antigen*) dan untuk merespon secara tepat terhadap antigen asing. Gangguan pada salah satu proses ini dapat merupakan penyebab yang potensial dari penyakit autoimun (B... et al, 2002).



Penyakit autoimun diakibatkan oleh interaksi berbagai faktor. Latar belakang jenis kelamin, usia, faktor lingkungan seperti infeksi, obat-obatan, dan lain-lain, semuanya terlibat dalam etiologi AHA (Cho dan Gregersen, 2011).

a. Genetik

Kecenderungan genetik penyakit AHA pada manusia telah dikemukakan oleh laporan mengenai penyakit keluarga. Haplotipe leukosit antigen (HLA) manusia tertentu adalah penentu genetik terkuat dari banyak penyakit autoimun (Cho dan Gregersen, 2011; Lessard dkk., 2012) dan AHA yang hangat secara positif terkait dengan HLA-DR15, dengan sekitar 60% pasien mengekspresikan alel ini (Stott dkk., 2002). Studi asosiasi seluruh genom dari penyakit autoimun manusia lainnya mengungkapkan bahwa sejumlah besar gen non-HLA lebih lanjut berkontribusi terhadap kerentanan (Cho dan Gregersen, 2011; Lessard dkk., 2012).

b. Usia dan jenis kelamin

Anemia hemolitik autoimun tidak seperti kebanyakan penyakit autoimun lainnya, kejadian AHA tidak lebih tinggi pada wanita dibandingkan pria. Anak-anak maupun dewasa bisa terjadi AHA, untuk dewasa sering terjadi pada usia 40 tahun (Vicker dan Barker, 2020).

c. Infeksi

Agen infeksi umumnya terlibat dalam memicu penyakit autoimun pada individu yang rentan, dengan hampir 10% pasien AHA dilaporkan memiliki kondisi infeksi bakteri atau virus secara bersamaan. Reaktivitas silang antara lipopolisakarida bakteri dan antigen golongan darah I telah diusulkan untuk menjelaskan tingginya insiden CAD. Potensi mimikri untuk menginduksi wAHA dicontohkan oleh penyakit yang berkembang pada tikus yang mendapat suntikan berulang kali RBC. Terlihat ekspresi antigen reaktif silang dari spesies tikus (Vicker dan Barker, 2020).

d. Neoplasia

Kasus AHA yang menderita beberapa bentuk penyakit neoplastik yang terjadi bersamaan adalah sebanyak 22% kasus. Pasien dengan CAD memiliki autoantibodi RBC monoklonal yang terkait dengan gangguan limfoproliferatif klonal, yang paling sering diklasifikasikan sebagai limfoma limfoplasmatik (Berentsen dan Tjønnfjord,



2010). Trombositopenia autoimun dan wAHA, keduanya terkait erat dengan *chronic astic leukemia* (CLL). Lebih dari 10% kasus AHA juga didiagnosis dengan i, dan leukosit yang bersirkulasi dengan fenotipe seperti CLL yang abnormal eteksi pada 19% pasien yang diklasifikasikan sebagai AHA primer (Mittal et

al., 2008). Sebaliknya, hingga 14% pasien CLL memiliki AHA atau peningkatan kadar autoantibodi yang terikat dengan RBC (Dearden *et al.*, 2008). Salah satu model untuk menjelaskan hubungan ini adalah bahwa sejumlah besar sel CLL ganas yang ada di limpa mendorong respons autoimun terhadap sel yang bersirkulasi untuk bertindak sebagai *antigen presenting cell* (APC) yang menyimpang (Vicker dan Barker, 2020).

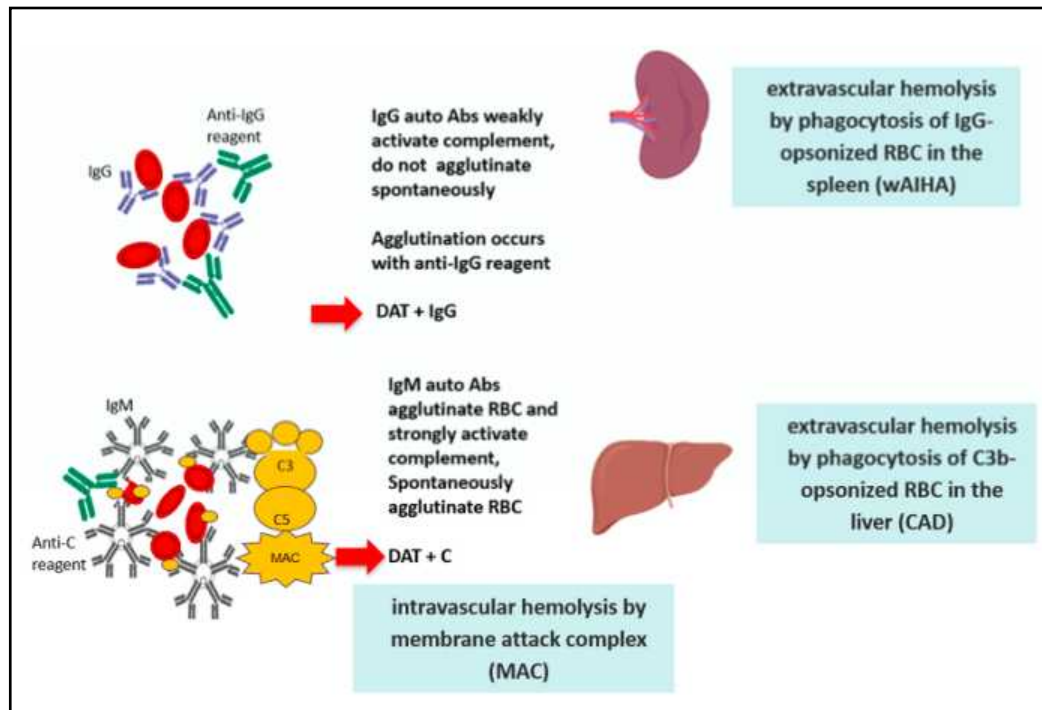
2.1.5 Patogenesis

Destruksi eritrosit dan beratnya hemolisis tergantung pada kelas antibodi imunoglobulin yang terlibat serta aktivitas retikuloendotelial. Berdasarkan lokasinya proses hemolisis dapat dibedakan atas: (Elias P., Widayati K., 2017; Samad, 2021; Tormey, 2022)

1. Aktivasi seluler yang menyebabkan hemolisis intravaskular.

Secara keseluruhan aktivasi sistem komplemen akan menyebabkan hancurnya membran eritrosit dan terjadinya hemolisis intravaskular. Sistem komplemen akan diaktifkan dengan cepat melalui jalur klasik ataupun jalur alternatif, menyebabkan aktivasi lengkap kaskade komplemen dan berakhir dengan terbentuknya *Membrane Attack Complex* (MAC). Kompleks ini akan berpolimerasi membentuk lubang dalam membran eritrosit sehingga cairan ekstraseluler dapat masuk ke dalam sel dan menyebabkan pembengkakan dan pecah akibat lisis osmotik. Destruksi eritrosit ini biasanya dimediasi oleh antibodi IgM yang mengaktifkan sistem komplemen, baik secara langsung dengan sitolisis atau secara tidak langsung melalui interaksi aktivasi yang terikat eritrosit dan fragmen degradasi C3 dengan reseptor spesifik pada sel retikuloendotelial, terutama makrofag hati (sel Kupffer). Struktur pentamerik IgM ini memungkinkan aktivasi komplemen yang efisien (Gambar 1). (Widayati K., 2017; Samad, 2021)





Gambar 1. Mekanisme penghancuran eritrosit (Bercellini, 2020).

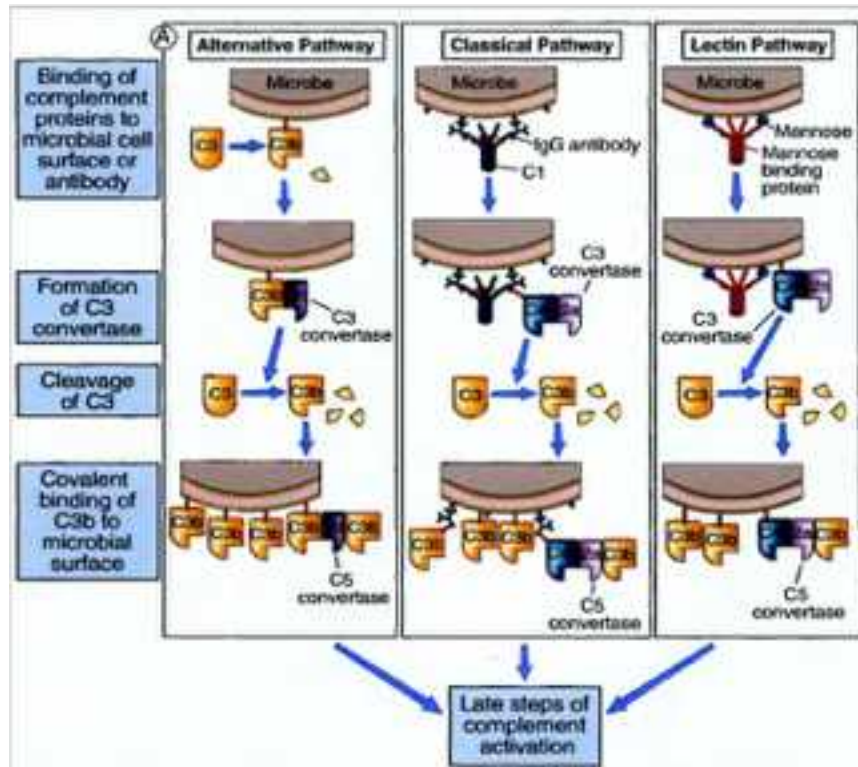
2. Aktivasi seluler yang menyebabkan hemolisis ekstrasvaskular.

Jika eritrosit disensitasi oleh antibodi IgG yang tidak berikatan dengan komplemen atau berikatan dengan komplemen namun tidak terjadi aktivasi komplemen lebih lanjut, maka eritrosit tersebut akan mengalami destruksi oleh sel-sel retikuloendotelial. Antibodi IgG merupakan aktivator yang relatif lemah pada jalur komplemen klasik, namun dikenali secara langsung oleh reseptor *fragment crystallizable* (Fc) pada berbagai sel-sel fagositik, sehingga eritrosit yang tersensitisasi oleh IgG sebagian besar dieliminasi oleh fagosit dari sistem retikuloendotelial. Sel-sel retikuloendotelial juga memiliki reseptor untuk faktor-faktor komplemen C3b dan iC3b. Eritrosit yang terikat pada C3b akan didegradasi menjadi iC3b yang secara enzimatik tidak aktif oleh faktor I dan faktor H selanjutnya oleh faktor I dan faktor CR1, iC3b akan dipecah menjadi C3c dan

Awalnya eritrosit yang dilapisi oleh C3c dan C3dg secara cepat dihancurkan oleh monosit dan makrofag dalam hati. Dalam waktu 15-20 menit proses ini akan selesai, sehingga eritrosit-eritrosit tadi akan lolos dari proses destruksi dan



dilepaskan kembali ke dalam peredaran darah. Dalam sirkulasi, C3dg akan terlepas dan yang tinggal hanya C3c yang melekat pada eritrosit (Gambar 2).



Gambar 2. Aktivasi komplemen untuk eliminasi patogen (Abbas, 2016)

Patogenesis AHA berdasarkan klasifikasinya antara lain:

A. Warm Autoimmune Hemolytic Anemia

Warm Autoimmune Hemolytic Anemia adalah AHA yang terjadi akibat adanya autoantibodi IgG yang bereaksi paling kuat menyebabkan aglutinasi pada suhu 37°C dan menunjukkan penurunan afinitas pada temperatur yang lebih rendah (Naik, 2015).

Autoantibodi, sistem komplemen, fagosit, sel T CD8+ sitotoksik, sel NK, limfosit B dan T termasuk sel T regulator (Treg) CD4+, dan sitokin memegang peran penting patogenesis wAHA (Kalfa T.A., 2016). Eritrosit yang dilapisi dengan *warm-autoantibodies* akan difagositosis oleh makrofag, terutama di limfe. Makrofag mengekspresikan reseptor untuk Fc region dari molekul



imunoglobulin, yang memungkinkan eritrosit mengalami opsonisasi. Namun, fagositosis yang tidak lengkap akan menghasilkan bentuk sferosit. Eritrosit yang dilapisi dengan imunoglobulin, akan membentuk ikatan kompleks antigen-antibodi yang mampu mengikat protein komplemen kompleks C1 dan mengaktivasi komplemen jalur klasik (Kalfa, 2016).

B. *Cold agglutinin Syndrome*

1) *Cold agglutinin Syndrome*

Hemolisis yang terjadi pada tipe dingin diperantarai oleh antibodi dingin yang secara karakteristik memiliki agglutinin dingin (*Cold agglutinins*) IgM monoklonal. *Cold agglutinins* (CA) adalah autoantibodi yang mengakibatkan eritrosit mengalami aglutinasi pada suhu optimum 3-4°C. Spesifisitas CA adalah terhadap antigen I/i. Cold agglutinins yang berikatan dengan antibodi IgM pada permukaan eritrosit dan memulai aktivasi komplemen jalur klasik yang mengakibatkan terjadinya fagositosis dan lisisnya eritrosit secara langsung.

2) *Paroxysmal Cold Hemoglobinuria*

Paroxysmal cold hemoglobinuria merupakan bentuk yang jarang dari anemia hemolitik autoimun dan biasanya terjadi pada anak-anak. Hemolisis dapat menjadi berat dan intravaskular tetapi biasanya bersifat sementara setelah infeksi. *Paroxysmal cold hemoglobinuria* disebabkan oleh antibodi IgG bifasik yang berikatan dengan eritrosit pada suhu rendah dan menyebabkan lisis yang diperantarai oleh komplemen saat suhu meningkat. Hal ini dapat didiagnosis pada pasien dengan AHA dan tes Donath-Landsteiner yang positif. Pasien dengan PCH memiliki hemolisis bifasik yang disebut sebagai antibodi *Donath Landsteiner*, yang paling sering memiliki spesifisitas anti-P. Antibodi *Donath- Landsteiner* adalah antibodi kelas IgG yang menyelimuti eritrosit, namun tidak menyebabkan aglutinasi pada suhu rendah. Antibodi Donath- Landsteiner akan berikatan dengan *polyclonal cold reactive IgG-antibodies* dan mengakibatkan hemolisis. Hemolisis yang terjadi sepenuhnya tergantung pada komplemen dan suhu optimum untuk aktivasi komplemen pada suhu 37°C. Ikatan kompleks P dengan *polyclonal cold*



reactive IgG-antibodies adalah pemicu komplemen yang sangat kuat, menghasilkan aktivasi komplemen jalur klasik mengakibatkan hemolisis bersifat intravaskular dan masif. Pemeriksaan ini harus dipertimbangkan pada pasien dengan AHA dan DAT positif untuk IgG $\pm$ C3d (DAT kadang-kadang negatif), ketika CAD telah disingkirkan, dan terdapat hemoglobinuria, fitur serologis atipikal, atau pasien usia dibawah 18 tahun (Barcellini, 2015; Hill, 2018).

C. *Mixed Autoimmune Hemolytic Anemia*

Mixed Autoimmune Hemolytic Anemia disebabkan oleh kombinasi antibodi IgG hangat dan antibodi IgM dingin. DAT biasanya positif untuk IgG dan C3d. Gejala yang berhubungan dengan dingin jarang muncul, dan antibodi dingin memiliki titer antibodi yang rendah tetapi dengan amplitudo termal 30 hingga 37°C. Penyakit ini dapat didiagnosis dengan DAT positif untuk IgG dan C3d, antibodi dingin dengan amplitudo termal $\geq 30^\circ\text{C}$, dan gambaran klinis yang sesuai (Hill, 2018).

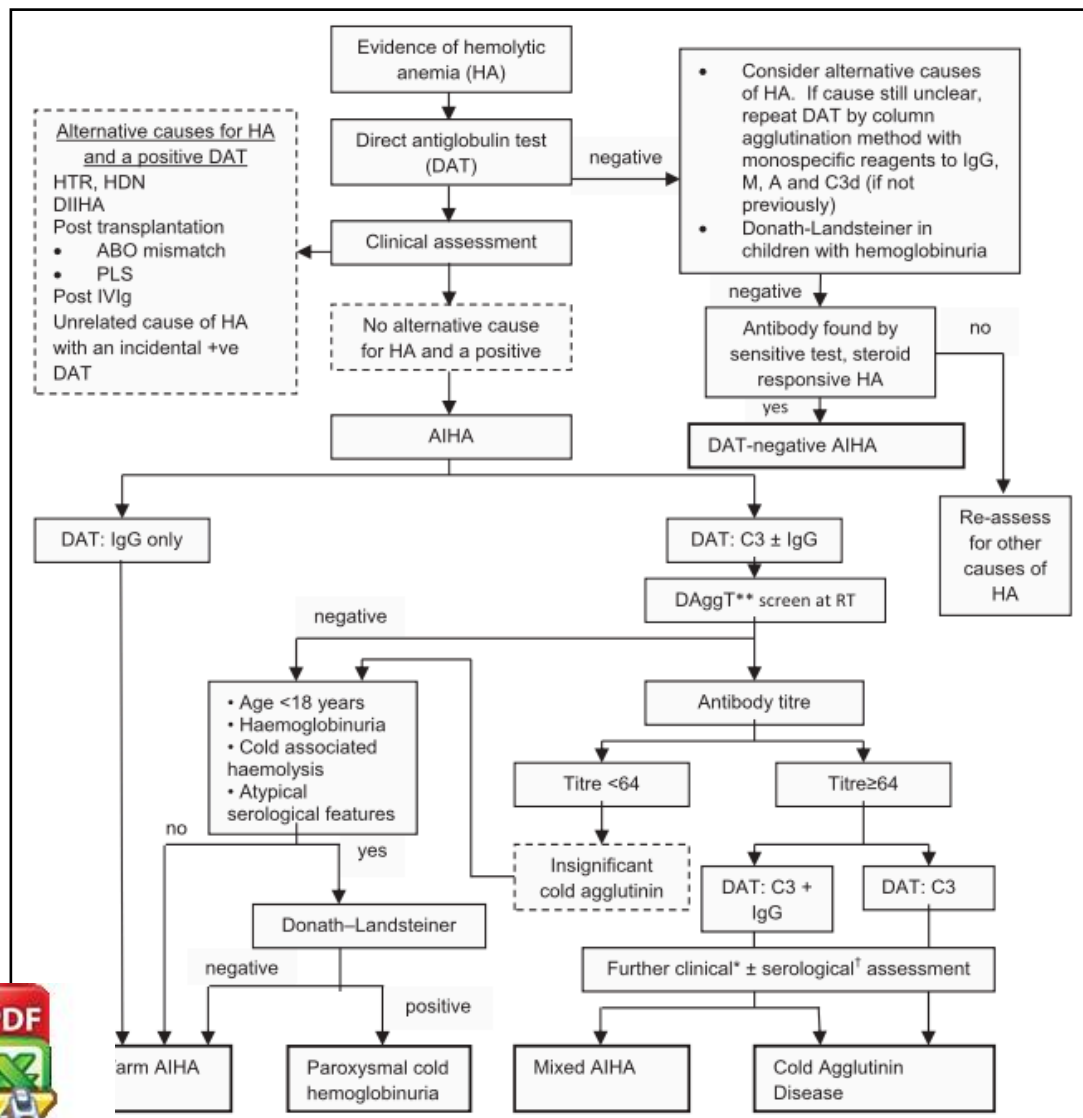
D. *Drug-Induced Immune Hemolytic Anemia*

Penggunaan sejumlah obat dapat menyebabkan hemolisis. Beberapa obat terkadang memicu terbentuknya antibodi yang menyebabkan tes *Coombs* positif dengan atau tanpa hemolisis. Kelainan *Drug-Induced Immune Hemolytic Anemia* sering dihubungkan dengan antibodi IgG. Ada beberapa mekanisme yang menyebabkan hemolisis karena obat. *Drug-Induced Immune Hemolytic Anemia* diakibatkan oleh beberapa tipe interaksi antara obat, antibodi, dan komponen membran eritrosit. Tiga mekanisme utama meliputi induksi autoantibodi, pembentukan neoantigen (kompleks imun), dan adsorpsi obat pada eritrosit. Anemia hemolitik autoimun akibat pembentukan neoantigen terjadi bila suatu obat berikatan dengan lemah dengan komponen eritrosit normal, dan sistem imun mempersepsikan kompleks obat dan komponen eritrosit sebagai benda asing. (Sigbjorn Berentsen,



2.1.6 Diagnosis

Diagnosis AHA dapat dilakukan dengan pendekatan bertahap mulai dari anamnesis sistematis hingga pemeriksaan fisik yang bertujuan untuk mengidentifikasi bukti laboratorium dan klinis hemolisis, lalu menentukan sifat imun hemolisis dengan tes anti-globulin. Setelah penyebab alternatif untuk temuan ini disingkirkan, AHA ditetapkan, dan klinisi dapat mencari penyebab sekunder, serta mengidentifikasi jenis AHA (Hill A., 2018).



Gambar 3. Alur diagnosis AHA (Hill A., 2018).



Pemeriksaan fisik, temuan yang umum didapatkan adalah pucat, ikterus kulit-mukosa, splenomegali, dan hepatomegali. Gejala lainnya yakni lemah, letih, sesak napas, hipotensi, takikardia, dan murmur sistolik dapat terdengar halus, tergantung pada tingkat keparahan anemia. Pada AHA kronis/kambuh, batu kandung empedu dan kelebihan zat besi (peningkatan feritin dan saturasi transferin) juga sering terjadi. Sekitar 10-15% AHA memiliki presentasi klinis yang dengan gejala berat, terutama ketika trombositopenia bersamaan dengan perdarahan terkait (sindrom Evans) (Barcellini, 2018). Gambaran klinis dapat diperparah oleh infeksi, terutama setelah splenektomi dan pada pasien yang kambuh dan telah menjalani banyak pengobatan. Gagal ginjal akut akibat hipoperfusi ginjal dan hemolisis masif dengan hemoglobinuria adalah komplikasi yang paling berat. Pada AHA berat yang didominasi oleh hemolisis intravaskular, komplikasi trombotik seperti emboli paru, koagulasi intravaskular diseminata, infark miokard dan stroke. (Barcellini, 2018; Berentsen, 2020).

Anemia hemolitik dapat diturunkan dari genetik, kemudian berkembang setelah lahir dapat pula disebabkan karena infeksi. Beberapa penyebab anemia hemolitik yang dipicu oleh genetik seperti talasemia, anemia *sickle* sel, Sedangkan kondisi infeksi yang dapat menyebabkan anemia hemolitik antara lain seperti hepatitis, infeksi virus Epstein-Barr, atau infeksi bakteri jenis tertentu. Penyebab dari penyakit autoimun, seperti SLE, *rheumatoidarthritis* (RA) dan kolitis ulseratif (Michalak *et al.*, 2020).

Warm AHA dan CAD, klinis yang dominan mencerminkan anemia, yang paling sering menyebabkan lemah, letih, lesu dan dispnea. Tanda lain termasuk pucat dan ikterus, serta hemolisis yang masif dapat menimbulkan hemoglobinuria. Pada CAD juga dapat terjadi sianosis atau bahkan nekrosis di ekstremitas tubuh. Pada wAHA, splenomegali atau hepatomegali dapat dikaitkan dengan hemolisis ekstravaskuler (Packman, 2008).



2.1.7 Pemeriksaan laboratorium

Dalam mendiagnosis AHA, ada 2 kriteria yang harus dipenuhi yaitu bukti klinis dan laboratorium. Adanya hemolisis dan bukti serologis terdapat autoantibodi.

1. Evaluasi laboratorium adanya hemolisis (Jäger et al., 2020)

Hemolisis terbukti dengan menemukan bukti kerusakan eritrosit dan peningkatan kompensasi dalam produksi eritrosit yang menstimulasinya.

a. Pemeriksaan Darah Rutin

Anemia hemolitik autoimun ditandai dengan penurunan kadar Hb yang biasanya berat dengan kadar kurang dari 7 gr/dL. Kadar trombosit dan leukosit biasanya masih normal. Bisa juga didapatkan peningkatan jumlah retikulosit (Jäger et al., 2020).

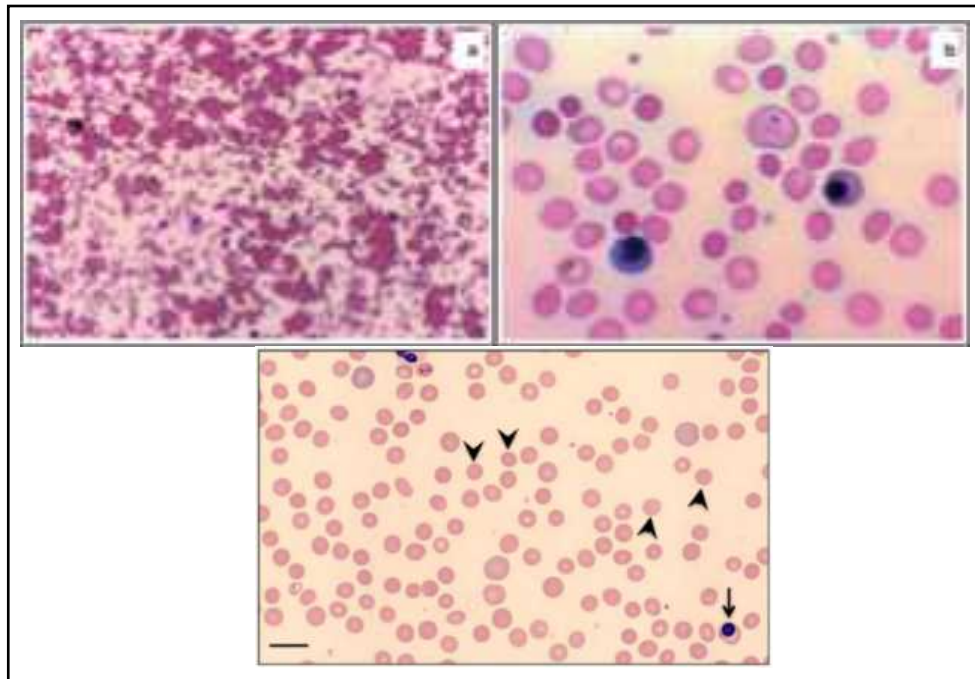
b. Pemeriksaan Nilai Retikulosit.

Kebanyakan pasien dengan hemolysis mengalami destruksi eritrosit disertai dengan peningkatan jumlah retikulosit. Retikulosit adalah eritrosit yang masih mengandung RNA dan merupakan penanda eritrosit yang berumur sekitar 24 jam atau kurang. Retikulosit diukur secara manual dengan pembuatan apusan darah dengan pewarnaan supravital Brilliant Cresyl Blue (BCB) 1%, atau New Methylene Blue (NMB) dan menghitung persentase sel yang menyerap noda, persentase ini perlu disesuaikan untuk hematokrit. Biasanya persentase di atas 1,5% dianggap sebagai indikasi peningkatan jumlah retikulosit (Marcus et al., 2014; Sigbjorn Berentsen, 2021).

c. Evaluasi Apusan Darah Tepi (ADT).

Evaluasi ADT yang menjadi ciri khas AHA adalah spherocytes. Pada AHA, antibodi dan/atau komplemen yang menempel pada eritrosit, akan difagosit oleh makrofag di limpa, beberapa membran eritrosit juga terkikis, sehingga mengurangi luas permukaan sel. Luas permukaan eritrosit akan berkurang setiap kali melewati limpa, bentuk sel berubah dari cakram bikonkaf ke bentuk *spherocyte* (Packman, 2015).





Gambar 4. Apusan Darah Tepi pasien AHA. (a) Cold agglutinin disease. (b) Warm antibody AIHA. Ukuran Eritrosit yang Mikrositik, ditemukan Polikromasia, Howell-Jolly body dan Normoblast. Warm antibody AIHA. Gambaran Polikromasia (Packman, 2015).

- d. Pemeriksaan Kimia Darah (Jäger et al., 2020; Marcus et al., 2014; Sigbjørn Berentsen, 2021)

1) Bilirubin serum

Serum pasien biasanya ikterik karena peningkatan kadar bilirubin serum akibat hemolisis. Hemoglobin dipecah menjadi haptoglobin, dan bagian heme dipecah terlebih dahulu menjadi bilirubin dan kemudian menjadi urobilinogen, yang diekskresikan dalam urin. Bilirubin yang dihasilkan dari penguraian heme adalah bilirubin tidak terkonjugasi, yang akan berikatan dengan albumin yang selanjutnya menuju ke hati, dan akan dikonjugasikan dan diekskresikan ke dalam empedu. Saat terjadi hemolisis, konsentrasi bilirubin tidak terkonjugasi (bilirubin indirek) meningkat.



2) Laktat *dehydrogenase* (LDH).

Laktat *dehydrogenase* Ketika eritrosit mengalami hemolisis, eritrosit akan melepaskan isinya, yang sebagian besar terdiri dari Hb tetapi juga termasuk LDH, enzim inilah yang ditemukan dalam konsentrasi tinggi dalam eritrosit. Sebagian besar pasien dengan hemolisis akan mengalami peningkatan kadar LDH, menjadikan ini sebagai tes sensitif. Namun, karena banyak proses lain, termasuk penyakit hati dan pneumonia, juga meningkatkan kadar LDH serum, maka temuan ini tidak spesifik untuk hemolisis.

3) Serum haptoglobin

Haptoglobin mengikat Hb serum bebas dan diambil oleh hati. Haptoglobin biasanya turun ke tingkat yang sangat rendah dalam hemolisis. Haptoglobin adalah reaktan fase akut dan dapat meningkat dengan penyakit sistemik atau peradangan. Namun, pasien dengan penyakit hati lanjut akan memiliki kadar haptoglobin yang rendah karena kurangnya sintesis, dan hingga 2% dari populasi yang mungkin secara bawaan kekurangan haptoglobin.

4) Hemoglobin serum

Jika hemolisis sangat cepat, jumlah Hb bebas yang dilepaskan akan membebani kapasitas pengikatan haptoglobin dan menyebabkan Hb bebas dalam plasma. Pemeriksaan ini dapat dihitung secara kasar dengan memeriksa warna plasma. Bahkan jumlah Hb bebas yang sedikit pun akan mengubah plasma menjadi merah muda. Pada hemolisis fulminan, plasma akan berwarna seperti cola.

e. Pemeriksaan Urinasis (Jäger et al., 2020; Marcus et al., 2014; Sigbjorn Berentsen, 2021)

1) Hemosiderin urin.

Ketika Hb diekskresikan oleh ginjal, zat besi disimpan di tubulus. Ketika sel-sel tubulus mengelupas, zat besi disekresikan di urin. Di urin dapat ditemukan zat besi, dan hasil positif adalah tanda lain dari hemolisis. Hemosiderinuria adalah tanda hemolisis, karena dibutuhkan satu



minggu bagi zat besi di sel tubulus untuk diekskresikan dalam jumlah yang cukup dan terdeteksi dalam urin.

2) Hemoglobin urin.

Proses hemolisis intravaskuler menyebabkan pembebasan Hb ke dalam plasma, karena hemolisis yang masif mengakibatkan ambang kapasitas absorpsi Hb oleh tubulus proksimal terlewat sehingga Hb dikeluarkan ke urin dalam bentuk hemoglobinuria. Hemoglobinuria membuat warna yang abnormal pada urine dari merah, coklat sampai kehitaman. Cara cepat untuk menunjukkan hemoglobinuria adalah memeriksa urin dengan dipstick diikuti dengan pemeriksaan mikroskopis. Pada hemolisis, dipstick akan mendeteksi "darah," sedangkan pemeriksaan mikroskopik akan negatif untuk eritrosit.

2. Evaluasi laboratorium adanya komponen autoantibodi

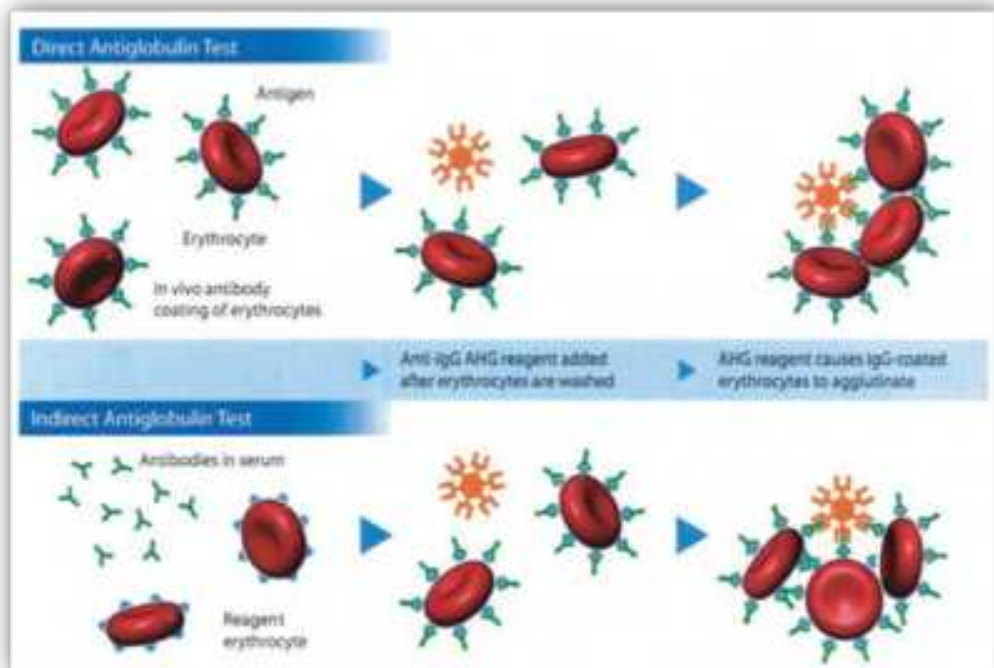
Bukti serologis adanya komponen autoimun (autoantibodi) ditunjukkan oleh hasil tes antiglobulin direk dan diikuti identifikasi autoantibodi dalam ekstrak eritrosit dan dapat pula dalam serum. Komponen autoimun ditunjukkan dengan keberadaan molekul IgG atau komplemen pada permukaan eritrosit. Pemeriksaan ini dapat dilakukan dengan melakukan tes antiglobulin direk (DAT). Immunoglobulin G yang terikat pada eritrosit tidak akan mengakibatkan aglutinasi, tetapi jika IgM yang diarahkan melawan IgG atau C3 ditambahkan, maka eritrosit akan mengalami aglutinasi, inilah yang membuktikan bahwa ada IgG dan/atau C3 pada membran eritrosit. Temuan DAT positif pada anemia hemolitik adalah diagnostik AHA. Namun individu dengan DAT positif lemah yang bersamaan dan penyebab hemolisis lainnya. Kekuatan hasil DAT dan derajat hemolisis harus cocok untuk menyimpulkan bahwa hemolisis dimediasi oleh imun (Bradley, 2002). Prosedur pemeriksaan untuk mendeteksi autoantibodi pada eritrosits sebagai berikut: (Bradley, 2002; Richard C, 2014)



Direct Antiglobulin Test (DAT); eritrosit pasien dicuci menggunakan salin NaCl 0,9%) dari protein-protein yang kemungkinannya menempel pada eritrosit. Selanjutnya antiserum atau antibodi monoclonal yang menggunakan

AHG (Anti Human Globulin) akan bereaksi terhadap berbagai immunoglobulin dan fraksi komplemen yang menyelimuti permukaan eritrosit, terutama IgG dan Cd3, dan akan membentuk aglutinasi.

- 2) Indirect Antiglobulin Test (IAT); Untuk mendeteksi autoantibodi yang terdapat pada serum. Serum pasien direaksikan dengan sel-sel reagen, diinkubasi pada suhu 37°C, kemudian ditambahkan AHG untuk memperbesar aglutinasi. Immunoglobulin yang beredar pada serum akan melekat pada sel-sel reagen, dan dapat dideteksi dengan terjadinya aglutinasi. (Gambar 5)



Gambar 5. Direct Antiglobulin Test (DAT) dan Indirect Antiglobulin Test (IAT)
(Richard C, 2014)

Antibodi DL memiliki karakteristik sebagai berikut: (Richard C, 2014)

- Spesifisitas: Antibodi Bifasik IgG dapat menunjukkan spesifisitas untuk antigen selain P, seperti anti-I, anti-p (anti-Gd), anti-i, dan anti-“Pr-like.”
- Aktivitas termal: Antibodi Biphaseic IgG dengan spesifisitas anti-P dapat menunjukkan aktivitas termal di atas 20°C, mengakibatkan aglutinasi eritrosit, atau bereaksi dengan IAT pada suhu 37°C.



- Subkelas Immunoglobulin: Antibodi IgM dapat memberikan tes DL positif, tetapi ini biasanya merupakan hasil positif palsu yang disebabkan oleh hemolisis monofasik. Bagaimanapun, pasien yang menunjukkan antibodi IgM dengan sifat hemolitik biphasic telah didiagnosis memiliki PCH. Antibodi tersebut memiliki spesifisitas anti-I, anti ITP, atau anti-P.

3. Evaluasi laboratorium adanya komponen alloantibodi

Pada AHA tipe warm, autoantibodi pada serum pasien secara umum akan bereaksi dengan semua eritrosit yang diuji, yang menutupi adanya alloantibodi. Sejumlah tes dapat mendeteksi adanya alloantibodi pada darah donor unit eritrosit, diantaranya adalah sebagai berikut: (Melca, 2017; Samad R., 2021)

a. Tes dilusi serum terhadap panel eritrosit

Jika autoantibodi reaktif lemah dan alloantibodi sangat reaktif, perbedaan kekuatan reaksi dari berbagai sel panel akan membuat jelas alloantibodi yang ada pada sampel. Upaya dilusi serum menyebabkan autoantibodi tersebut tidak akan bereaksi lagi, orang dapat memilih serum pasien yang bereaksi 1+ terhadap eritrosit donor, dan kemudian menguji adanya pengenceran terhadap panel eritrosit. Namun, tidak ada jaminan bahwa seorang pasien akan bereaksi lebih kuat dari autoantibodi tersebut. Ini teknik mudah dan cepat, tetapi tidak dapat diandalkan, prosedur yang lebih efektif harus dilakukan kecuali dalam situasi yang sangat mendesak.

b. Tes adsorpsi

Warm adsorpsi. Teknik adsorpsi optimal untuk mendeteksi alloantibodi dalam autoantibodi yang reaktif adalah autoadsorption prosedur warm. Dengan teknik ini, beberapa dari autoantibodi dielusi dari eritrosit pasien, seperti dengan " reagen ZZAP (campuran 0.1 mol / l dithiothreitol ditambah aktivasi sistein-papain 0.1% atau 0.1% ficin), dan kemudian sel-sel ini digunakan untuk menyerap autoantibodi dari serum pasien pada 37°C. Serum terserap kemudian dapat diuji untuk alloantibodi, karena alloantibodi tidak akan terserap ke eritrosit pasien.



Masalah yang dihadapi oleh layanan transfusi adalah bahwa pasien anemia berat, sulit mendapatkan volume yang cukup besar dari eritrosit untuk prosedur autoadsorption. Dokter harus menyediakan eritrosit sebanyak mungkin karena prosedur autoadsorption adalah metode yang paling efektif untuk mendeteksi alloantibodi pada pasien dengan autoantibodi hangat. Tes autoadsorption hangat tidak berguna untuk pasien yang sebelumnya sudah mendapat terapi transfusi (dalam rentang 3 bulan terakhir) karena bahkan sebagian kecil sel yang ditransfusikan dapat menyerap alloantibodi selama adsorpsi, sehingga hasil tidak valid.

Allogeneic adsorption. Ketika tes autoadsorption tidak dapat dilakukan karena volume eritrosit pasien yang tidak memadai atau belum lama mendapat terapi transfusi maka prosedur yang optimal adalah allogeneic adsorption. Dalam prosedur ini adsorpsi autoantibodi dari serum pasien dilakukan dengan beberapa sampel eritrosit allogenic dari berbagai fenotipe. Misalnya, melakukan sebuah adsorpsi menggunakan Jk (a) sel, sebuah serum yang mengandung autoantibodi hangat dan sebuah anti-Jk, anti-Jk alloantibodi akan menghapus autoantibodi namun tidak anti-Jk. Dengan memilih dua atau tiga sampel dari berbagai fenotipe eritrosit, alloantibodi yang bertanggung jawab untuk hampir semua reaksi transfusi hemolitik dapat dideteksi.

c. Transfusi fenotipe eritrosit yang sesuai

Pada saat dilakukan ekstended fenotyping dari eritrosit pasien, memungkinkan untuk menentukan bahwa alloantibodi seorang pasien dapat berkembang dari transfusi berulang atau kehamilan, misalnya jika pasien adalah jk (+), memungkinkan untuk munculnya alloantibodi anti-jk. Transfusi eritrosit yang diseleksi berdasarkan fenotipe pasien dapat menjamin keamanan tetapi masih kontroversial dan tindakan pencegahan harus disiapkan. Untuk keamanan yang memadai harus dilakukan ekstended

notyping pada sejumlah antigen eritrosit (seperti D,C,E, c, e, K, Jk^a, Jk^b, /^a, Fy^b, S dan s).



2.1.8 Terapi

Pengobatan AHA memerlukan pendekatan individual untuk setiap pasien, terkadang dengan evaluasi kondisi klinis dan modifikasi terapi secara berulang-ulang. Pasien usia lanjut memiliki toleransi yang lebih rendah terhadap anemia sehingga lebih sering memerlukan pengobatan, dan pengobatan tersebut lebih mungkin menimbulkan efek samping obat, interaksi obat dan toksisitas terapi. Pengobatan tergantung pada jenis AHA, keberadaan dan tingkat keparahan gejala klinis, penyakit yang mendasari yang menyebabkan AHA, dan adanya penyakit penyerta. Secara umum, anemia simptomatik merupakan indikasi utama untuk terapi pada AHA yang baru didiagnosis maupun AHA yang menetap (Michalak, 2020).

1) Terapi AHA

Dalam pengobatan AHA sekunder, sangat penting untuk mengobati penyakit autoimun yang mendasarinya. Untuk semua kasus yang bergejala, terlepas dari tingkat keparahan AHA, setiap pasien harus menerima asam folat dan suplemen vitamin lain yang diperlukan. Transfusi PRC harus dibatasi hanya pada kasus-kasus kritis dengan anemia berat (hemoglobin <6 g/dL) dan/atau pasien yang hemodinamiknya tidak stabil, yang sering terjadi pada pasien usia lanjut (Brodsky, 2019).

Pencegahan perdarahan gastrointestinal, osteoporosis, dan infeksi *Pneumocystis jirovecii* juga harus dipertimbangkan pada pasien yang menjalani terapi *glucocorticosteroid* jangka panjang. Profilaksis *venous thromboembolism* harus dipertimbangkan pada pasien dengan hemolisis dan faktor risiko tambahan. Hal ini sering dipertimbangkan selama hemolisis akut atau setelah splenektomi. Imunoglobulin intravena, *plasmapheresis*, splenektomi atau embolisasi limfe parsial adalah terapi penyelamatan untuk situasi darurat. Pada pasien AHA berat, dengan kebutuhan transfusi darah yang sering dan retikulositopenia yang signifikan, agen yang eritropoiesis dapat dipertimbangkan (Jäger U., et al; 2019). Infeksi dan efek terapi dapat mendasari AHA sekunder. Oleh karena itu, asumsi, pengobatan dan pencegahan infeksi yang cepat (terutama



Mycoplasma pneumonia, hepatitis B, hepatitis C, HIV, EBV, CMV, *parvovirus* B19, tuberkulosis) direkomendasikan. Terapi eliminasi sel B (misalnya RTX) dikaitkan dengan kemungkinan reaktivasi infeksi hepatitis B, oleh karena itu profilaksis antivirus disarankan. Sebelum splenektomi, vaksinasi terhadap spesies *Haemophilus influenzae*, *Meningococcus*, dan *Pneumococcus* direkomendasikan (Brodsky, 2019).

2) Terapi *warm* AHA

Glukokortikosteroid merupakan terapi lini pertama. Umumnya, 1-1,5 mg/kg/hari prednison oral selama 3-4 minggu dapat meningkatkan hemoglobin dan mengendalikan hemolisis pada 70-85% kasus. Steroid kemudian harus dikurangi secara bertahap dan dihentikan selama sekitar 4-6 bulan, dengan memeriksa jumlah darah dan indeks hemolitik secara ketat. Pada pasien dengan hemolisis yang sangat cepat dan anemia berat atau kasus yang kompleks seperti sindrom Evans, dapat diberikan metilprednisolon intravena dengan dosis 100-200 mg/hari selama 10-14 hari atau 250-1000 mg/hari selama 1-3 hari. Untuk pasien yang tidak responsif terhadap terapi lini pertama, kambuh dini, atau membutuhkan dosis tinggi yang tidak dapat diterima (lebih dari 10-15 mg prednison per hari), terapi lini kedua diindikasikan (Barcellini W., et al; 2020).

Telah dilaporkan bahwa terapi kombinasi rituximab (RTX) dengan glukokortikosteroid, sebagai pengobatan lini pertama, memberikan respons yang lebih baik daripada terapi tunggal glukokortikosteroid. Rituximab memberikan tingkat respons 70-80% pada pengobatan lini kedua AHA yang diberikan biasanya dengan dosis 375 mg/m² sekali seminggu selama 4 minggu. Sebuah penelitian prospektif selama 10 tahun menunjukkan kemanjuran (baik hasil jangka pendek maupun jangka panjang) RTX dosis rendah (dosis tetap 100 mg sekali seminggu selama 4 minggu) pada AHA primer, dengan efek yang lebih baik pada AHA, namun dengan tingkat kekambuhan yang signifikan dalam waktu 2 tahun (Fattizzo B, 2019; ., 2016).



Splenektomi dapat dianggap sebagai pengobatan lini ketiga dari terapi wAHA. Pasien wAHA primer, 40-90% mencapai respons setelah splenektomi, tetapi kekambuhan terjadi pada sekitar 80% pasien. Splenektomi adalah bentuk pengobatan yang invasif dan tidak dapat dipulihkan serta membawa peningkatan risiko trombotik dan infeksi bakteri. Namun, dalam beberapa tahun terakhir, risiko komplikasi dan mortalitas yang terkait dengan splenektomi telah berkurang. Akan tetapi, tidak ada data tentang kemanjuran dan keamanan terapi ini pada pasien wAHA usia lanjut (Patel, 2012; Sys, 2017).

Obat immunosupresif, terutama azatioprin dan mikofenolat-mofetil merupakan alternatif untuk RTX pada wAHA yang terkait dengan SLE (Jäger U., 2019). Selain itu, jalur pengobatan yang disarankan sebelumnya seperti siklofosfamid atau transplantasi sumsum tulang memiliki basis bukti yang lebih lemah dan membawa risiko komplikasi potensial yang lebih besar (Jäger U., 2019; Brodsky, 2019). Pengobatan AHA terkait CLL tergantung pada stadium CLL. Manajemen AHA pada tahap awal CLL sama dengan AHA primer. Pasien dengan CLL yang membutuhkan terapi atau yang tidak merespons glukokortikosteroid dan RTX membutuhkan terapi target CLL (Michalak, 2020).

3) Terapi CAD dan PCH

Pengobatan CAD ringan tidak dianjurkan, terutama untuk pasien dengan kadar Hb > 10 g/dl. Pada pasien CAD, perlindungan termal pada bagian distal tubuh terhadap dingin disarankan. Rituximab sendiri atau dalam kombinasi dengan obat lain, terutama bendamustine, saat ini merupakan pengobatan lini pertama untuk CAD yang berat (Jäger U., 2019). Pilihan pengobatan lain adalah eculizumab, antibodi monoklonal yang dimanusiakan yang menghambat komplemen tingkat C5 (Michalak, 2020).

Dalam kasus hemolisis berat, plasmaferesis dipertimbangkan, yang sangat efektif dalam menghilangkan aglutinin dingin, namun hanya untuk waktu yang

Untuk menghindari aktivasi komplemen yang disebabkan oleh infus plasmaferesis harus dilakukan dengan albumin sebagai cairan pengganti. Splenektomi tidak dianjurkan untuk CAD karena hati adalah lokasi utama untuk



hemolisis ekstrasvaskular. Transfusi RBC menggunakan darah yang lebih hangat mungkin diperlukan bila diindikasikan pada anemia bergejala berat (Michalak, 2020).

2.1.9 Prognosis

Remisi dan kekambuhan menandai perjalanan klinis yang tidak terduga dari antibodi pada wAHA. Salah satu penelitian melaporkan bahwa kelangsungan hidup pasien wAHA sebesar 73% dengan masa hidup 10 tahun. Pada anak-anak, wAHA sering menunjukkan respons yang cepat terhadap glukokortikoid. Pasien yang pulih dari episode hemolitik memiliki prognosis yang baik. Anak-anak dengan AHA kronis cenderung memiliki tingkat mortalitas berkisar antara 10-30%. Mortalitas tinggi terlihat pada AHA kronis yang disertai dengan trombositopenia imun simultan (sindrom Evans) (Quentin, 2016; Packman, 2015).

Pasien CAD umumnya sering bertahan selama bertahun-tahun. Mortalitas dapat terjadi akibat infeksi atau anemia berat atau dari penyakit limfoma yang mendasarinya. Penyakit CAD pasca infeksi biasanya sembuh sendiri, dengan pemulihan terjadi dalam beberapa minggu. Bentuk *post infectious* dari *paroxysmal cold hemoglobinuria* berhenti secara spontan dalam beberapa hari sampai beberapa minggu setelah onset, meskipun antibodi *Donath-Landsteiner* dapat bertahan dalam titer rendah selama beberapa tahun. Pasien dengan *paroxysmal cold hemoglobinuria* dapat bertahan hidup selama bertahun-tahun meskipun kadang-kadang terjadi paroksismal hemolisis (Quentin, 2016; Packman, 2015).

Drug-induced immune hemolytic anemia biasanya ringan, dan prognosinya baik. Hemolisis yang parah menyebabkan gagal ginjal atau kematian. Dalam kebanyakan kasus, hemolisis berhenti, dan DAT menjadi negatif segera setelah obat dihentikan dan dikeluarkan dari sirkulasi (Quentin, 2016).



2.2 Derajat Anemia

Anemia adalah kondisi dimana berkurangnya sel darah merah (eritrosit) dalam sirkulasi darah atau massa hemoglobin sehingga tidak mampu memenuhi fungsinya sebagai pembawa oksigen keseluruh jaringan (Tarwoto, 2007). Menurut WHO (2014) anemia adalah suatu kondisi dimana jumlah sel darah merah atau kemampuan pengangkutan oksigen oleh sel darah merah tidak dapat memenuhi kebutuhan normal yang berbeda-beda tergantung pada umur, jenis kelamin, ketinggian (diatas permukaan laut), kebiasaan merokok, dan kehamilan. Adapun kriteria anemia menurut WHO dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Kriteria Anemia Berdasarkan Kisaran Hemoglobin Normal (WHO,2014)

Usia dan Jenis Kelamin	Hb Normal (gr/dl)	Anemia (gr/dl)
Lahir (aterm)	13.5 – 18.5	<13.5
Anak-anak : 2 – 6 bulan	9.5 – 13.5	<9.5
Anak-anak : 2 – 6 tahun	11.0 – 14.0	<11.0
Anak-anak : 6 – 12 tahun	11.5 – 15.5	<11.5
Laki-laki dewasa	13.0 – 17.0	<13.0
Perempuan dewasa tidak hamil	12.0 – 15.0	<12.0
Perempuan dewasa hamil	11.0 – 14.0	<11.0

Berdasarkan WHO (2014), berikut adalah klasifikasi anemia berdasarkan derajat keparahan (lihat Tabel 3).

Tabel 3. Klasifikasi Derajat Keparahannya Anemia (WHO,2014)

Klasifikasi	Kadar Hemoglobin
Anemia ringan	10.0 – 10.9 gr/dL
Anemia sedang	7.0 – 9.9 gr/dL
Anemia berat	< 7.0 gr/dL

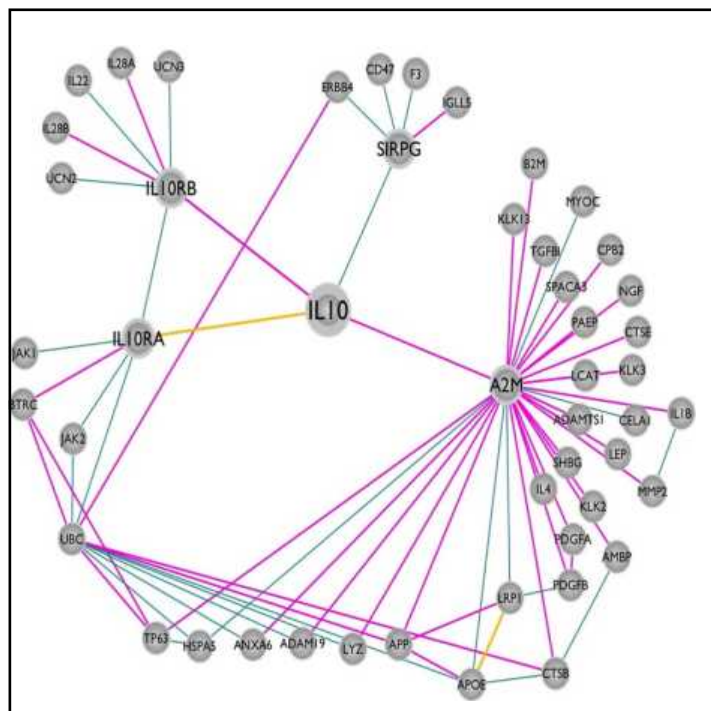
2.3 Interleukin-10

Interleukin-10 pada awalnya dideskripsikan sebagai sitokin turunan Th-2. Namun, telah diterima secara luas bahwa IL-10 tidak terbatas pada subset sel T tertentu, melainkan diproduksi di hampir semua leukosit. Secara *in vivo*, sumber -10 termasuk sel T helper, monosit, makrofag, dan sel dendritik, namun enis sel efektor imun yang mampu memproduksi IL-10 dalam konteks termasuk sel B, sel T sitotoksik, sel *Natural killer* (NK), sel mast, dan t seperti neutrofil dan eosinofil. Selain itu, jenis efektor non-imun seperti sel



epitel dan keratinosit juga mampu memproduksi IL-10 sebagai respons terhadap infeksi atau kerusakan jaringan serta sel tumor (Iyer S.S., Cheng G., 2012).

Interleukin-10 ditemukan pada tahun 1990 di DNAX Research Institute (Palo Alto, CA, AS; now Merck) dan pada awalnya dikenal dengan nama *cytokine synthesis inhibitory factor* (CSIF) karena ditemukan menghambat produksi sitokin dari sel Th-1. Saat ini, IL-10 adalah sitokin antinflamasi yang paling banyak dipelajari dan dikarakterisasi dengan baik, terutama karena pemberian atau penghambatan IL-10 memiliki potensi untuk digunakan sebagai terapi klinis. Karena potensi aplikasi klinisnya, penelitian ekstensif tentang IL-10 telah dilakukan pada model tikus dan manusia untuk memajukan pemahaman kita tentang aktivitasnya. Secara struktural, IL-10 bersifat homodimerik, yang berarti terdiri dari dua rantai protein yang identik (Gambar 6). Gen yang mengkode IL-10 pada mamalia terletak pada kromosom 1 (Moore *et al.*, 2001).



3. Jaringan interaksi protein-protein dari IL-10. Terdapat 49 protein dan 70 alam jaringan ini dan hanya 2 interaksi yang memiliki data struktural dalam bentuk dalam PDB (garis warna kuning). Dibuatkan model *interface* untuk 40 interaksi, sehingga total ada 42 interaksi dengan model *interface* (garis warna merah muda). 8 sisi (dari 70) tidak dapat dimodelkan dan ditampilkan dalam warna cyan (Acuner *et al.*, 2014).

Sistem kekebalan adaptif meliputi limfosit T (berasal dari timus) dan limfosit B (berasal dari sumsum tulang). Sel T terbagi menjadi dua kelas: sel T *helper* dan sel T *killer*, yang dapat dibedakan berdasarkan ekspresi molekul permukaan CD4+ dan CD8+. Sel dendritik sangat penting dalam aktivasi respons imun adaptif (Gambar 7). Proses imunitas adaptif meningkatkan respon inflamasi terhadap infeksi. Akan tetapi, respon inflamasi juga dapat menyebabkan kerusakan jaringan yang luas atau bahkan berakibat fatal jika tidak terkontrol. Untuk mencegah efek yang berpotensi merusak hal ini, maka sistem kekebalan tubuh telah mengembangkan mekanisme untuk mengatur aktivitasnya sendiri. Salah satu mediator utama dari fungsi pengaturan diri ini adalah sitokin IL-10 (Howes *et al.*, 2014).

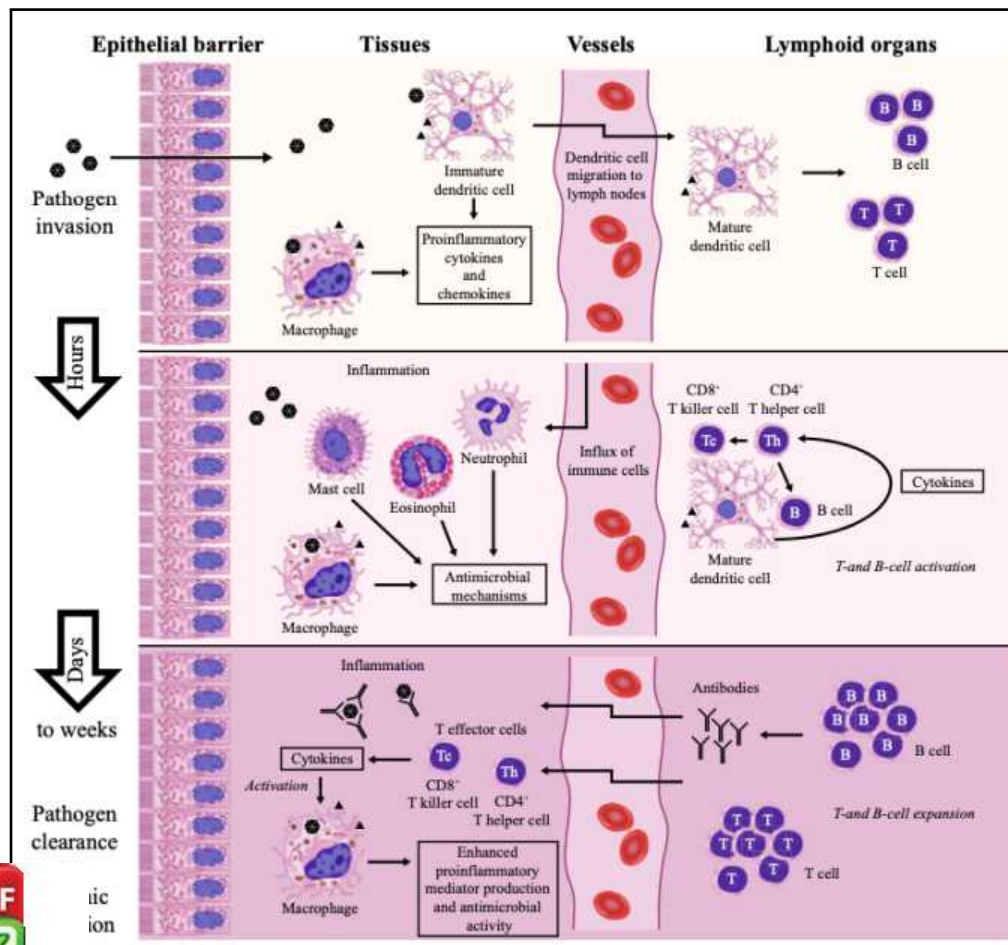


Fig. 7. Gambaran umum respons kekebalan terhadap infeksi (Howes *et al.*, 2014).



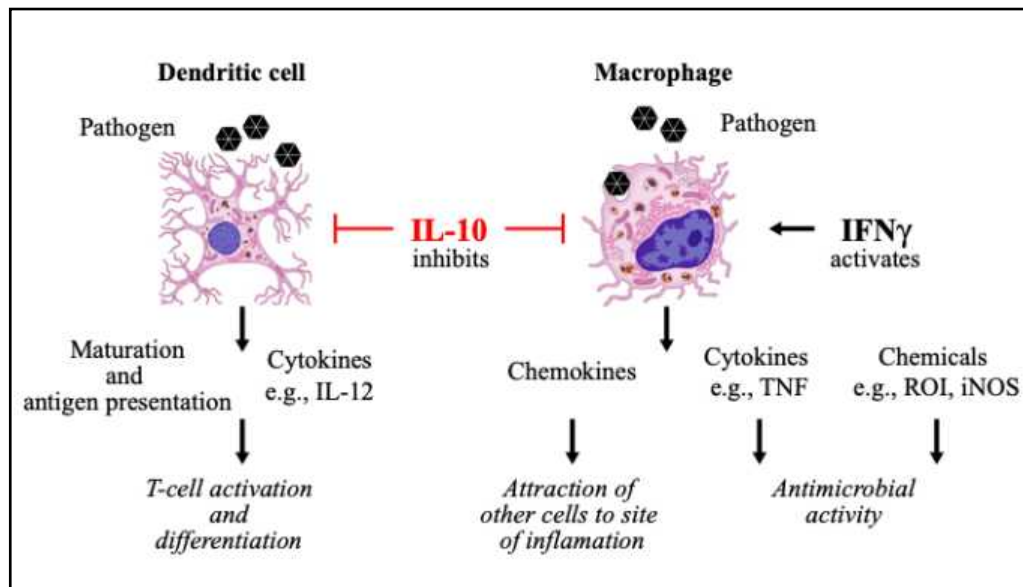
Interleukin-10 adalah sitokin immunosupresif yang mencegah kerusakan yang diperantarai oleh kekebalan tubuh dengan menekan respons inflamasi. Oleh karena itu, dapat digambarkan sebagai 'rem' dari respons imun. Interleukin-10 juga dapat meredam respon imun yang berbahaya selama alergi dan autoimunitas serta mencegah peradangan yang tidak perlu seperti kolitis (penyakit yang disebabkan oleh peradangan sebagai respons terhadap bakteri komensal dalam usus). Namun, keseimbangan produksi IL-10 yang tepat harus dijaga karena terlalu banyak IL-10 dapat mengganggu kemampuan sistem kekebalan tubuh untuk memberantas infeksi, yang menyebabkan infeksi kronis, seperti tuberkulosis. Sebaliknya, IL-10 juga telah terbukti menstimulasi sel B dan sel T *killer* CD8+. Aktivitas stimulasi IL-10 ini terbukti penting dalam beberapa penyakit seperti kanker, mukosal immunity, dan respons imun antivirus. Oleh karena itu, IL-10 merupakan sitokin multifungsi (Howes *et al.*, 2014).

Sel pertama yang ditemukan memproduksi IL-10 adalah sel Th-2. Pada manusia dan tikus, IL-10 diproduksi oleh sebagian besar sel respon imun bawaan dan adaptif. Dari respon imun bawaan, makrofag, sel dendritik, sel mast, neutrofil, eosinofil, dan sel NK adalah sumber IL-10. Dari respon imun adaptif, sel B, Sel T helper CD4+ (Th-1, Th-2, Th-17), dan sel T helper CD8+ dapat menghasilkan IL-10. Selain subset sel T helper CD4+, ada kelompok sel T CD4+ lain yang disebut sel T regulator. Sel Treg sangat penting dalam memediasi proses yang disebut 'toleransi', yang mencegah sistem kekebalan tubuh untuk secara langsung menyerang host. Sel Treg juga dapat menjadi sumber IL-10 dan memediasi beberapa aktivitas regulasi mereka melalui IL-10. Oleh karena itu, produksi IL-10 tampaknya menjadi mekanisme pengaturan umpan balik yang banyak digunakan oleh sel-sel imun untuk mengatur diri sendiri atau sel-sel di sekitarnya (Saraiva dan O'Garra, 2010).

Fungsi dominan dari IL-10 adalah sebagai sitokin Imunosupresif. Namun, IL-10 juga dapat memiliki efek Immunostimulan pada jenis sel tertentu. Makrofag dan sel dendritik menjadi aktif pada awal infeksi. Sel-sel ini memediasi respons inflamasi awal yang mengaktifkan respons imun adaptif selanjutnya, yang mencakup aktivasi sel T. Oleh karena itu, makrofag dan sel dendritik meningkatkan respons imun pada tahap awal. Interleukin-10 memiliki aktivitas penekanan yang kuat pada makrofag



dan sel dendritik. Hal ini dapat menghambat produksi sitokin (TNF, IL-12, dll) dan kemokin, pematangan dan migrasi ke organ limfoid, serta kemampuannya untuk mempresentasikan antigen ke sel T (Gambar 8). Interleukin-10 juga dapat menghambat pembunuhan patogen intraseluler oleh makrofag. Dengan cara inilah IL-10 dapat "mematikan" respons imun dengan meredam makrofag dan dendritik. Aktivitas sel secara langsung dan tidak langsung dengan menghambat aktivasi sel T dan fungsi efektor (Moore et al., 2001).

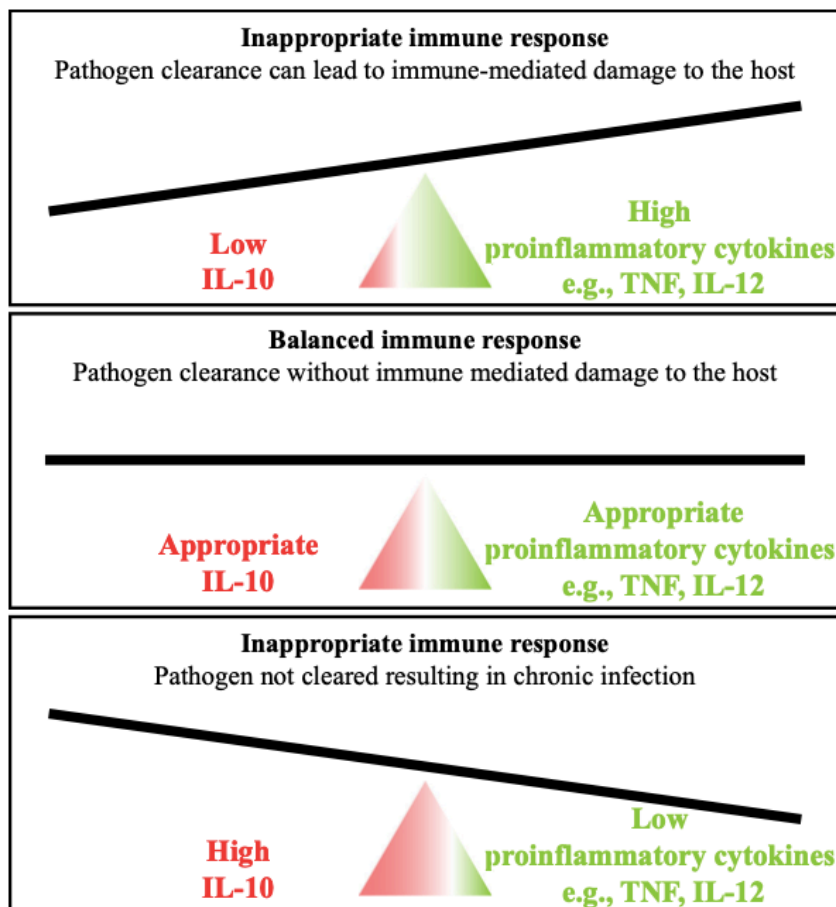


Gambar 8. Imunosupresif IL-10 pada makrofag dan sel dendritik (Howes *et al.*, 2014).

Interleukin-10 meskipun memiliki efek spesifik pada jenis sel tertentu, dampak keseluruhan IL-10 pada *host* tergantung pada konteksnya. Ketika tingkat peradangan yang tinggi diinduksi, perlu untuk menurunkan respons imun untuk menghindari kerusakan pada *host*. Dalam keadaan ini, imunopatologi (kerusakan *host*) dialami ketika produksi IL-10 tidak mencukupi (Gambar 9). Imbas dari peran IL-10 yang bermanfaat ini adalah bahwa penyembuhan infeksi kurang efisien. Namun demikian, ketika risiko kerusakan yang dimediasi oleh sistem imun tinggi, pada akhirnya IL-10 menguntungkan bagi *host*. Aktivitas imunosupresif IL-10 ini juga berguna bagi *host* dalam konteks alergi dan autoimunitas, respons imun berlebihan terhadap rangsangan yang tidak berbahaya. Namun, dengan



latar belakang imunologi yang berbeda, aktivitas IL-10 dapat merugikan *host*. Hal ini terjadi ketika respons imun tidak terlalu berlebihan, tetapi lebih bersifat melindungi *host*. Oleh karena itu, penekanan respons imun oleh karena terlalu banyak IL-10 tidak tepat, dan efek keseluruhannya adalah penyembuhan infeksi gagal sehingga menyebabkan infeksi kronis (Gambar 9). Dalam keadaan ini, penurunan IL-10 meningkatkan pembersihan patogen tanpa menginduksi kerusakan yang diperantarai oleh imun. Oleh karena itu, regulasi imun oleh IL-10 merupakan pedang bermata dua, yang bertindak untuk kepentingan *host* dalam beberapa situasi (Howes *et al.*, 2014).



Gambar 9. Interleukin-10 dan *maintenance* keseimbangan respon imun (Howes *et al.*, 2014).



2.4 Kadar IL-10 pada AHA

Regulasi yang dimediasi oleh sel T dari sistem imun humoral telah terbukti memainkan peran penting dalam hilangnya *self-tolerance* pada AHA. Dalam beberapa tahun terakhir, peningkatan respons proliferasi *in vitro* sel T dan peningkatan sitotoksitas sel NK terhadap *Red blood cell* (RBC) autologus telah dijelaskan dalam AHA. Hingga beberapa tahun yang lalu, sel T helper *Cluster of differentiation* 4 (CD4+) dibagi menjadi dua subset sel T utama, yang disebut subset Th-1 dan Th-2. Baru-baru ini, sel Th-17, yang ditandai dengan sekresi Interleukin-17 (IL-17), telah diidentifikasi sebagai efektor utama dalam pengembangan banyak penyakit autoimun, termasuk AHA. Peningkatan frekuensi sel Th-17 dan peningkatan sekresi IL-17 ditemukan berkorelasi erat dengan aktivitas penyakit pada pasien AHA. Secara konsisten, dalam model tikus AHA, transfer adopsi sel Th-17 meningkatkan respons antibodi anti-RBC dan meningkatkan timbulnya AHA, sedangkan timbulnya penyakit dibatalkan oleh netralisasi IL-17 secara *in vivo* (Barcellini W., 2015).

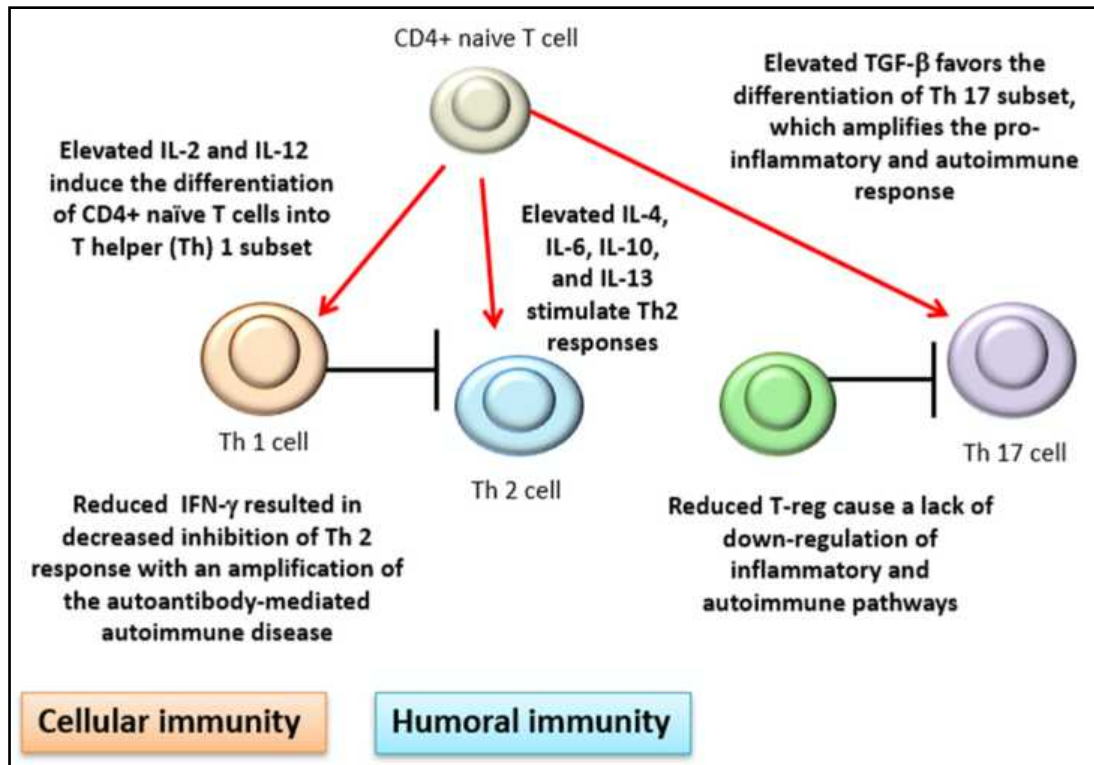
Disregulasi sitokin pada AHA, terdapat banyak temuan yang terkadang saling bertentangan, interleukin IL-4, IL-6, dan IL-10 telah ditemukan meningkat pada pasien dibandingkan dengan kontrol yang sehat. Hal ini konsisten dengan respons humoral Th-2 yang lazim dan mekanisme penghancuran RBC yang dimediasi oleh antibodi pada AHA. IFN- γ telah dilaporkan berkurang pada pasien AHA dibandingkan dengan kontrol, yang mengakibatkan penurunan penghambatan respons Th-2, dan akibatnya dalam amplifikasi penyakit autoimun yang diperantarai oleh autoantibodi (Barcellini W., 2020).

Imunitas seluler juga terlibat dengan peningkatan aktivitas limfosit CD8+T sitotoksik, limfosit T sel NK, dan makrofag yang teraktivasi. Selain itu, IL-2 dan IL-12, yang menginduksi diferensiasi sel T naif CD4+ ke dalam subset Th-1, telah ditemukan meningkat, yang selanjutnya meningkatkan kekebalan seluler. Sejalan dengan



lebih ini, *transforming growth factor* (TGF)- β telah dilaporkan sebagai tan. Sitokin pleiotropik ini mendukung diferensiasi subset Th-17, yang kuat respon pro-inflamasi dan autoimun. Subset limfosit yang mampu kan regulasi respons autoimun seperti sel T regulator (Treg) CD4+ perifer

telah dilaporkan berkurang pada pasien AHA dibandingkan dengan kontrol, sekali lagi mendukung respons autoimun (Gambar 10) (Barcellini W., 2020).

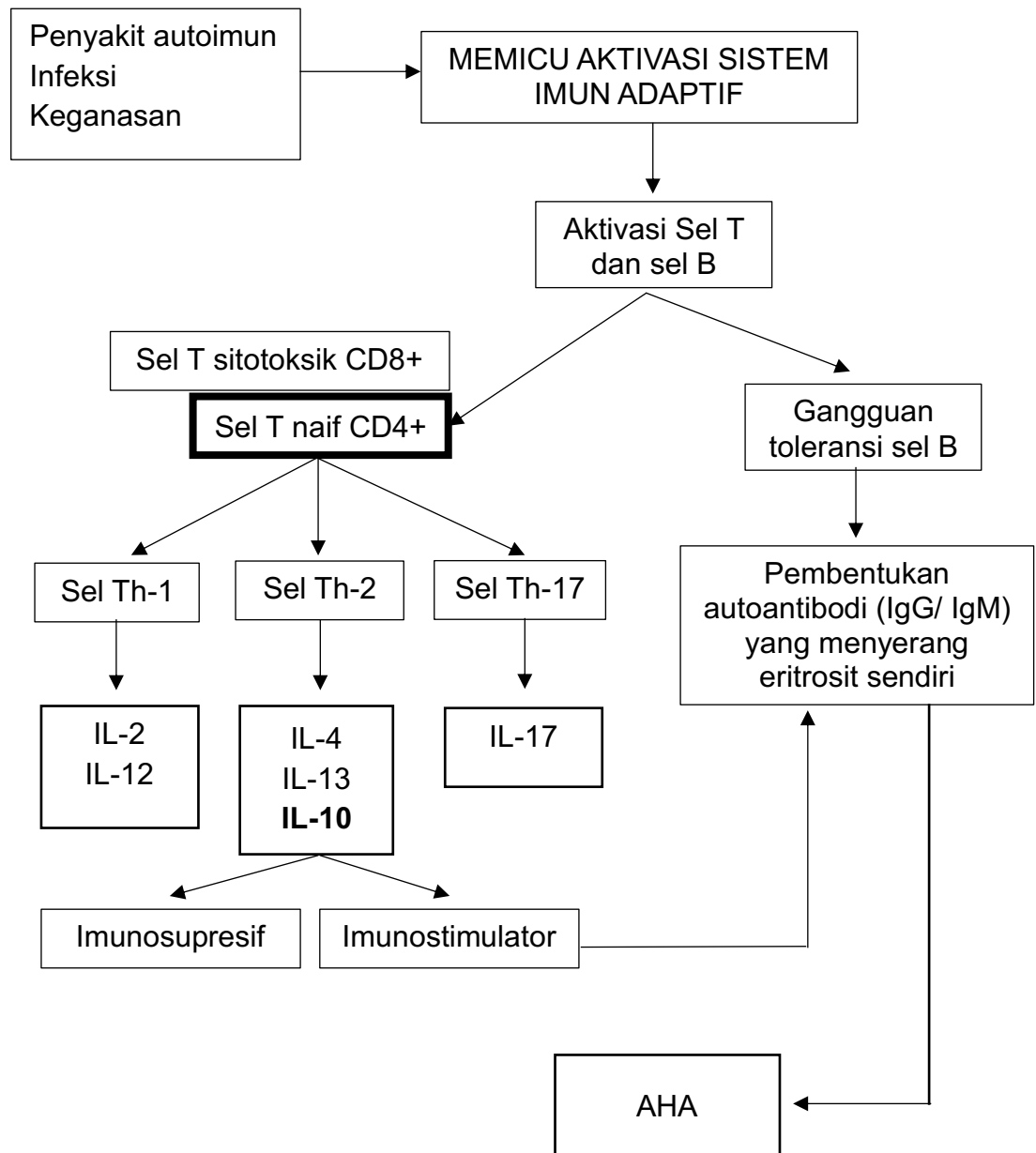


Gambar 10. Disregulasi sitokin pada AHA. Panah merah menunjukkan stimulasi penghambatan/ penghambatan garis hitam (Barcellini W., 2020).

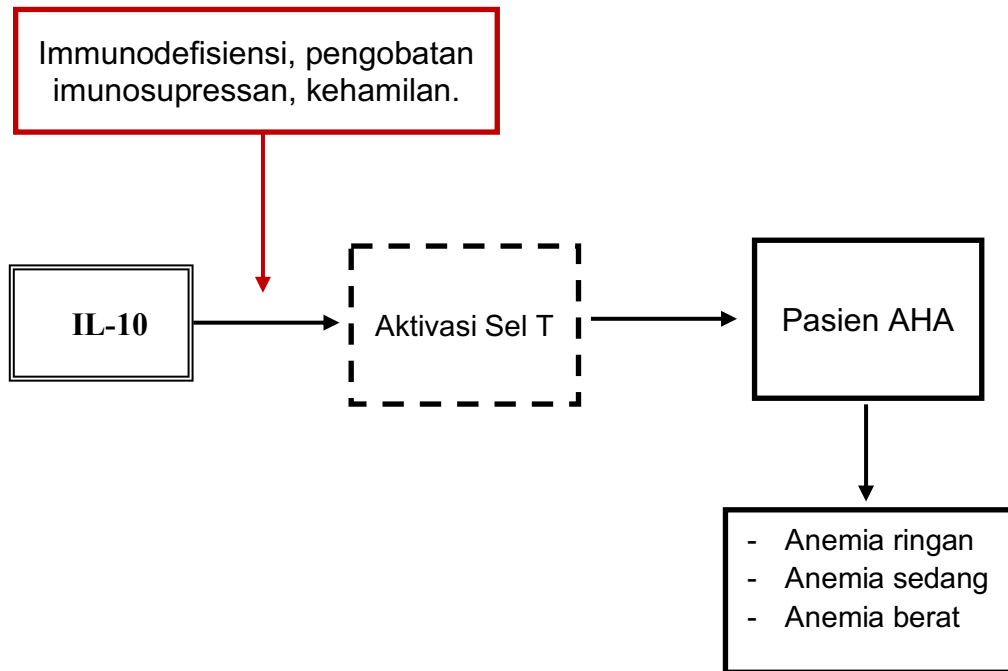
Penelitian Barcellini et al, baru-baru ini didapatkan bahwa Treg CD4⁺ yang bersirkulasi ditemukan berkurang pada pasien dengan AHA, bersama dengan tingkat IL-10 dan IL-12 yang tinggi. Tregs memproduksi IL-10 dan TGF-β, dan ketidakseimbangan IL-10/IL-12 dengan demikian dapat memainkan peran penting dalam permulaan dan/atau pemeliharaan AHA. Beberapa kelainan sitokin imunoregulasi lainnya telah ditemukan pada AHA: kadar serum IL-1α, IL-2/IL-2R, IL-6, dan IL-21 ditemukan meningkat; pada percobaan kultur, sitokin Th-1 IL-2 dan IL-12 dilaporkan meningkat, sementara IFN-γ ditemukan berkurang. Selain itu, sitokin Th-2 IL-4 dan IL-13 dilaporkan meningkat, bersama dengan peningkatan produksi IL-17 (Barcellini W., 2015).



2.5 Kerangka Teori



2.6 Kerangka Konsep



Keterangan:

	: Variabel tergantung
	: Variabel perancu
	: Variabel antara
	: Variabel bebas

