

**HUBUNGAN ANTARA ANTI HUMAN PLATELET ANTIGEN
DENGAN REFRAKTER TROMBOSIT PADA PASIEN
MULTITRANSFUSI**

**ASSOCIATION BETWEEN THE ANTIBODIES AGAINST HUMAN
PLATELET ANTIGEN AND PLATELET REFRACTORINESS IN
MULTITRANSFUSED PATIENTS**



**ISMIRAWATI
C085222008**



**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS
PROGRAM STUDI ILMU PATOLOGI KLINIK
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2026**

**HUBUNGAN ANTARA ANTI *HUMAN PLATELET ANTIGEN* DENGAN
REFRAKTER TROMBOSIT PADA PASIEN MULTITRANSFUSI**

***ASSOCIATION BETWEEN THE ANTIBODIES AGAINST HUMAN
PLATELET ANTIGEN AND PLATELET REFRACTORINESS IN
MULTITRANSFUSED PATIENTS***

ISMIRAWATI

C085222008



**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS
PROGRAM STUDI ILMU PATOLOGI KLINIK
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2026**

**HUBUNGAN ANTARA ANTI *HUMAN PLATELET ANTIGEN* DENGAN
REFRAKTER TROMBOSIT PADA PASIEN MULTITRANSFUSI**

***ASSOCIATION BETWEEN THE ANTIBODIES AGAINST HUMAN
PLATELET ANTIGEN AND PLATELET REFRACTORINESS IN
MULTITRANSFUSED PATIENTS***

Tesis

Sebagai Salah Satu Syarat Mencapai Gelar Spesialis

Program Studi Ilmu Patologi Klinik

Disusun dan Diajukan oleh

**ISMIRAWATI
C085222008**

Kepada

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

2026

TESIS**HUBUNGAN ANTARA ANTI HUMAN PLATELET ANTIGEN DENGAN
REFRAKTER TROMBOSIT PADA PASIEN MULTITRANSFUSI****ISMIRAWATI
C085222008**

telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Tesis pada tanggal 30 Maret 2026
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

pada

Program Studi Ilmu Patologi Klinik
Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin
Makassar

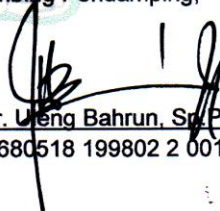
Mengesahkan:

Pembimbing Utama,

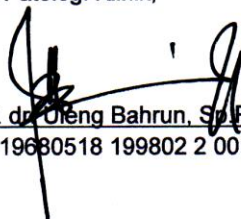


Dr. dr. Rachmawati A. Muhiddin, Sp.PK(K)
NIP 19680103 199712 2 001

Pembimbing Pendamping,



Prof. dr. Ueng Bahrin, Sp.PK(K), Ph.D
NIP 19680518 199802 2 001

Ketua Program Studi
Ilmu Patologi Klinik,

Prof. dr. Ueng Bahrin, Sp.PK(K), Ph.D
NIP 19680518 199802 2 001

Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Hasanuddin,

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

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, tesis yang berjudul “Hubungan antara Anti *Human Platelet Antigen* dengan Refrakter Trombosit pada Pasien Multitransfusi, adalah benar karya saya dengan arahan dari tim pembimbing Dr. dr. Rachmawati A. Muhiddin, Sp.PK(K) dan Prof. dr. Ulung Bahrin, Sp.PK(K), Ph.D. Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi manapun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka tesis ini. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan aturan yang berlaku.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta (hak ekonomis) dari karya tulis saya berupa tesis ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 30 Maret 2026



Ismirawati

C085222008

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillahirabbil 'alamin. Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah *subhanahu wa ta'ala* atas berkat dan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan karya akhir yang berjudul **“Hubungan antara Anti Human Platelet Antigen dengan Refrakter Trombosit pada Pasien Multitransfusi”** ini sebagai salah satu persyaratan dalam Program Pendidikan Dokter Spesialis Patologi Klinik Universitas Hasanuddin.

Penulis menyadari bahwa karya akhir ini masih jauh dari kesempurnaan, oleh karena itu penulis mengharapkan masukan dan koreksi dari semua pihak. Penulis juga menyadari bahwa tesis ini dapat diselesaikan berkat bantuan dan partisipasi berbagai pihak. Oleh karena itu, izinkan saya menghaturkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Dr. dr. Rachmawati A. Muhiddin, Sp.PK(K) selaku Pembimbing Utama dan Prof. dr. Uleng Bahrin, Sp.PK(K) selaku Pembimbing Pendamping sekaligus sebagai Ketua Program Studi Ilmu Patologi Klinik serta kepada Dr. dr. Burhanuddin Bahar, MS., Prof. dr. Rahmawati Minhajat, Ph.D, Sp.PD-KHOM, dan Prof. dr. Mansyur Arif, Ph.D, SP.PK(K), M.Kes selaku Tim Penguji yang telah memberikan masukan, bimbingan, dan arahan selama penyusunan dan pelaksanaan penelitian sehingga penulis bisa menyelesaikan karya akhir ini.

Penulis juga 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 berjasa dalam merintis dan meletakkan pondasi dalam pendidikan dokter spesialis Patologi Klinik di FK Unhas.
2. Guru sekaligus orang tua kami, Bapak dr. H. Ibrahim Abdul Samad, Sp.PK(K) bersama Ibu dr. Hj. Adriani Badji, Sp.PK yang bijaksana dan selalu menjadi panutan kami, yang senantiasa menyempatkan waktu untuk memberikan ilmu dan memberiksan nasihat selama penulis menempuh pendidikan.
3. Guru besar di Departemen Ilmu Patologi Klinik, Prof. dr. Mansyur Arif, Ph.D, Sp.PK(K), M.Kes, yang juga sekaligus sebagai Penasihat Akademik dan Tim Penguji pada karya akhir ini, guru kami yang senantiasa membimbing dan memberikan ilmu praktis dan motivasi belajar dalam bidang Ilmu Patologi Klinik. Prof. dr. Uleng Bahrin, Sp.PK(K), Ph.D yang sekaligus sebagai Ketua Program Studi Ilmu Patologi Klinik FK-UNHAS dan Pembimbing Pendamping pada karya akhir ini. Guru kami yang penuh pengertian, senantiasa memberikan ilmu, motivasi, dan menjadi *problem solver* untuk anak didiknya, serta senantiasa memberikan bimbingan dan masukan selama proses penyusunan, penelitian, hingga akhirnya karya akhir ini bisa diseminarkan.
4. Ketua Departemen Ilmu Patologi Klinik FK-UNHAS Dr. dr. Yuyun Widaningsih, M.Kes, Sp.PK(K), guru kami yang bijaksana dan senantiasa memberikan motivasi untuk berjuang dan menyelesaikan pendidikan sesegera mungkin.
5. Sekretaris Program Studi Ilmu Patologi Klinik FK-UNHAS saat ini, dr. Kartika Paramita, Sp.PK, MHPE, guru kami yang senantiasa memberikan masukan dan arahan selama proses pendidikan.

6. Ketua Program Studi Ilmu Patologi Klinik FK-UNHAS Periode 2018- 2022, Dr. dr. Tenri Esa, M.Si, Sp.PK(K), guru kami yang senantiasa memberi bimbingan, nasehat dan motivasi kepada penulis agar anak didiknya menjadi dokter spesialis yang kompeten dan berdaya saing.
7. Sekretaris Program Studi Ilmu Patologi Klinik FK-UNHAS terdahulu, dr. Raehana Samad, M.Kes, Sp.PK(K) (*Rahimahallah*), guru kami yang selalu bijak dan memberikan solusi apabila mahasiswanya menemui jalan buntu. Beliau juga sebagai Penasihat Akademik dan Tim Penguji pada saat awal penyusunan karya akhir ini sebelum akhirnya beliau berpulang. Semoga Allah menempatkan beliau di tempat terbaik.
8. Guru kami Mendiang dr. Benny Rusli, Sp.PK(K), dr. Ruland DN Pakasi, Sp.PK (K), Almarhumah dr. Hj. Rima Yulianti Muin, M.Kes, Sp.PK, yang telah memberikan bimbingan ilmu, nasehat serta semangat bagi penulis selama menjalani pendidikan.
9. 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.
10. Direktur RS Wahidin Sudirohusodo Makassar, RSPTN UNHAS, RS Labuang Baji, RS Ibnu Sina, dan RS Tadjuddin Chalid atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk menjalani pendidikan di rumah sakit ini.
11. Kepala Instalasi Laboratorium Patologi Klinik RS Wahidin Sudirohusodo Makassar, RSPTN UNHAS, RS Labuang Baji, RS Ibnu Sina, dan RS Tadjuddin Chalid beserta staf yang telah menerima dan membantu penulis dalam menjalani masa pendidikan.
12. Teman-teman sejawat PPDS Program Studi Ilmu Patologi Klinik, khususnya Retikulosit: dr. Sita, dr. Putri, dr. Ryri, dr. Ayu, dr. Lara, dr. Anya, dr. Olfa, dr. Wana, dr. Mimi, dr. Dewi, dr. Nova, dr. Riko, dr. Sofi yang telah berjuang bersama sejak Januari 2023 hingga menyandang gelar Sp.PK nanti *insya Allah*. Semoga kita sering dipertemukan nanti di acara-acara pertemuan Patologi Klinik di masa-masa mendatang.
13. Teman-teman sejawat PPDS Patologi Klinik, senior maupun junior yang senantiasa bekerja sama dengan baik selama proses pendidikan.
14. Nurfitriani, Bela Safira, Indriaty S. Launtina, Sugirah Mashita Takdir, Ismi Multazam, Nurilawati, Nabila selaku tim admin atas semua bantuan dan dukungannya selama masa pendidikan dan penyelesaian karya akhir ini.
15. Seluruh pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah memberikan dukungan materi dan moral kepada penulis selama menjalani pendidikan.

Penulis juga mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada kedua orang tua tercinta, Bapak Djawahir, A.Ma (*Rahimahullah*) dan Mama Suedah, S.Pd, mertua Bapak Zainal dan Mama Salwiah atas doa yang tulus, dukungan, kesabaran, semangat dan motivasi yang senantiasa diberikan selama penulis menjalani proses pendidikan. Terima kasih juga kepada adik-adik penulis, Indryah Yuniarti, S.Pd, Umar Syihab, S.Pd, Isna Amalia, S.Pd, Nurwaqiah

Jawahir, SKM, serta ponakan-ponakan penulis, Arsyah dan Arsyi, atas dukungan, doa, dan motivasi selama penulis menempuh pendidikan.

Ungkapan rasa syukur dan terima kasih yang sebesar-besarnya terkhusus penulis ucapkan kepada suami tercinta, Hasrul, S.IP atas kasih sayang, perjuangan, dan kesabarannya dalam mendampingi penulis selama menempuh pendidikan, dukungan moral dan materi, doa-doa yang tak pernah putus, dan senantiasa menjadi penyemangat dan pemberi solusi ketika penulis menemui jalan buntu selama menjalani proses pendidikan. Tidak lupa untuk anak kami tersayang, Aizar Pramanaya, terima kasih telah menjadi anak yang tangguh, kuat, sabar, cerdas dan mandiri selama penulis menempuh pendidikan.

Akhirnya, penulis berharap agar karya akhir ini dapat memberikan manfaat dan sumbangsih untuk pengembangan ilmu pengetahuan di masa yang akan datang, khususnya dalam bidang Ilmu Patologi Klinik. Semoga karya akhir ini diridhoi dan bernilai pahala di sisi Allah *subhanahu wa ta'ala*. *Aamiin Yaa Rabbal 'Alamiin*.

ABSTRAK

ISMIRAWATI. **Hubungan antara Anti Human Platelet Antigen dengan Refrakter Trombosit pada Pasien Multitransfusi** (dibimbing oleh Rachmawati A. Muhiddin dan Uleng Bahrin).

Latar Belakang. Transfusi trombosit penting untuk mengatasi trombositopenia, tetapi transfusi berulang dapat menyebabkan refrakter trombosit atau *platelet refractoriness* (PTR). PTR dapat dipicu oleh faktor imun, termasuk alloantibodi terhadap *Human Platelet Antigen* (HPA). Alloantibodi terhadap HPA dapat memicu klirens trombosit donor yang dapat menginduksi PTR. **Tujuan.** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan antara anti-HPA dan refrakter trombosit pada pasien multitransfusi. **Metode.** Studi potong lintang dilakukan pada 64 pasien dewasa yang menjalani rawat inap di rumah sakit dan menerima transfusi trombosit berulang di Rumah Sakit Wahidin Sudirohusodo, Makassar. Status refrakter trombosit ditentukan berdasarkan nilai *Corrected Count Increment* (CCI) $<7500/\mu\text{L}$ pada 10-60 menit pasca-transfusi. Kadar IgG anti-HPA diukur dengan metode *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) menggunakan kit *MyBiosource* (USA). Analisis statistik dilakukan menggunakan uji *Kolmogorov-Smirnov*, *Spearman*, *Mann-Whitney*, dan *Chi-square*. **Hasil.** Dari 64 subjek penelitian, 43 subjek (67,2%) mengalami PTR. Analisis statistik menunjukkan bahwa kadar anti-HPA pada kelompok pasien refrakter lebih tinggi daripada pada kelompok non-refrakter, tetapi tidak signifikan ($p=0,869$). Tidak terdapat korelasi signifikan antara frekuensi dan jumlah kantong transfusi dengan kadar anti-HPA ($p>0,05$) dan kejadian refrakter trombosit. Analisis statistik menunjukkan tidak terdapat korelasi signifikan antara nilai CCI dengan kadar anti-HPA. Hal ini menunjukkan bahwa penyebab refrakter trombosit bukan akibat pembentukan anti-HPA. Kejadian refrakter 3 kali lebih tinggi pada keganasan hematologi dibandingkan pada non-keganasan hematologi, namun tidak signifikan. **Kesimpulan.** Kadar anti-HPA tidak berhubungan dengan frekuensi dan jumlah transfusi, serta refrakter trombosit. PTR terutama disebabkan oleh faktor non-imun. Klinisi harus melakukan evaluasi faktor-faktor non imun yang berperan dalam kejadian PTR.

Kata kunci: refrakter trombosit; anti-HPA; *corrected count increment*; multitransfusi; trombositopenia

ABSTRACT

ISMIRAWATI. ***Association between the Antibodies Against Human Platelet Antigen and Platelet Refractoriness in Multitransfused Patients*** (supervised by Rachmawati A. Muhiddin and Uleung Bahrin).

Background. Platelet transfusions are crucial for managing thrombocytopenia, but multi-transfusions may induce platelet refractoriness (PTR). PTR can be driven by immune factors, including alloantibodies against Human Platelet Antigens (HPA). Alloantibodies against HPA can mediate the rapid clearance of donor platelets, thereby inducing PTR. **Aim.** To evaluate the association between anti-HPA antibodies and platelet refractoriness in multitransfused patients. **Methods.** A cross-sectional study was performed on 64 adult who were hospitalized and received repeated platelet transfusions at Wahidin Sudirohusodo Hospital, Makassar. Platelet refractoriness status was determined based on a Corrected Count Increment (CCI) value of $<7500/\mu\text{L}$ at 10-60 minutes post-transfusion. The levels of IgG anti-HPA were quantified using the Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). Data were analyzed using Kolmogorov-Smirnov, Spearman, Mann-Whitney, and Chi-square tests. **Results.** Out of 64 subjects, 43 (67.2%) experienced PTR. Statistical analysis showed that anti-HPA levels were elevated in refractory subjects compared to non-refractory individuals, but not statistically significant ($p=0.869$). No significant correlation observed between transfusion frequency or the number of transfused platelet units and anti-HPA levels ($p>0.05$), nor with the occurrence of platelet refractoriness. Statistical analysis also demonstrated no significant correlation between CCI values and anti-HPA levels. This suggests that platelet refractoriness is not related to anti-HPA formation. The incidence of refractoriness was higher in patients with hematologic malignancies. **Conclusion.** Anti-HPA levels were not associated with the number and frequency of transfusions, nor with platelet refractoriness. The PTR were mainly caused by non-immune factors. Clinicians should consider the evaluation of non-immune factors as potential contributors to platelet refractoriness.

Keywords: platelet refractoriness; anti-HPA; corrected count increment; multi-transfusion; thrombocytopenia

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGANTAR	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS	v
UCAPAN TERIMA KASIH.....	vi
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
DAFTAR SINGKATAN.....	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.3.1 Tujuan Umum.....	3
1.3.2 Tujuan Khusus	3
1.4 Hipotesis Penelitian	3
1.5 Manfaat Penelitian	3
1.6 Tinjauan Pustaka	3
1.6.1 Trombosit	3
1.6.2 Transfusi Trombosit.....	5
1.6.3 Produk Trombosit	5
1.6.4 <i>Anti Human Platelet Antigen</i>	6
1.6.5 Refrakter Trombosit.....	7
1.6.6 <i>Anti Human Platelet Antigen</i> dan Refrakter Trombosit	8
1.7 Kerangka Teori	12
1.8 Kerangka Konsep	13
BAB II METODE PENELITIAN.....	14

2.1	Tempat dan Waktu Penelitian.....	14
2.2	Alat dan Bahan	14
2.3	Metode Penelitian	14
2.3.1	Kriteria Inklusi	15
2.3.2	Kriteria Eksklusi.....	15
2.3.3	Analisis Data.....	15
2.3.4	Izin Studi dan Kelayakan Etik	15
2.4	Pelaksanaan Penelitian	16
2.4.1	Alokasi Subjek	16
2.4.2	Cara Penelitian	16
2.4.3	Prosedur Pemeriksaan Kadar Anti <i>Human Platelet Antigen</i>	16
A.	Prinsip Tes	16
B.	Persiapan Sampel.....	17
C.	Alat dan Bahan	17
D.	Persiapan Reagen	17
E.	Cara Kerja.....	18
2.4.4	Skema Alur Penelitian	19
2.5	Parameter Pemeriksaan	20
2.5.1	Definisi Operasional dan Kriteria Objektif	20
BAB III HASIL DAN PEMBAHASAN		21
3.1	Hasil Penelitian	21
3.2	Pembahasan.....	26
3.3	Keterbatasan Penelitian.....	30
BAB IV KESIMPULAN DAN SARAN.....		31
4.1	Kesimpulan	31
4.2	Saran	31
DAFTAR PUSTAKA		32
LAMPIRAN		

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Karakteristik Subjek Penelitian.....	21
Tabel 2. Uji Distribusi Data Variabel Penelitian.....	22
Tabel 3. Hubungan Karakteristik Subjek dengan Refrakter Trombosit	22
Tabel 4. Korelasi Frekuensi dan Jumlah Transfusi dengan Kadar Anti-HPA	23
Tabel 5. Hubungan Frekuensi dan Jumlah Transfusi dengan Refrakter Trombosit	24
Tabel 6. Hubungan antara Kadar Anti-HPA dengan Refrakter Trombosit.....	24
Tabel 7. Kadar Anti-HPA Berdasarkan Kategori Diagnosis	25
Tabel 8. Status Refrakter Trombosit Berdasarkan Kategori Diagnosis.....	25

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Diagram Human Platelet Antigen.....	7
Gambar 2. Mekanisme klirens trombosit	11
Gambar 3. Korelasi antara CCI dan anti-HPA	24

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Rekomendasi Persetujuan Etik	36
Lampiran 2. Formulir Persetujuan Setelah Penjelasan	37
Lampiran 3. Master Data Penelitian	39
Lampiran 4. Daftar Riwayat Hidup	43
Lampiran 5. Dokumentasi	44

DAFTAR SINGKATAN

Lambang/singkatan	Arti dan penjelasan
Ab	Antibody
APC	Antigen Presenting Cell
BSA	Body Surface Area
CCI	Corrected Count Increment
CD36	Cluster of Differentiation 36
CD40L	Cluster of Differentiation 40 Ligand
CXCL1	Chemokine CXC Ligand 1
DAMPs	Damage-Associated Molecular Patterns
DIC	Disseminated Intravascular Coagulation
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic Acid
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
Fcy	Fragment Crystallizable Gamma
FcyRIIa	Fc Gamma Receptor IIa
FNAIT / NAIT	Fetomaternal/Neonatal Alloimmune Thrombocytopenia
GP	Glikoprotein
HIT	Heparin Induced Thrombocytopenia
HLA	Human Leukocyte Antigen
HPA	Human Platelet Antigens
HRP	Horseradish Peroxidase
IgG	Immunoglobulin G
IL-1 β	Interleukin-1 Beta
iNOS	inducible Nitric Oxide Synthase
ITP	Immune Thrombocytopenia
KEPK	Komisi Etik Penelitian Kesehatan
MAC	Membrane Attack Complex
mRNA	messenger Ribonucleic Acid
OD	Optical Density
PAMPs	Pathogen-Associated Molecular Patterns
PD	Platelet Dose
PI	Platelet Increment
PLT post	Trombosit Pasca Transfusi
PLT pre	Trombosit Pra Transfusi
PPR	Percentage Platelet Recovery
PTR	Platelet Refractoriness
RDP	Random Donor Platelets
SNP	Single Nucleotide Polymorphism
TA	Trombosit Aferesis
TBV	Total Blood Volume
TC	Thrombocyte Concentrate
TGF- β 1	Transforming Growth Factor Beta 1
TMB	3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine
UPD	Unit Pengelola Darah

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Trombosit merupakan fragmen kecil komponen darah yang berasal dari megakariosit (Dacie and Lewis, 2017). Trombosit berperan penting dalam hemostasis, fungsi penyembuhan luka, regulasi inflamasi, angiogenesis dan saat ini telah diketahui bahwa trombosit terlibat dalam sistem imun *innate* dan adaptif (Matsushashi and Tsuno, 2018). Selain itu, trombosit juga berperan dalam aterosklerosis, metastasis, dan infeksi virus. Trombositopenia merupakan penurunan jumlah trombosit dari nilai normal akibat penurunan produksi, peningkatan destruksi, dan sekuesterasi. Derajat trombositopenia terbagi menjadi tiga yaitu trombositopenia ringan ($100-150 \times 10^3/\mu\text{L}$), sedang ($50-99 \times 10^3/\mu\text{L}$), dan berat ($<50 \times 10^3/\mu\text{L}$) (Gauer *et al.*, 2022). Jumlah trombosit normal berkisar antara $1.5-4.5 \times 10^5/\mu\text{L}$ dengan masa hidup antara 7 hingga 10 hari yang secara konstan diperbaharui oleh sebuah proses yang dinamis yang disebut megakariopoiesis (Twomey *et al.*, 2019; Means, Robert T., Jr., 2024). Trombosit juga berperan penting dalam respon imun, tidak hanya melalui sekresi berbagai sitokin dan kemokin seperti interleukin 1 (IL-1), (*Transforming Growth Factor*) TGF- β 1, dan (*Chemokine CXC ligand*) CXCL1, tetapi juga melalui ekspresi molekul permukaan CD62P dan CD40L (Means, Robert T., Jr., 2024).

Transfusi trombosit saat ini telah banyak digunakan untuk menangani trombositopenia dengan tujuan untuk mencegah perdarahan yang mengancam nyawa dan berperan penting dalam menurunkan kejadian perdarahan akibat trombositopenia selama stadium awal kemoterapi dan insiden perdarahan akibat leukemia akut (Youk *et al.*, 2022). Transfusi trombosit mengalami peningkatan seiring dengan bertambahnya kondisi yang menyebabkan trombositopenia, di antaranya pasien-pasien hematologi onkologi, terapi transplantasi sumsum tulang, dan program kemoterapi yang meningkatkan kebutuhan trombosit sebagai terapi suportif (Lubis *et al.*, 2017).

Multitransfusi adalah salah satu penanganan pada pasien dengan memberikan tindakan transfusi berulang. Pasien yang menjalani transfusi berulang dapat mengalami *platelet refractoriness* (PTR) atau refrakter trombosit akibat respon imun. Berdasarkan data statistik, tingkat kejadian refrakter terhadap transfusi trombosit pada pasien dengan kegagalan sumsum tulang, seperti anemia aplastik, leukemia akut, dan *myelodysplastic syndrome* (MDS) berkisar antara 30-70% (Zhang *et al.*, 2023). Transfusi trombosit berulang dapat menyebabkan PTR yang menghasilkan luaran yang lebih buruk dan biaya perawatan yang lebih tinggi. Faktor imun dan nonimun dapat menyebabkan PTR, dengan faktor nonimun berkisar 60-80%. Namun demikian, pasien dengan keganasan hematologi dan anemia aplastik berat membutuhkan multitransfusi (Zhang *et al.*, 2023). Sekitar 20% pasien yang menjalani multitransfusi akan memiliki alloantibodi terhadap antigen trombosit, yang dapat berupa alloantibodi terhadap *human leukocyte antigens* (HLA) atau

alloantibodi terhadap *Human Platelet Antigen* (HPA), dan *Cluster of Differentiation* (CD36) yang terdapat pada permukaan trombosit. Hal ini dapat menyebabkan klirens yang cepat terhadap trombosit donor karena trombosit yang ditransfusikan kepada pasien dibersihkan dengan cepat akibat opsonisasi oleh antibodi sehingga terjadi PTR (Song *et al.*, 2021; Kustilinarsih, Arsy and Iskandar, 2024).

Penelitian yang dilakukan oleh Ukonu and Ifeanyi (2023) menemukan bahwa alloimunisasi terhadap antigen spesifik trombosit manusia, termasuk glikoprotein IIb/IIIa (HPA-1a, 3a, 4a) dan glikoprotein Ia/IIa (HPA-5b), terjadi dengan frekuensi tinggi pada pasien yang menerima transfusi berulang di Owerri, Negara Bagian Imo, namun peningkatan jumlah unit darah yang ditransfusikan tidak berpengaruh terhadap frekuensi alloimunisasi tersebut (Ukonu and Ifeanyi, 2023). Penelitian yang dilakukan oleh Amalia *et al.* (2021) menemukan proporsi antibodi ireguler pada pasien multitransfusi dan pasien non multitransfusi berbeda signifikan ($p < 0,05$). Antibodi ireguler hanya ditemukan pada pasien multitransfusi, hal ini menandakan bahwa semakin sering seseorang menerima transfusi darah maka semakin besar kemungkinan terbentuk antibodi ireguler (Amalia, Hafy and Liana, 2021).

Penelitian mengenai anti-HPA juga dilakukan oleh Sadaq (2021) dengan hasil terdapat perbedaan kadar Ig-G anti HPA pada kelompok ITP (*Immune Thrombocytopenia*) primer dan kontrol normal, namun tidak signifikan (Sadaq, Arif and Muhiddin, 2021). Penelitian lain yang dilakukan oleh Muhiddin (2020) menemukan adanya keunikan frekuensi genotipe HPA pada pasien ITP dibandingkan populasi normal terutama HPA-1 β , baik pada ITP primer maupun sekunder. Terdapat peran genotipe HPA (HPA-1 α) pada jumlah trombosit, dan ekspresi mRNA IL-1 β pada ITP Primer. Terdapat peran genotipe HPA (HPA-3 α dan HPA-4 α) pada peningkatan konsentrasi IgG anti-HPA pada ITP sekunder (Muhiddin *et al.*, 2020). Penelitian lain mengenai HPA yang juga dilakukan oleh Muhiddin (2019) menemukan alel HPA 1b, 2a, dan 4a menunjukkan frekuensi tertinggi pada kelompok pasien dengan trombositopenia imun maupun nonimun. Alel HPA 1b dan 15a tidak terdeteksi pada kedua kelompok tersebut dalam populasi normal di Makassar. Alel HPA-4b hanya ditemukan pada individu dengan trombositopenia imun dan tidak teridentifikasi pada kelompok nonimun. Selain itu, frekuensi alel HPA-3b tercatat secara signifikan lebih tinggi pada pasien dengan trombositopenia imun dibandingkan dengan kelompok trombositopenia nonimun (Muhiddin *et al.*, 2019).

Penelitian mengenai anti-HPA telah banyak dilakukan, namun pada pasien multitransfusi yang dikaitkan dengan efektivitas transfusi trombosit sepengetahuan peneliti belum pernah dilakukan di Makassar. Oleh karena itu, penulis tertarik untuk meneliti hubungan antara antibodi HPA dengan refrakter trombosit pada pasien multitransfusi.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian dalam latar belakang, dapat dirumuskan pertanyaan penelitian sebagai berikut: **“Bagaimana hubungan antara anti *human platelet antigen* dengan refrakter trombosit pada pasien multitransfusi?”**

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui hubungan antara anti *human platelet antigen* dengan refrakter trombosit pada pasien multitransfusi.

1.3.2 Tujuan Khusus

- a. Mengetahui karakteristik subjek yang menjalani multitransfusi produk trombosit.
- b. Mengetahui korelasi antara frekuensi dan jumlah transfusi dengan kadar anti-HPA.
- c. Mengetahui hubungan antara frekuensi dan jumlah transfusi dengan refrakter trombosit.
- d. Mengetahui hubungan antara kadar anti-HPA dengan refrakter trombosit.
- e. Mengetahui kadar anti-HPA dan status refrakter trombosit berdasarkan kategori diagnosis.

1.4 Hipotesis Penelitian

Terdapat hubungan antara anti *human platelet antigen* yang terdeteksi pada 10-60 menit pertama pasca transfusi dengan kejadian refrakter trombosit pada pasien multitransfusi.

1.5 Manfaat Penelitian

1.5.1 Aplikasi Klinis

- a. Memberikan informasi ilmiah mengenai anti *human platelet antigen* dan kejadian refrakter trombosit pada pasien multitransfusi.
- b. Penelitian ini diharapkan agar dapat menjadi dasar ilmiah dalam mempertimbangkan pemberian transfusi trombosit berulang.

1.5.2 Pengembangan Penelitian

Memberikan dasar ilmiah untuk melakukan penelitian lebih lanjut mengenai anti *human platelet antigen*.

1.6 Tinjauan Pustaka

1.6.1 Trombosit

Trombosit merupakan komponen darah terkecil pada mamalia yang tidak memiliki inti sel. Trombosit dideskripsikan pertama kali pada tahun 1865 oleh patolog Jerman, Max Schultze, sebagai partikel kecil berbentuk bola, meskipun pada saat itu asal usul dan fungsinya belum diteliti lebih lanjut. Saat itu, partikel ini diduga sebagai prekursor eritrosit, fragmen leukosit, atau bahkan artefak. Deskripsi yang lebih akurat kemudian diberikan oleh Giulio Bizzozero, yang memperkenalkan istilah *piastrine* dalam

bahasa Italia, *plaquettes* dalam bahasa Prancis, dan *bluplättchen* dalam bahasa Jerman, sebelum akhirnya dikenal sebagai *platelets* dalam bahasa Inggris. Penjelasan yang lebih rinci dikemukakan oleh James Homer Wright, yang membuktikan bahwa trombosit adalah fragmen sitoplasma anukleat yang berasal dari megakariosit, sel raksasa yang terdapat di sumsum tulang. Temuan ini mengungkapkan sebuah paradoks biologis, di mana sel darah terkecil berasal dari sel sumsum tulang terbesar (Means, Robert T., Jr., 2024).

Trombosit memiliki struktur yang khas, yang meskipun bersifat anukleat (tidak berinti), tetapi mengandung berbagai komponen seluler penting seperti organel, granula, dan mitokondria. Granula trombosit merupakan vesikel sekretorik yang mampu melepaskan kandungannya ke permukaan sel atau ke lingkungan ekstraseluler melalui mekanisme eksositosis. Trombosit mengandung tiga jenis granula utama, yaitu granula alfa, granula padat (*dense granules*), dan granula lisosom, yang seluruhnya diperoleh selama proses pembentukan trombosit oleh megakariosit. Granula alfa berukuran besar dan menyimpan berbagai protein yang berperan krusial dalam proses hemostasis primer, seperti integrin *αIIbβ3*, reseptor dari imunoglobulin, seperti Glikoprotein VI (GPVI) dan *Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule-1* (PECAM), serta reseptor *leucine-rich repeat family* seperti kompleks GPIb-IX-V. Selain itu, granula ini juga mengandung protein adhesi dan berbagai faktor koagulasi penting seperti faktor *von Willebrand* (vWF), fibrinogen, serta faktor V dan XI, yang berperan pada hemostasis sekunder (Twomey *et al.*, 2019). Granula padat memiliki ukuran yang lebih kecil dan jumlah yang lebih sedikit, yaitu sekitar 3 hingga 8 per trombosit. Granula ini berisi konsentrasi tinggi molekul non-protein yang berperan dalam proses aktivasi trombosit, antara lain *adenosine diphosphate* (ADP), *adenosine triphosphate* (ATP), ion kalsium, serotonin, histamin, dan polifosfat (Twomey *et al.*, 2019).

Trombosit memiliki berbagai jenis reseptor permukaan yang berperan penting dalam menjalankan fungsi fisiologisnya. Reseptor utama yang ditemukan pada trombosit meliputi kelompok integrin, *leucine-rich repeat receptors* seperti kompleks glikoprotein GPIb/IX/V dan *Toll-like receptors* (TLR), reseptor lektin tipe C seperti *P-Selectin*, serta reseptor tirosin kinase. Selain itu, terdapat pula protein dari superfamili imunoglobulin termasuk GPVI dan FcγRIIA, serta reseptor lain yang umum dijumpai pada sel vaskular, seperti reseptor tipe *tumor necrosis factor* (TNF), CD63, CD36, dan *P-Selectin Glikoprotein Ligand 1* (PSGL-1) (Twomey *et al.*, 2019).

Membran trombosit diselimuti oleh glikoprotein yang berfungsi untuk menjaga agar trombosit tidak melekat pada endotelium yang sehat, tetapi melekat pada area yang mengalami cedera di dinding pembuluh darah, terutama pada sel endotel yang rusak, dan lebih kuat lagi pada kolagen yang terbuka dari lapisan dalam dinding pembuluh darah. Selain itu, membran platelet kaya akan fosfolipid yang berperan untuk mengaktifkan berbagai tahap proses pembekuan darah. Trombosit merupakan struktur yang aktif dengan waktu paruh 8-12 hari. Jika waktu paruhnya telah lewat, trombosit akan dieliminasi dari sirkulasi oleh sistem makrofag yang sebagian besar dilakukan oleh lien (John and Michael, 2021).

1.6.2 Transfusi Trombosit

Transfusi trombosit merupakan prosedur yang umum dilakukan pada pasien trombositopenia atau pasien dengan fungsi trombosit abnormal untuk mencegah maupun mengatasi perdarahan. Sekitar 2 juta prosedur transfusi komponen trombosit dilakukan setiap tahunnya di Amerika Serikat. Multitransfusi trombosit adalah prosedur pemberian komponen darah trombosit secara berulang kepada pasien. Pemberian transfusi berulang dapat memicu terjadinya PTR, suatu kondisi yang sulit ditangani. Pasien dengan PTR umumnya menunjukkan prognosis klinis yang lebih buruk dan biaya perawatan rumah sakit yang hingga tiga kali lipat lebih tinggi dibandingkan pasien tanpa PTR (Zhang *et al.*, 2023). Pasien yang mengalami kondisi tersebut dapat mengalami petekie, ekimosis, dan perdarahan mukosa atau spontan (Hermening, 2019). Terdapat sekitar 230.000 transfusi komponen trombosit setiap tahunnya di Spanyol, sementara di Amerika Serikat jumlahnya mencapai sekitar dua juta. Lebih dari separuh transfusi trombosit diberikan kepada pasien dengan penyakit onkohematologi dan/atau yang menjalani transplantasi sel punca hematopoietik (Alcaina, 2020). Indikasi transfusi trombosit mencakup trombositopenia dengan perdarahan atau tindakan invasif, kemoterapi atau malignansi (penurunan produksi, $< 5.000-10.000/\mu\text{L}$), DIC (peningkatan destruksi, $< 50.000/\mu\text{L}$), dan transfusi masif (dilusi trombosit $50.000-100.000/\mu\text{L}$) (Hermening, 2019).

Kisaran jumlah trombosit pretransfusi yang paling sering digunakan adalah antara $20.000-50.000/\mu\text{L}$ untuk pasien rawat inap, dan $10.000-20.000/\mu\text{L}$ bagi pasien rawat jalan. Pendekatan transfusi profilaksis dengan dosis rendah trombosit dan ambang batas $10.000/\mu\text{L}$ saat ini direkomendasikan untuk pasien hematologi yang menjalani kemoterapi atau transplantasi sel punca alogenik. Ambang ini disarankan untuk dinaikkan menjadi $20 \times 10^9/\text{L}$ apabila terdapat faktor risiko tambahan yang meningkatkan kemungkinan perdarahan. Sementara itu, untuk transfusi trombosit terapeutik pada kasus perdarahan hebat, ambang batas yang dianjurkan adalah $50.000/\mu\text{L}$. Pada pasien rawat inap, hanya sekitar 20% transfusi trombosit diberikan ketika kadar trombosit $\leq 10.000/\mu\text{L}$, sedangkan 22% diberikan pada kadar antara 10.000 hingga $20.000/\mu\text{L}$ dan 28% pada kadar $20.000-50.000/\mu\text{L}$. Pasien yang menerima transfusi trombosit pada kadar $20.000-50.000/\mu\text{L}$ harus dengan tujuan terapeutik atau profilaksis sebelum tindakan invasif (Hermening, 2019; Solves, 2020). Secara umum, peningkatan jumlah trombosit setelah transfusi bergantung pada jumlah trombosit pada komponen yang ditransfusikan dan distribusi dari trombosit di dalam tubuh (Youk *et al.*, 2022).

1.6.3 Produk Trombosit

Komponen trombosit dapat diperoleh dari donor *whole blood* melalui aferesis. Produk trombosit yang berasal dari darah utuh disebut *random-donor platelets* (RDP) atau trombosit *concentrate* (TC), sedangkan produk trombosit yang diperoleh dari donor aferesis disebut *single-donor platelets* (SDP) atau trombosit aferesis (TA) karena setiap komponen mengandung satu dosis dewasa dari satu donor (Hermening,

2019). RDP dapat digunakan sebagai komponen tunggal untuk transfusi volume kecil atau digabung bersama produk darah lain untuk transfusi pasien dewasa. SDP umumnya diindikasikan untuk pasien yang tidak responsif terhadap TC karena karena alloimunisasi HLA atau untuk membatasi paparan trombosit dari beberapa donor, tetapi trombosit tersebut harus dibagi menjadi beberapa bagian jika diperlukan transfusi volume kecil. Pada proses sentrifugasi, RDP rentan terhadap terkontaminasi dengan sel darah merah, sedangkan trombosit apheresis mengandung sedikit sel darah merah (Hermening, 2019).

Komponen plateletferesis disiapkan dari satu donor dan harus mengandung minimal 3×10^{11} trombosit. Satu unit plateletferesis harus meningkatkan jumlah trombosit pasien dewasa menjadi 20.000 hingga 60.000/ μL . Setiap unit trombosit dari darah utuh (TC) harus mengandung setidaknya $5,5 \times 10^{10}$ trombosit dan harus meningkatkan jumlah trombosit sebesar 5.000 hingga 10.000/ μL pada pasien dengan berat 70 kg sehingga jumlah TC yang dibutuhkan untuk menaikkan jumlah trombosit seperti pada produk apheresis yaitu sebanyak 4-6 unit (Hermening, 2019).

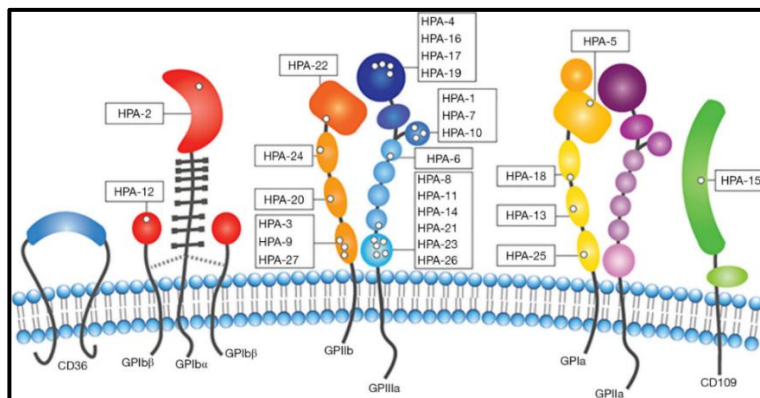
1.6.4 Anti Human Platelet Antigen

Membran trombosit mengandung antigen spesifik berupa glikoprotein yang memiliki urutan asam amino polimorfik yang bersifat imunogenik yang dikenal sebagai *Human Platelet Antigen* (HPA) (Muhiddin *et al.*, 2019; Kazemi *et al.*, 2020). Ketidakcocokan HPA dapat memicu respons imun yang mengarah pada pembentukan antibodi (Ab) terhadap HPA. Antibodi ini dapat menyebabkan trombositopenia yang dapat terjadi pada janin maupun bayi yang baru lahir, yang dikenal sebagai *Fetomaternal/Neonatal Alloimmune Thrombocytopenia* (FNAIT/NAIT). Selain itu, antibodi anti-HPA juga dapat menyebabkan terjadinya kegagalan peningkatan jumlah trombosit setelah transfusi darah, serta dapat menyebabkan perdarahan dan munculnya bintik atau bercak merah (purpura) (Maharani and Noviar, 2018).

Antigen trombosit manusia diekspresikan tidak hanya pada trombosit, tetapi juga pada sel endotel dan leukosit. Sebanyak 41 jenis HPA telah diidentifikasi melalui pendekatan serologi hingga saat ini dengan penamaan berdasarkan urutan penemuannya. Terdapat 12 antigen yang bersifat bialelik dari jumlah tersebut, antara lain HPA-1a/1b, -2a/2b, -3a/3b, -4a/4b, -5a/b, dan -15a/b, yang masing-masing terlokalisasi pada glikoprotein GPIIIa, GPIIb, GPIIb, GPIIIa, GPIa, dan *Cluster of Differentiation* (CD) 109, seperti yang ditunjukkan pada Gambar 1. Polimorfisme HPA umumnya diakibatkan oleh substitusi asam amino akibat variasi satu nukleotida (*single nucleotide polymorphism*, SNP), yang dapat mengubah struktur tersier antigen dan memunculkan epitop baru yang mampu merangsang pembentukan alloantibodi. HPA yang paling imunogenik adalah HPA1a dan HPA5b yang berperan untuk menginduksi lebih dari 90% alloantibodi antiplatelet (Kazemi *et al.*, 2020). Alloantigen trombosit pertama yang diidentifikasi adalah HPA-1a, yang terikat pada subunit beta dari reseptor fibrinogen trombosit (GPIIb/IIIa). Sekitar 2% individu dengan genotipe homozigot HPA-1b dapat membentuk antibodi terhadap HPA-1a. Selain itu, individu yang mengalami defisiensi terhadap antigen trombosit tertentu

berpotensi menghasilkan alloantibodi tambahan yang bermakna secara klinis setelah terpapar melalui transfusi trombosit atau kehamilan. Antibodi terhadap GPIIb/IIIa maupun GPIb/IX/V dapat menyebabkan refrakter imun terhadap transfusi trombosit, dan keduanya juga dapat melewati plasenta sehingga menimbulkan trombositopenia pada neonatus (Means, Robert T., Jr., 2024).

Anti-HPA-1a merupakan alloantibodi yang menjadi penyebab utama trombositopenia akibat imun pada populasi Kaukasia. Antibodi HPA-4 dan anti-CD36 merupakan antibodi yang dominan pada populasi Asia, khususnya di Jepang. Alloantibodi anti-HPA bisa disebabkan oleh kehamilan, transfusi darah, dan transplantasi organ. Alloantibodi HPA berperan terhadap kejadian trombositopenia yang dimediasi oleh sistem imun, termasuk trombositopenia alloimun janin/neonatal (FNAIT), PTR, dan purpura pasca-transfusi (PTP). Mekanisme FNAIT mirip dengan penyakit hemolitik pada bayi baru lahir (Matsuhashi and Tsuno, 2018).



Gambar 1. Diagram Human Platelet Antigen dan protein permukaan yang diketahui telah menyebabkan alloimunisasi (Chen et al., 2019)

1.6.5 Refrakter Trombosit

Refrakter trombosit atau *platelet refractoriness* (PTR) didefinisikan sebagai respon terhadap transfusi trombosit yang kurang optimal yang ditandai dengan peningkatan jumlah trombosit pasca transfusi yang lebih rendah dari yang diharapkan (Cohn, 2020; Youk et al., 2022). Fenomena ini disebabkan oleh peningkatan penggunaan trombosit atau destruksi akibat imunologi dan nonimunologi yang dapat menyebabkan permasalahan serius pada penanganan pasien. Nilai *percentage platelet recovery* (PPR) <20% menunjukkan kejadian refrakter trombosit (Youk et al., 2022). Refrakter didefinisikan sebagai nilai *corrected count increment* (CCI) 4,5-7,5x10⁹/L pada 10-60 menit pasca transfusi dan 2,5-4,5x10⁹/L pada 18-24 jam pasca transfusi. Nilai CCI yang lebih dari 7500/μL pada 1 jam pertama pasca transfusi menunjukkan respon transfusi yang baik (Youk et al., 2022). CCI pada 1 jam pertama dikaitkan dengan faktor imunologi, sementara CCI pada 24 jam pasca tranfusi dikaitkan dengan faktor nonimunologi (Hagino et al., 2021). Sebanyak 30-70%

pasien trombositopenia dengan riwayat transfusi berulang dapat mengalami refrakter terhadap trombosit donor (Andriastuti, Chozie and Rahmani, 2018). Rumus perhitungan CCI yaitu (Andriastuti, Chozie and Rahmani, 2018; Hagino *et al.*, 2021):

$$(CCI) = \frac{(PLT \text{ post} - PLT \text{ pre}) \times BSA}{PD}$$

Keterangan:

PLT post = trombosit pasca transfusi (μL)

PLT pre = trombosit pra transfusi (μL)

BSA = *Body Surface Area* (m^2)

PD (10^{11}) = *Platelet Dose* (jumlah trombosit yang dtransfusikan)

Rumus PPR yaitu: (Youk *et al.*, 2022).

$$(PPR) = \frac{PI \times TBV \times 100\%}{PD}$$

Keterangan:

PI (μL) = *Platelet Increment* (trombosit pasca transfusi-trombosit pra transfusi)

TBV = *Total Blood Volume* (65-75 mL/kgBB)

PD (10^{11}) = *Platelet Dose* (jumlah trombosit yang dtransfusikan)

Refrakter trombosit disebabkan oleh faktor imunologi dan nonimunologi, dengan faktor nonimun berkisar 60-80%. Penyebab nonimun dipertimbangkan ketika tidak ditemukan antibodi antiplatelet, sehingga diagnosis ini bersifat eksklusif. Meskipun faktor nonimun menjadi penyebab utama sebagian besar kasus PTR, namun faktor imun masih berkontribusi sekitar 20% dari seluruh kasus (Chen *et al.*, 2024). Faktor nonimunologi meliputi sepsis, splenomegali, *Disseminated Intravascular Coagulation* (DIC), demam, dan obat-obatan seperti golongan penisilin, cefalosporin, quinine, antiinflamasi nonsteroid, heparin, dan L-dopa (Youk *et al.*, 2022).

1.6.6 Anti Human Platelet Antigen dan Refrakter Trombosit

Refrakter transfusi trombosit yang disebabkan oleh respons imun merupakan akibat terbentuknya antibodi setelah pasien menerima trombosit dari donor. Secara umum, respons imun terbagi menjadi imunitas bawaan dan adaptif (humoral dan seluler). Selama ini, imunitas humoral dianggap sebagai mekanisme utama dalam terjadinya PTR akibat imun. Beberapa antigen yang diketahui dapat memicu penghancuran trombosit donor meliputi: (1) HLA, yang juga ditemukan pada sel darah dan jaringan lainnya; (2) HPA, yang khusus terdapat pada trombosit; serta dalam tingkat yang lebih rendah, (3) golongan darah ABO dan (4) CD36. Adanya paparan berulang serta variasi genetik pada molekul-molekul ini menyebabkan trombosit hasil transfusi dapat dikenali oleh antibodi pasien, yang kemudian menempel pada antigen di

permukaan trombosit dan memicu eliminasi trombosit (Lubis, Baskoro and Yasmin, 2024). Antibodi tersebut dapat disebabkan oleh paparan dari transfusi, kehamilan, atau transplantasi (Andriastuti, Chozie and Rahmani, 2018). Pada kondisi ini, trombosit pasca transfusi diharapkan meningkat apabila trombosit yang ditransfusikan tidak bereaksi dengan antibodi terhadap antigen trombosit yang dimiliki pasien (Youk *et al.*, 2022). Mekanisme kerja antibodi antiplatelet pada tingkat seluler dan molekuler hingga kini belum sepenuhnya dipahami (Chen *et al.*, 2024).

Alloimunisasi umumnya terjadi melalui penyajian peptida antigen donor kepada reseptor sel T pada sel T CD4+ resipien. Proses ini berlangsung melalui dua jalur utama, yakni pengenalan langsung dan tidak langsung (Adane and Enawgaw, 2023). Saat trombosit ditransfusikan ke dalam tubuh resipien, resipien akan terpapar molekul HPA allogenik yang terdapat di permukaan trombosit donor. Paparan terhadap antigen allogenik ini dapat meningkat melalui transfusi berulang dan kehamilan, sehingga memperbesar risiko terjadinya alloimunisasi. Pada pengenalan langsung, *antigen presenting cell* (APC) resipien akan memproses dan mempresentasikan antigen allogenik tersebut ke reseptor sel T pada sel T CD4+ resipien, sehingga dapat menginduksi aktivasi sel B untuk menghasilkan antibodi terhadap antigen donor. Sebaliknya, dalam pengenalan tidak langsung, APC resipien memfagositosis dan memproses fragmen sel donor sebelum mempresentasikan antigen kepada sel T, yang pada akhirnya merangsang pembentukan alloantibodi (Lubis, Baskoro and Yasmin, 2024). Aktivasi APC juga dapat disebabkan oleh paparan mikroba, sitokin pro inflamasi, *Pathogen-Associated Molecular Patterns* (PAMPs), *Damage-Associated Molecular Patterns* (DAMPs), sel T (interaksi CD40-CD40L) (Abbas, Lichthman and Pillai, 2024). Sitokin pro inflamasi dapat diproduksi oleh berbagai faktor, di antaranya inflamasi, autoimun, stres, dan infeksi mikroba (Yusuf, 2024; Fan *et al.*, 2025). Penelitian beberapa tahun terakhir menunjukkan bahwa sel T sitotoksik CD8+ juga berperan dalam penghancuran trombosit secara imun (Ren *et al.*, 2021). Aktivasi enzim *inducible nitric oxide synthase* (iNOS) pada APC resipien berperan penting dalam pemrosesan antigen trombosit sebagai mekanisme protektif untuk mencegah pembentukan alloantibodi. Trombosit mampu mengekspresikan CD40 *ligand* (CD40L), yang merupakan molekul kunci dalam aktivasi sel B dari sel T. Trombosit maupun vesikel membran yang dihasilkan dari trombosit dapat mengaktifkan sel B melalui CD40L sehingga mendorong produksi antibodi IgG (Chen *et al.*, 2024).

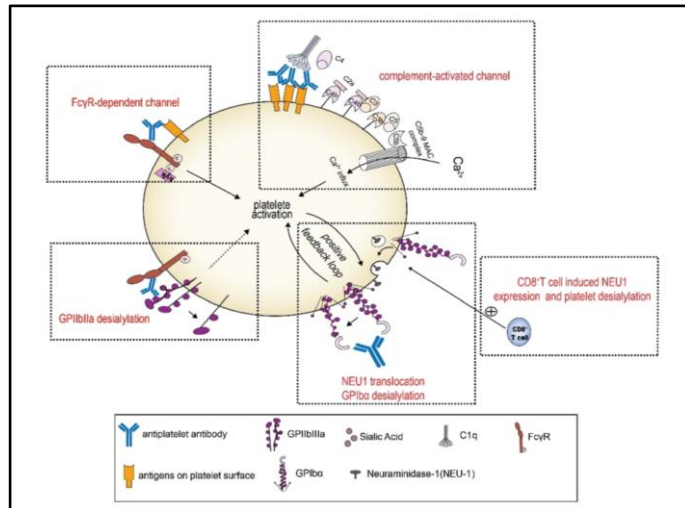
Alloimunisasi yang dimediasi oleh HPA merupakan mekanisme yang jarang terjadi, kondisi ini perlu dipertimbangkan apabila antibodi terhadap HLA tidak terdeteksi. Sistem HPA yang telah teridentifikasi memiliki tingkat variasi antigenik yang lebih rendah dibandingkan sistem HLA, sehingga prevalensi antibodi anti-HPA pada kasus PTR akibat imun juga lebih rendah. Antibodi terhadap HPA yang terbentuk dapat memicu eliminasi cepat trombosit donor melalui mekanisme yang bergantung pada reseptor Fc γ atau aktivasi sistem komplemen. Mekanisme klirens trombosit ada lima seperti yang ditunjukkan oleh Gambar 2, yaitu (1) jalur Fc γ R-*dependent*; (2) jalur aktivasi komplemen; (3) desialilasi, yaitu proses pelepasan residu asam sialat dari permukaan glikoprotein trombosit, yang membuatnya dikenali

sebagai “sel tua” atau abnormal, antibodi anti-GPIIb menginduksi translokasi *neuraminidase-1* (NEU1) ke permukaan trombosit yang akan menghilangkan asam sialat dari glikoprotein. Trombosit yang kehilangan asam sialat menjadi target pengenalan oleh sistem imun dan akan dikenali oleh *Ashwell-Morell Receptor* (AMR) di hati dan akan dihancurkan di hati (*hepatic clearance*); (4) translokasi NEU-1 dan desialilasi GPIIb menyebabkan *Positive Feedback Loop*; (5) Sel T sitotoksik (CD8⁺) juga dapat menginduksi ekspresi NEU1 di trombosit yang memicu desialilasi secara seluler (tanpa antibodi) (Chen *et al.*, 2024).

Antibodi HLA diketahui dapat memicu aktivasi trombosit serta fagositosis oleh makrofag, yang pada akhirnya menyebabkan eliminasi trombosit. Mekanisme yang sama juga terjadi pada antibodi HPA. Penelitian oleh Rijkers *et al.* (2018) menunjukkan bahwa FcγRIIa, reseptor Fc yang terdapat pada trombosit, memiliki peran krusial dalam mekanisme tersebut. Penelitian ini membuktikan bahwa antibodi HLA atau HPA tertentu dapat mengikat antigen HLA atau HPA dengan FcγRIIa melalui jalur dependen intra platelet untuk mengaktivasi trombosit. Selain antibodi HLA dan HPA, aktivasi trombosit yang bergantung pada FcγRIIa juga dilaporkan terjadi pada antibodi spesifik trombosit lainnya, seperti antibodi yang berhubungan dengan *heparin induced thrombocytopenia* (HIT), antibodi anti-FcγRIIa IV3, serta antibodi terhadap protein membran trombosit, termasuk CD9 dan GPIIb/IIIa (Chen *et al.*, 2024).

FcγRIIa diekspresikan pada trombosit manusia, neutrofil, monosit, makrofag, sel dendritik tertentu, dan subpopulasi granulosit lainnya. FcγRIIa ditandai oleh aviditasnya terhadap kompleks imun IgG, dan mengikat secara spesifik ke domain Fc ketika IgG telah mengikat antigen (Patel *et al.*, 2021). Peran makrofag mononuklear yang mengekspresikan FcγR dalam memfasilitasi fagositosis trombosit yang terlapisi antibodi telah diketahui secara luas. Fagositosis ini terjadi umumnya di limpa yang dikaitkan dengan aliran lambat dari trombosit di sinus splenikus dengan ekspresi FcγR yang tinggi pada makrofag (Chen *et al.*, 2024). Anti HPA juga dapat menginduksi terjadinya aktivasi komplemen pada trombosit melalui jalur klasik, menyebabkan terbentuknya *membrane attack complex* (MAC) dan aktivasi trombosit kemudian diikuti dengan klirens trombosit (Chen *et al.*, 2024).

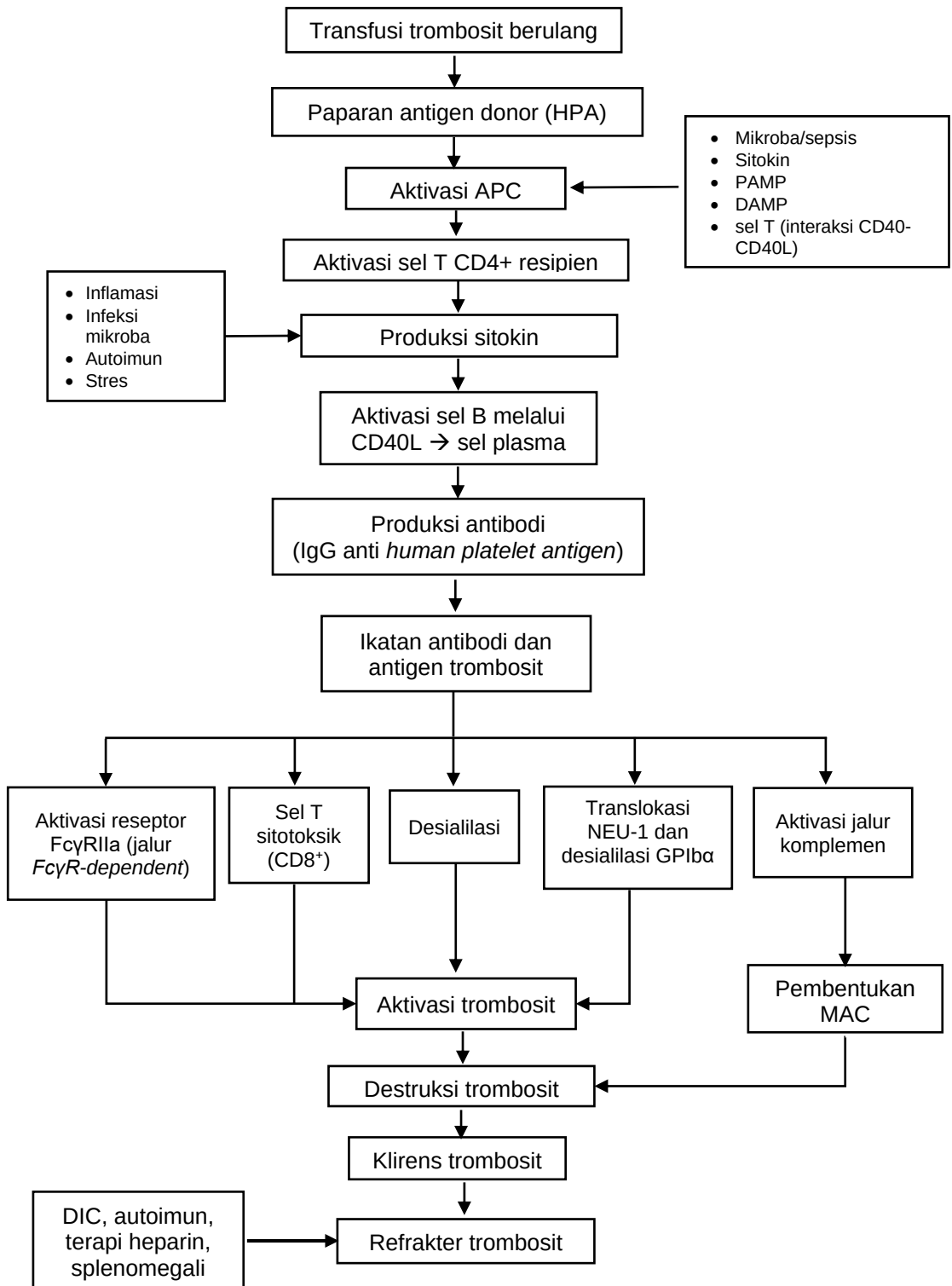
Refrakter trombosit masih merupakan permasalahan pada pasien dengan keganasan hematologi dan anemia aplastik berat karena adanya risiko perdarahan spontan atau meningkatnya perdarahan yang mengancam hidup secara signifikan ketika trombosit berada pada nilai $<10 \times 10^3/\mu\text{L}$ (Zhang *et al.*, 2023). Refrakter trombosit ditemukan pada 7%–14% pasien hemato-onkologi, dengan angka kejadian yang jauh lebih tinggi pada beberapa jenis kanker tertentu, seperti leukemia myeloid akut, yang dapat mencapai insidensi hingga 30,4%. PTR memberikan dampak besar bagi pasien, termasuk masa perawatan di rumah sakit yang lebih lama dan peningkatan biaya, namun yang paling krusial adalah menurunnya tingkat kelangsungan hidup akibat risiko perdarahan yang mengancam jiwa (Schmidt, Refaai and Coppage, 2019; Lubis, Baskoro and Yasmin, 2024).



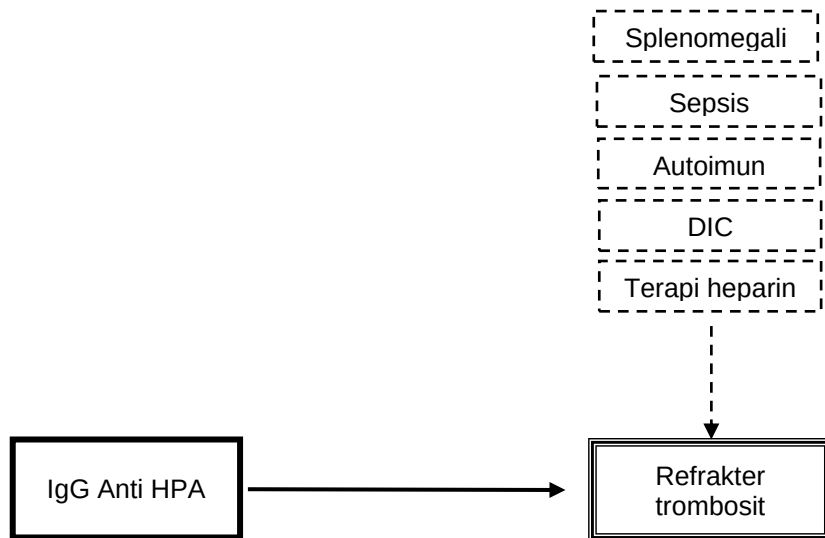
Gambar 2. Mekanisme klirens trombositis (Chen et al., 2024)

Tidak semua pasien yang memiliki alloantibodi terhadap HLA atau HPA akan mengalami PTR (van Osch *et al.*, 2022). Identifikasi antibodi platelet merupakan hal penting untuk mendiagnosis adanya antibodi terhadap HPA atau HLA karena hal ini dapat menekan kompatibilitas dan hasil transfusi (Dutra *et al.*, 2022). Meskipun kejadian PTR akibat antibodi HPA jarang ditemukan, fenomena ini masih dijumpai dalam praktik klinis, dengan angka kejadian alloimunitisasi terhadap antigen HPA dilaporkan berkisar antara 2% hingga 8% pada pasien trombositopenia yang menerima transfusi berulang (Lubis, Baskoro and Yasmin, 2024).

1.7 Kerangka Teori



1.8 Kerangka Konsep



Keterangan :



: Variabel Bebas



: Variabel Tergantung



: Variabel Perancu

BAB II METODE PENELITIAN

2.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Instalasi Rawat Inap, Instalasi Laboratorium Patologi Klinik dan Instalasi Rekam Medik RS Wahidin Sudirohusodo, dilaksanakan mulai Agustus 2025 hingga Oktober 2025. Pemeriksaan IgG anti HPA pada sampel plasma dilakukan di Laboratorium Penelitian RS Universitas Hasanuddin.

2.2 Alat dan Bahan

Penelitian ini menggunakan beberapa alat dan bahan untuk mendukung kelancaran proses pengambilan sampel dan pengumpulan data. Alat yang digunakan antara lain alat tulis, kertas, peralatan laboratorium seperti tabung vakutainer, jarum, alkohol swab, plester, ELISA reader, dan *hematology analyzer*. Bahan yang digunakan meliputi reagen IgG Anti *Human Platelet Antigen MyBiosource* (USA) dan sampel plasma dari subjek yang telah mendapat penjelasan untuk menjadi subjek penelitian dan menandatangani *informed consent* dengan tetap menjaga kerahasiaan identitas subjek penelitian.

2.3 Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan suatu penelitian *cross sectional*. Populasi penelitian adalah semua pasien yang menjalani multitransfusi produk trombosit yang berusia > 18 tahun, yang menjalani rawat inap di RS Wahidin Sudirohusodo Makassar. Data mengenai riwayat transfusi berulang dan diagnosis diperoleh dari data sekunder rekam medis.

Sampel penelitian adalah seluruh populasi terjangkau yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Cara pengambilan sampel adalah *consecutive sampling* yaitu semua pasien yang memenuhi kriteria penelitian dimasukkan dalam sampel penelitian sampai besar sampel terpenuhi.

Penentuan besar sampel menggunakan rumus ukuran sampel korelasi Pearson.

$$n = \left(\frac{\left(Z \frac{\alpha}{2} \right) + Z\beta}{0,5 \cdot \ln\left(\frac{1+r}{1-r}\right)} \right)^2 + 3$$

Keterangan :

r = korelasi yang diharapkan (0,4)

$Z\alpha/2$ = Z-score untuk taraf signifikansi (1,96 untuk $\alpha = 0,05$)

$Z\beta$ = Z-score untuk power 80% (0,84)

n = 46,7 $\approx$ 47

Berdasarkan perhitungan sampel tersebut, didapatkan jumlah minimal sampel ditambah 10% untuk *dropout*, jadi didapatkan 52 sampel. Jumlah sampel pada penelitian ini adalah sebanyak 64 subjek yang menjalani transfusi TC berulang.

2.3.1 Kriteria Inklusi

- a. Pasien dewasa yang berusia > 18 tahun yang mendapatkan transfusi produk trombosit lebih dari 1 kali dan sedang menjalani rawat inap di RS Wahidin Sudirohusodo.
- b. Memiliki data pemeriksaan darah rutin sebelum dan setelah transfusi trombosit.
- c. Bersedia terlibat dalam penelitian dengan menandatangani *informed consent*.

2.3.2 Kriteria Eksklusi

- a. Data pasien yang dibutuhkan dalam rekam medik tidak lengkap.
- b. Sampel lisis atau lipemik atau ikterik, dan pasien tidak memungkinkan dilakukan pengambilan sampel ulang.

2.3.3 Analisis Data

Semua data yang diperoleh dicatat dalam formulir data penelitian, kemudian dikelompokkan berdasarkan tujuan dan jenis data. Selanjutnya dipilih metode statistik yang sesuai. Analisis data dilakukan dengan menggunakan SPSS versi 25. Analisis statistik dilakukan adalah:

- a. Perhitungan statistik deskriptif dan sebaran frekuensi
- b. Uji statistik:
 - 1) *Kolmogorov-Smirnov test* untuk menilai normalitas data.
 - 2) Uji *Spearman* dan *Mann-Whitney* karena data tidak terdistribusi normal.
 - 3) Uji dengan *Chi square* untuk mengetahui perbandingan refrakter trombosit menurut kategori diagnosis.
 - 4) Hasil uji statistik signifikan jika nilai $p \leq 0,05$.

2.3.4 Izin Studi dan Kelayakan Etik

Setiap tindakan pada penelitian ini dilakukan setelah pemberian informasi dan atas seizin subjek yang dijadikan sampel penelitian melalui lembar *informed consent* dan dinyatakan memenuhi persyaratan etik untuk dilaksanakan dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin-RSPTN UH-RS Wahidin Sudirohusodo Makassar (KEPK FKUH-RSUH-RSWS) dengan nomor *Ethical Clearance* 584/UN4.6.4.5.31/PP36/2025.

2.4 Pelaksanaan Penelitian

2.4.1 Alokasi Subjek

- Semua pasien yang memenuhi kriteria inklusi dimasukkan dalam penelitian ini.
- Sampel penelitian yaitu pasien rawat inap yang menjalani transfusi produk trombosit berulang.

2.4.2 Cara Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dengan beberapa tahap sebagai berikut:

- Pasien yang menjalani perawatan di RS Wahidin Sudirohusodo yang memenuhi kriteria inklusi dimasukkan dalam penelitian ini kemudian diberikan penjelasan tentang penelitian, jika bersedia pasien diminta menandatangani *informed consent*.
- Dilakukan pengambilan sampel darah vena kemudian diproses untuk memperoleh sampel plasma pada subjek penelitian untuk pemeriksaan IgG anti HPA.
- Dilakukan penentuan refrakter trombosit dengan rumus CCI dari data antropometri dan pemeriksaan darah rutin yang ada di rekam medis.
- Dilakukan pemeriksaan IgG anti HPA dengan metode ELISA di Laboratorium Penelitian RS Universitas Hasanuddin.

2.4.3 Prosedur Pemeriksaan Kadar IgG Anti *Human Platelet Antigen*

A. Prinsip Tes

Pemeriksaan ini menggunakan prinsip *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA). Kit ELISA PA-Ab menggunakan metode *immunoassay* enzimatis kompetitif yang melibatkan antigen trombosit dan konjugat PA-Ab yang terlabel *horseradish peroxidase* (HRP). Dalam prosedurnya, sampel uji dan buffer dicampurkan dengan konjugat PA-Ab-HRP dan diinkubasi pada pelat yang telah dilapisi antigen selama satu jam. Setelah inkubasi, sumur dicuci sebanyak lima kali untuk menghilangkan bahan tidak terikat. Selanjutnya, substrat spesifik untuk enzim HRP ditambahkan dan diinkubasi hingga terbentuk produk reaksi berwarna biru. Reaksi kemudian dihentikan dengan penambahan *stop solution*, yang mengubah warna menjadi kuning. Intensitas warna yang terbentuk diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 450 nm. Intensitas warna ini berkorelasi terbalik dengan konsentrasi PA-Ab dalam sampel, karena PA-Ab dalam sampel dan konjugat PA-Ab-HRP bersaing untuk berikatan dengan antigen trombosit yang jumlahnya terbatas. Semakin banyak PA-Ab dari sampel yang mengikat, semakin sedikit konjugat yang berikatan, sehingga warna yang terbentuk lebih lemah. Nilai absorbansi kemudian dibandingkan dengan kurva standar, yang menghubungkan nilai optik densitas (O.D.) dengan konsentrasi

standar, untuk menentukan kadar PA-Ab dalam masing-masing sampel (MyBiosource, 2024).

B. Persiapan Sampel

- 1) Sampel dikumpulkan dengan menggunakan antikoagulan EDTA atau heparin, disentrifus sampel selama 15 menit pada kecepatan $1000\times g$ (3000 rpm) pada suhu $2-8^{\circ}\text{C}$ dalam 30 menit setelah pengambilan sampel.
- 2) Sampel yang akan digunakan dapat disimpan pada suhu -20°C selama 3 bulan atau suhu -80°C selama 6 bulan. Jika sampel akan diambil dalam waktu 24 jam, sampel dapat disimpan pada suhu $2-8^{\circ}\text{C}$. Hindari siklus beku-cair yang berulang (MyBiosource, 2024).

C. Alat dan Bahan

- 1) *Mikropipet dan tip (10-1000 μL) atau multichannel pipette*
- 2) *100 mL dan 1000 mL graduated cylinders*
- 3) *Distilled or deionized water*
- 4) *Tabung sampel*
- 5) *Absorbent paper*
- 6) *Microtiter plate reader dengan absorbansi 450 nm*
- 7) *Sentrifus*
- 8) *Microplate washer or washing bottle*
- 9) *Inkubator*
- 10) *Enzyme conjugate*
- 11) *Standard A-F*
- 12) *Substrat A dan B*
- 13) *Stop solution*
- 14) *Wash solution (100x)*
- 15) *Balance solution*

D. Persiapan Reagen

- 1) Semua komponen kit dan sampel dibawa ke suhu ruangan ($20-25^{\circ}\text{C}$) sebelum digunakan.
- 2) Sampel: Perkirakan konsentrasi sebelum pengujian. Jika konsentrasi tidak diketahui atau tidak dalam kisaran deteksi, disarankan untuk melakukan percobaan awal guna menentukan pengenceran optimal. PBS (pH 7,0-7,2) atau garam fisiologis 0,9% dapat digunakan sebagai *buffer* pengenceran.
- 3) *Wash solution*: Encerkan 10 mL konsentrat *wash solution* (100x) dengan 990 mL air deionisasi atau suling untuk menyiapkan 1000 mL *wash solution* (1x). Jika kristal terbentuk dalam konsentrat, hangatkan pada suhu ruangan dan aduk perlahan hingga kristal larut sepenuhnya. *Wash solution* stabil selama 2 minggu pada suhu

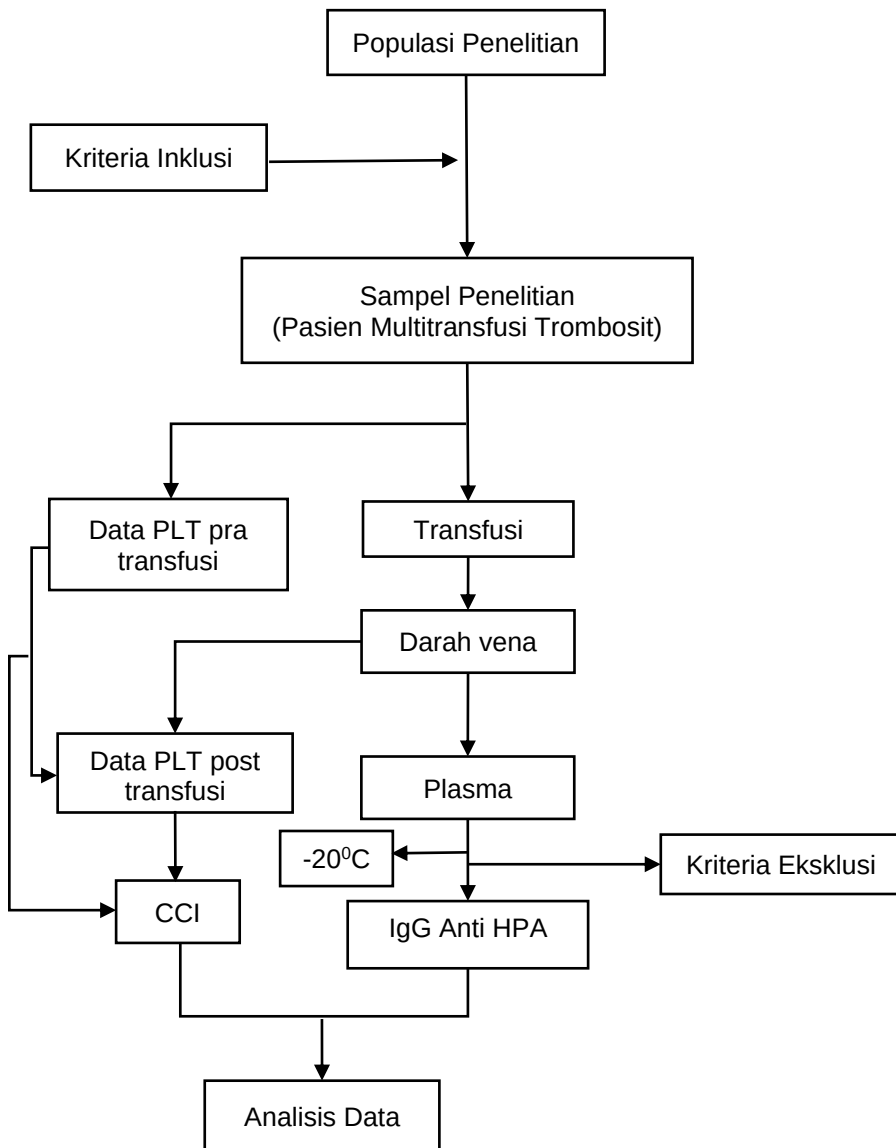
2-8°C.

- 4) Jangan encerkan komponen lain yang siap digunakan (MyBiosource, 2024).

E. Cara Kerja

- 1) Disiapkan jumlah *coated wells* yang dibutuhkan dalam wadah, lalu ditambahkan 100 uL Standar atau Sampel ke sumur yang sesuai di dalam *microtiter plate* yang berlapis antibodi. Tambahkan 100 uL PBS (pH 7,0-7,2) ke sumur kontrol kosong.
- 2) 50 uL *conjugate* ditambahkan ke setiap sumur (BUKAN sumur kontrol kosong). Aduk rata. Pencampuran yang baik pada langkah ini penting. Tutup dan inkubasi plat selama 1 jam pada suhu 37°C.
- 3) *Microtiter plate* dicuci menggunakan salah satu metode yang ditentukan di bawah ini:
 - a) Pencucian manual: Campuran inkubasi dibuang dengan menyedot isi plat ke dalam bak cuci atau wadah limbah yang sesuai. Isi setiap sumur hingga penuh dengan larutan pencuci 1x, lalu buang isi plat ke dalam bak cuci atau wadah limbah yang sesuai. Ulangi prosedur ini lima kali untuk total lima kali pencucian. Setelah dicuci, balik plat, dan keringkan dengan menepuk plat ke *absorbent paper* atau handuk kertas hingga tidak ada lagi bagian yang lembab. Catatan: Pegang sisi plat dengan kuat saat mencuci plat untuk memastikan semua strip tetap terpasang di tempatnya.
 - b) Pencucian otomatis: Plat dicuci lima kali dengan *wash solution* yang diencerkan (350-400 uL/sumur/cuci) menggunakan *auto washer*. Setelah dicuci, keringkan plat seperti di atas. Disarankan agar mesin cuci diatur untuk waktu perendaman 10 detik dan waktu perendaman 5 detik di antara setiap pencucian.
- 4) Ditambahkan 50 uL Substrat A dan 50 uL Substrat B ke setiap sumur termasuk sumur kontrol kosong. Tutup dan inkubasi selama 10-15 menit pada suhu 20-25°C. (Hindari sinar matahari).
- 5) Ditambahkan 50 uL *stop solution* ke setiap sumur termasuk sumur kontrol kosong. Aduk rata.
- 6) *Optical density* (O.D.) ditentukan pada 450 nm menggunakan *microplate reader* sesegera mungkin (MyBiosource, 2024).

2.4.4 Skema Alur Penelitian



2.5 Parameter Pemeriksaan

2.5.1 Definisi Operasional dan Kriteria Objektif

- a. Pasien multitransfusi adalah pasien rawat inap di RS Wahidin Sudirohusodo yang akan menjalani transfusi produk trombosit dan sudah menjalani transfusi secara berulang (> 1 kali).
- b. Refrakter trombosit didefinisikan sebagai respon terhadap transfusi trombosit yang kurang optimal yang ditandai dengan peningkatan jumlah trombosit pasca transfusi yang lebih rendah dari yang diharapkan, yang diketahui melalui perhitungan *Corrected Count Increment* (CCI) dan jumlah trombosit diperiksa dalam 10-60 menit pasca transfusi trombosit.

$$(CCI) = \frac{(PLT \text{ post} - PLT \text{ pre}) \times BSA}{PD}$$

Keterangan: CCI = *Corrected count increment*, PLT = Platelet, BSA = Body surface area, PD = Platelet dose

Kriteria objektif:

Refrakter = CCI < 7500/ μ L

Non-refrakter = CCI $\geq$ 7500/ μ L

- c. IgG anti HPA merupakan antibodi terhadap HPA yang kadarnya diukur pada sampel plasma subjek penelitian dengan menggunakan kit anti HPA metode ELISA (*MyBiosource*, USA), hasil dinyatakan dalam satuan ng/mL.
- d. Jumlah transfusi merupakan jumlah kantong trombosit yang ditransfusikan kepada subjek penelitian.
- e. Platelet pre transfusi merupakan jumlah trombosit subjek penelitian sebelum dilakukan transfusi trombosit yang diambil dari data sekunder subjek.
- f. Platelet post transfusi merupakan jumlah trombosit subjek penelitian yang diperiksa 60 menit setelah dilakukan transfusi trombosit dengan metode *Flowcytometry* menggunakan alat Mindray BC-6800 Plus (China).