

**PENGARUH LAMA SIMPAN TERHADAP KADAR IL6
DAN CD62P *TROMBOSITE CONSENTRATE*
(Studi *Ekperimental* di UDD PMI Kota Semarang)**

TESIS

Untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat magister S-2



Magister Ilmu Biomedik

Diah Hastuti

MBK2118010254

**PROGRAM STUDI MAGISTER BIOMEDIK
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG
SEMARANG
2023**

TESIS

**PENGARUH LAMA SIMPAN *TROMBOSITE CONSENTRATE*
TERHADAP KADAR IL6 DAN CD62P
(Studi *Eksperimental* di UDD PMI Kota Semarang)**

Disusun oleh:

Diah Hastuti

MBK.21.18.01.0254

Telah disetujui oleh:

Mengetahui,

Pembimbing I,

Pembimbing II

Dr. dr. Danis Pertiwi, M.Si. Med., Sp. PK
NIK. 210199051

Dr. dr. H. Hadi Sarosa, M. Kes
NIK. 210101059

Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik
Fakultas Kedokteran Unissula

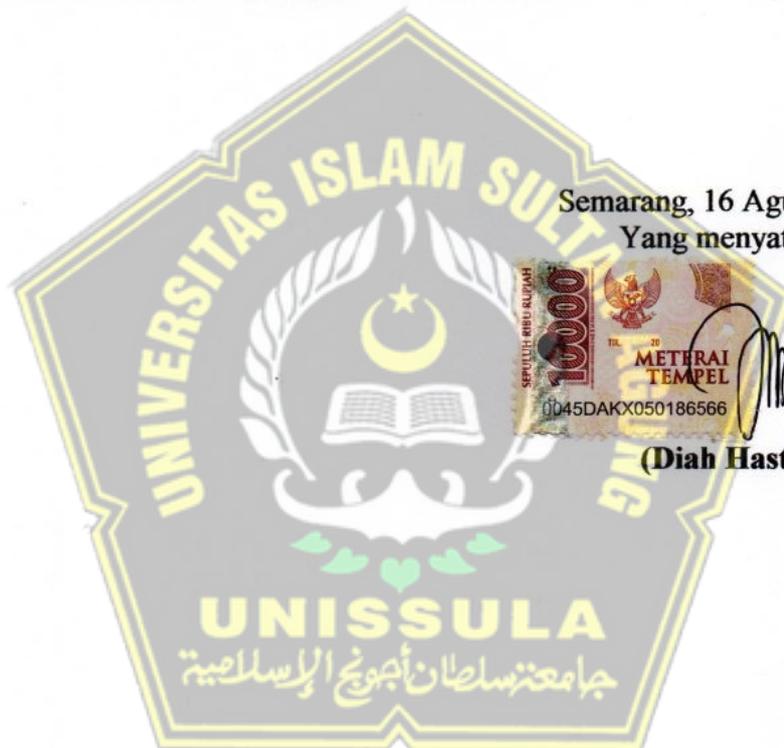
Assoc. Prof. Dr. dr. H. Agung Putra, M.Si., Med
NIK. 210199050

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan didalamnya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan lembaga pendidikan lainnya. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan maupun yang belum/ tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan di dalam tulisan dan daftar pustaka.

Semarang, 16 Agustus 2023

Yang menyatakan,



(Diah Hastuti)

RIWAYAT HIDUP

A. Identitas

Nama : Diah Hastuti
Tempat / tanggal lahir : Lampung Barat, 22 Januari 1991
Agama : Islam
Jernis Kelamin : Perempuan

B. Riwayat Pendidikan

1. TK Darmawanita : Lulus tahun 1997
2. SDN 01 Tanjung Raya : Lulus tahun 2003
3. SMPN 01 Liwa : Lulus tahun 2006
4. SMAN 1 Purwodadi : Lulus tahun 2009
5. S1 Fakultas Kedokteran Unissula Semarang : Lulus tahun 2013
6. Profesi Dokter Unissula Semarang : Lulus tahun 2015
7. Magister Ilmu Biomedik FK Unissula : (2021 — sekarang)

C. Riwayat Keluarga

1. Nama Suami : Adi Winata, S. Ked
2. Nama Anak : Tanisha Adia Kinara
Tavisha Adia Maira

KATA PENGANTAR

Dengan memanjatkan Puji dan Syukur Kehadirat Allah SWT atas segala Rahmat dan Karunianya pada penulis, akhirnya penulis dapat menyelesaikan penyusunan tesis yang berjudul: **PENGARUH LAMA SIMPAN TROMBOSITE CONSENTRATE TERHADAP KADAR IL6 DAN CD62P (Studi Eksperimental di UDD PMI Kota Semarang).**

Tesis ditulis dalam rangka memenuhi sebagai persyaratan untuk memperoleh gelar Magister (S.2) Ilmu Biomedik di Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang

Penulis menyadari bahwa tesis dapat diselesaikan berkat dukungan dan bantuan dari berbagai pihak, oleh karena itu penulis berterima kasih kepada semua pihak yang secara langsung maupun tidak langsung memberikan kontribusi dalam menyelesaikan Tesis ini.

Selanjutnya ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada:

1. Prof. Dr. H. Gunarto, SH., M. Hum selaku Rektor Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
2. Dr.dr.H. Setyo Trisnadi, S.H. Sp. KF selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
3. Assoc.Prof.Dr.dr.H. Agung Putra, M.Si. Med selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Universitas Islam Sultan Agung Semarang
4. DR.dr. Danis Pertiwi Sp.PK, M. Si Med selaku dosen pembimbing I yang bersedia meluangkan waktu dan pikiran untuk membimbing penulis selama proses penulisan tesis.

5. Dr.dr.H. Hadi Sarosa, M. Kes selaku dosen pembimbing II yang bersedia meluangkan waktu dan pikiran untuk membimbing penulis selama proses penulisan tesis.
6. Dr.dr.Joko Wahyu W, M. Kes Kes selaku dosen penguji I yang bersedia meluangkan waktu dan pikiran untuk memberi masukan dan arahan penulis selama proses penulisan tesis.
7. Dr.dr.Atina Husna, M.Si.Apt selaku dosen penguji II yang bersedia meluangkan waktu dan pikiran untuk memberi masukan dan arahan penulis selama proses penulisan tesis.
8. Assoc.Prof.Dr.dr.H. Agung Putra, M.Si. Med selaku dosen penguji III yang bersedia meluangkan waktu dan pikiran untuk memberi masukan dan arahan penulis selama proses penulisan tesis.
9. Para dosen pengajar dan rekan- rekan staf Magister Biomedik yang tidak dapat disebutkan satu persatu, yang telah memberikan doa dan dorongan kepada penyusun.
10. Pimpinan beserta karyawan PMI Kota Semarang atas segala toleransi, pengertian, perhatian dan dukungan kepada penyusun selama menyelesaikan tesis.
11. Kedua orang tua (Udin Prawito dan Rominas), mertua (Suco Haryono dan Ernawati), Suami (Adi Winata) serta anak-anakku (Tanisha Adia Kinara dan Tavisha Adia Maira) yang telah memberikan doa, dukungan, dorongan serta bantuan baik material spiritual sehingga Tesis ini dapat terselesaikan.

12. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah memberikan bantuan dalam penyusunan tesis ini, terimakasih atas dukungannya.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penyusunan penelitian ini. Oleh karena itu, saran-saran yang membangun dari manapun akan diterima dengan terbuka. Harapan penulis semoga penelitian ini bermanfaat untuk berbagai pihak. Amin yaa rabbal alamin.

Akhir kata, semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan berkat dan rahmat-Nya kepada kita semua,amin.



Semarang, 16 Agustus 2023

(Diah Hastuti)

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN	iii
RIWAYAT HIDUP.....	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR SINGKATAN	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
ABSTRAK.....	xv
ABSTRACT.....	xvi
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. Manfaat Penelitian.....	4
1.4.1. Manfaat Teoritis.....	4
1.4.2. Manfaat Praktis	4
1.5. Originalitas Penelitian.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1. <i>Interleukin-6 (IL6)</i>	8
2.1.1. Pengertian	8
2.1.2. Faktor yang mempengaruhi kadar IL-6	11
2.1.3. Metode pemeriksaan IL6.....	13
2.2. <i>P-selektin (CD62P)</i>	14
2.3. <i>Trombosit Concentrate</i>	16
2.3.1. Indikasi Transfusi <i>Trombosit Concentrate</i>	16
2.3.2. Pembuatan <i>Trombosit Concentrate</i>	17

2.3.3. Penyimpanan dan Transportasi.....	19
2.4. Pengaruh Lama Simpan Terhadap Kadar IL6 Dan CD62P <i>Trombosit</i> <i>Concentrate</i>	20
BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, DAN HIPOTESIS	26
3.1. Kerangka Teori.....	26
3.2. Kerangka Konsep.....	30
3.3. Hipotesis Penelitian	30
BAB IV METODE PENELITIAN.....	31
4.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian	31
4.2. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	32
4.2.1. Variabel Penelitian	32
4.2.2. Definisi Operasional.....	32
4.3. Populasi dan Sampel Penelitian	33
4.3.1. Populasi Penelitian	33
4.3.2. Sampel Penelitian.....	33
4.3.3. Besar Sampel	34
4.4. Alat dan Bahan	34
4.4.1. Alat	34
4.4.2. Bahan	35
4.5. Cara Penelitian.....	35
4.5.1. Perolehan <i>Ethical Clearance</i>	35
4.5.2. Cara Pengambilan Sampel.....	35
4.5.3. Cara Pemeriksaan.....	36
4.6. Tempat dan Waktu.....	38
4.6.1. Tempat	38
4.6.2. Waktu.....	38
4.7. Analisa Hasil.....	38
4.8 Alur Penelitian	39
BAB V HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	40
5.1. Hasil Penelitian.....	40
5.1.1. Kadar IL-6.....	40
5.1.2. Kadar CD62P	43
5.2. Pembahasan	45
5.3. Keterbatasan Penelitian.....	48

BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	50
6.1. Kesimpulan.....	50
6.2. Saran.....	50
DAFTAR PUSTAKA	51
LAMPIRAN.....	56



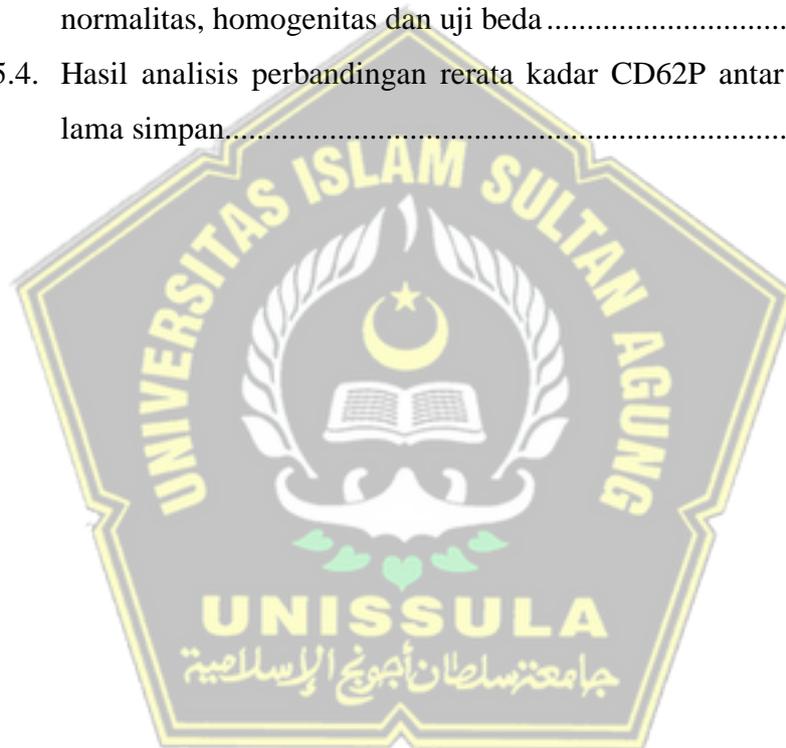
DAFTAR SINGKATAN

eNOS	: <i>Endothelial nitric oxide synthase</i>
IL-6	: <i>Interleukin-6</i>
NO	: <i>Nitric oxide</i>
PMI	: Palang Merah Indonesia
PSL	: <i>Platelet Storage Lesion</i>
TC	: <i>Trombosit Concentrate</i>
TNF	: <i>Tumor Necrosis Factor</i>
UDD	: Unit Donor Darah



DAFTAR TABEL

Tabel 1.1. Originalitas Penelitian.....	6
Tabel 5.1. Rerata kadar IL-6 berdasar lama simpan beserta hasil uji normalitas, homogenitas dan uji beda	41
Tabel 5.2. Hasil analisis perbandingan rerata kadar IL-6 antar dua waktu lama simpan	42
Tabel 5.3. Rerata kadar CD62P berdasar lama simpan beserta hasil uji normalitas, homogenitas dan uji beda	43
Tabel 5.4. Hasil analisis perbandingan rerata kadar CD62P antar dua waktu lama simpan.....	44



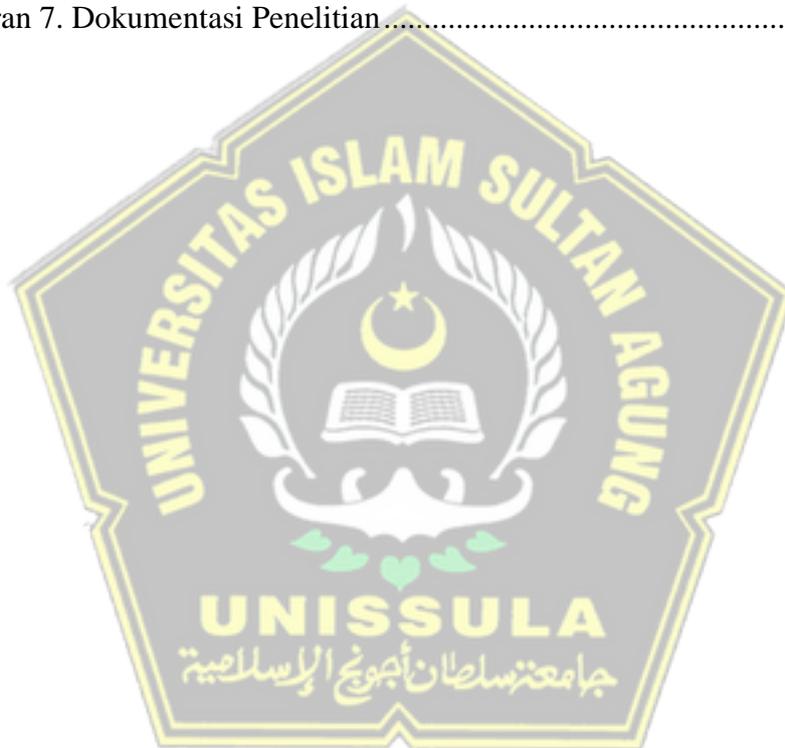
DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Jenis Komponen Darah.....	20
Gambar 3.1. Kerangka Teori.....	28
Gambar 3.2. Kerangka Konsep	30
Gambar 4.1. Skema Rancangan Penelitian	31
Gambar 4.2. Alur Penelitian.....	39
Gambar 5.1. Grafik perbandingan rerata kadar IL-6 antar lama simpan	42
Gambar 5.2. Grafik perbandingan rerata kadar CD62P antar lama simpan.....	45



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. <i>Ethical Clearance</i>	56
Lampiran 2. Surat Keterangan telah Melaksanakan Penelitian	57
Lampiran 3. Surat Permohonan Ijin Penelitian	58
Lampiran 4. Hasil Pemeriksaan Kadar IL-6	59
Lampiran 5. Hasil Pemeriksaan Kadar CD62P	60
Lampiran 6. Hasil Analisis Kadar IL-6 dan CD62P	65
Lampiran 7. Dokumentasi Penelitian	70



ABSTRAK

Trombosit konsentrat merupakan produk darah yang labil dan mudah mengalami kerusakan pada sel darahnya. Waktu penyimpanan diperkirakan akan menyebabkan perubahan beberapa kondisi sehingga akan mempengaruhi kualitas TC diantaranya dapat mempengaruhi kadar CD62P dan kadar *interleukin 6* (IL-6). Tujuan penelitian ini adalah mengetahui pengaruh lama simpan *thrombosit konsentrat* (TC) terhadap kadar IL-6 dan kadar CD62P di UDD PMI Kota Semarang.

Penelitian ini merupakan penelitian *eksperimental*, dimana penelitian ini menganalisis bagaimana perubahan kadar IL-6 dan kadar CD62P pada TC berdasarkan lama simpan di Unit Donor Darah PMI Kota Semarang. Rancangan penelitian ini terbagi atas kelompok hari ke-0, hari ke-1, hari ke-3, hari ke-5 dan hari ke-7. Populasi pada penelitian ini adalah 5 kantong TC yang diproduksi dan disimpan di Unit Donor Darah PMI Kota Semarang. Sampel penelitian sebanyak 5 kantong TC dengan teknik pengambilan *purposive sampling*. Kadar IL6 dianalisis menggunakan metode ELISA. Pemeriksaan Kadar CD62P menggunakan alat *flowcytometer*. Kadar IL-6 di uji beda menggunakan *repeated anova* dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc* LSD untuk menunjukkan adanya perbedaan antar kelompok ($P < 0,05$). Pada CD62P data dianalisis menggunakan uji *friedman* dan dilanjutkan dengan uji *wilcoxon* untuk menunjukkan adanya perbedaan antar kelompok ($P < 0,05$).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar terendah IL-6 dan CD62P pada TC terdapat pada hari ke-0 dan kadar tertinggi IL-6 dan CD62P pada TC terdapat pada hari ke-7. Analisis perbedaan kadar IL-6 dan CD62P antara penyimpanan TC hari ke-0, hari ke-1, hari ke-3, hari ke-5, dan hari ke-7 mendapatkan hasil signifikan kecuali pada hari ke-3. Pengaruh yang ditunjukkan yaitu meningkatnya kadar IL-6 dan CD62P.

Kata kunci: CD62P, IL-6, lama simpan, trombosit konsentrat

ABSTRACT

Thrombocyte concentrate is a blood product that is labile and easily damaged by its blood cells. Storage time is expected to cause changes in several conditions so that it will affect the quality of TC which can affect levels CD62P and levels interleukins 6(IL-6). The purpose of this research is to determine the effect of the length of storage of thrombocyte concentrate (TC) on IL-6 levels and CD62P levels in UDD PMI Semarang City.

This research is research experimental, where this study analyzes how changes in levels IL-6 and CD62P levels on TC based on length of storage at PMI Semarang Blood Donor Unit. The research design was divided into groups on day 0, day 1, day 3, day 5 and day 7. Population in this study were 5 TC bags produced and stored at the PMI Blood Donor Unit in Semarang City. The research sample consisted of 5 TC bags using purposive sampling technique. IL-6 levels were analyzed using the ELISA method. Examination of CD62P Levels use flowcytometer device. IL-6 levels were tested differently using repeated ANOVA and continued with the LSD Post Hoc test to show differences between groups ($P < 0.05$). For CD62P, the data were analyzed using the Friedman test and followed by the Wilcoxon test to show differences between groups ($P < 0.05$).

The research results show that the lowest levels of IL-6 and CD62P in TC were found on day 0 and the highest levels of IL-6 and CD62P in TC were found on day 7. Analysis of differences in IL-6 and CD62P levels between TC storage on day 0, day 1, day 3, day 5, and day 7 showed significant results except on day 3. The effect shown was the increase in IL-6 and CD62P levels.

Keywords: *CD62P, IL-6, storage time , thrombocyte concentrate*

UNISSULA
جامعة سلطان أبوبوع الإسلامية

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Thrombosit concentrate (TC) merupakan komponen darah yang berisi trombosit, beberapa leukosit dan sel darah merah serta plasma. Para klinisi menggunakan TC untuk terapi pada berbagai macam penyakit dan banyak klinisi menginginkan produk TC dengan masa simpan kurang dari 3 hari sehingga banyak produk TC terbuang. Permenkes No 91 tahun 2015 menjelaskan bahwa masa simpan TC yang aman digunakan adalah 5 hari dengan sistim tertutup dan 4 jam dengan sistim terbuka. Sejauh ini belum ada penelitian yang membuktikan lama simpan TC yang aman. Masa simpan TC yang terbatas karena adanya risiko terkontaminasi oleh bakteri dan selama proses penyimpanan trombosit rentan terhadap perubahan lingkungan yang dapat mempengaruhi kualitas dan dikenal sebagai *platelet storage lesions*. Komponen darah TC tetap terjaga fungsinya dengan memadai apabila disimpan selama 5 hari dan setelah itu akan kehilangan viabilitas dan fungsi trombosit secara progresif selama penyimpanannya¹.

Thrombosit concentrate (TC) menduduki urutan kedua terbanyak dalam hal kebutuhan produk darah yang diminta oleh klinisi. Hal ini berkaitan dengan Indonesia merupakan negara endemis demam berdarah. Mengingat betapa pentingnya trombosit dan manfaatnya dalam terapi, ketersediaan TC sangat diperlukan. Unit Donor Darah PMI mempunyai kapasitas dan wewenang untuk memproduksi komponen darah TC. Unit

Donor Darah PMI Kota Semarang memproduksi sekitar 10.000– 15.000 kantong per bulan dan 40%nya adalah produk TC. Trombosit konsentrat merupakan produk darah yang labil dan mudah mengalami kerusakan pada sel darahnya, karenanya TC merupakan komponen darah yang perlu diwaspadai akibat kondisi pengolahan produk komponennya melalui proses panjang, yaitu melalui sentrifugasi dua kali. Waktu penyimpanan diperkirakan akan menyebabkan perubahan beberapa kondisi sehingga akan mempengaruhi kualitas TC.

Sel trombosit bertahan hidup pada suhu 20°C–24°C dengan penyimpanan pada *agitator* agar tidak terjadi penggumpalan trombosit pada plasma².

Kualitas trombosit dapat dilihat dari proporsi trombosit yang teraktivasi dan kerusakan trombosit ini dapat diketahui dengan melihat adanya aktivasi trombosit pada TC. Jumlah trombosit yang teraktivasi dapat diketahui dan diukur dari beberapa parameter, salah satunya dengan mengukur kadar CD62P pada konsentrat trombosit. Kualitas TC yang tidak baik akan meningkatkan resiko pasca transfusi seperti thrombosis. Pada kondisi *in vitro* kualitas TC sangat dipengaruhi oleh lama simpan, beberapa kondisi yang akan terjadi adalah menurunkan kualitas TC.

Secara *in vitro* proses koagulasi mempengaruhi aktivitas inflamasi, menghasilkan up-regulasi sitokin proinflamasi, Untuk mengetahui hal tersebut dapat diperiksa kadar *interleukin 6* (IL6)⁴. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa leukosit residu terutama monosit merupakan sumber

utama sitokin proinflamasi pada TC dan adanya *sitokin proinflamasi* seperti *Interleukin-1 beta* (IL-1 β), *Interleukin-6* (IL-6), *Interleukin-8* (IL-8) dan *Tumor Necrosis Factor-alpha* (TNF- α) berperan dalam reaksi transfusi. Kerusakan trombosit selama preparasi dan penyimpanan juga diperkirakan disebabkan karena trombosit dapat melepaskan *platelet-specific cytokine*³⁹.

Penelitian-penelitian terdahulu mengkaji tentang pengaruh lama penyimpanan TC terhadap pH, kadar glukosa, LDH dan kalsium, namun belum ada yang mengkaji tentang kadar IL6 dan kadar CD62P pada TC. Hasil penelitian-penelitian tersebut membuktikan terjadinya penurunan kualitas TC yang ditandai dengan penurunan jumlah trombosit serta kenaikan nilai *mean volume platelet* (MVP). Selain itu semakin lama waktu penyimpanan akan menurunkan kadar pH, kadar glukosa, LDH dan kalsium⁸.

Pengujian tentang pengaruh masa simpan trombosit sangat diperlukan supaya dapat memperkirakan kualitas produk terbaik dan masa simpan yang diperlukan untuk ditransfusikan kepada pasien. Penelitian dan pengujian dilakukan untuk mengetahui pengaruh lama simpan TC terhadap jumlah kadar IL6 dan kadar CD62P sehingga dapat menentukan batas waktu maksimal penyimpanan.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas dapat dirumuskan suatu masalah apakah ada pengaruh lama simpan *thrombosit concentrat* (TC) terhadap kadar IL6 dan kadar CD62P di UDD PMI Kota Semarang.

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Untuk mengetahui pengaruh lama simpan *thrombosit consentrat* (TC) terhadap kadar IL6 dan kadar CD62P di UDD PMI Kota Semarang.

1.3.2. Tujuan Khusus

1. Mengetahui kadar IL6 dan kadar CD62P pada TC hari ke-0, hari ke-1, hari ke-3, hari ke-5 dan hari ke-7
2. Menganalisis perbedaan kadar IL6 dan kadar CD62P antara penyimpanan TC segera, hari ke-1, hari ke-3, hari ke-5 dan hari ke-7.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Teoritis

Sebagai landasan teori dan bahan pengembangan penelitian serta dapat mendukung perkembangan ilmu pengetahuan kesehatan khususnya tentang pengaruh lama simpan TC terhadap kadar IL6 dan kadar CD62P.

1.4.2. Manfaat Praktis

1. Bagi PMI (Palang Merah Indonesia), memberikan tambahan informasi tentang faktor-faktor risiko yang berhubungan dengan kualitas produk TC.
2. Bagi Dinas Kesehatan, hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi bahan kajian terkait pelayanan transfusi khususnya

tentang pengaruh waktu penyimpanan TC terhadap kadar IL6 dan kadar CD62P.



1.5. Originalitas Penelitian

Tabel 1.1. Originalitas Penelitian

No	Judul dan Peneliti	Variabel	Metode	Hasil
1	Judul: Efek Prestorage Leukoreduced Filtration (PLF) Terhadap Kadar CD62P Pada Konsentrat Trombosit Peneliti: Herawati <i>et al.</i> , (2020)	Variabel independen: Prestorage Leukoreduced Filtration (PLF) Variabel dependen: Kadar CD62P	<i>Eksperimental</i>	Kadar penyimpanan hari pertama, ketiga dan kelima pada konsentrat trombosit dengan PLF lebih rendah dari pada konsentrat trombosit kontrol (tanpa PLF).
2	Judul: Perbedaan Jumlah Trombosit Konsentrat Trombosit Pada Penyimpanan Hari I, III, V di Unit Donor Darah Provinsi Bali/Rsup Sanglah Denpasar Peneliti: Lestariyani & Herawati (2017)	Variabel independen: Waktu penyimpanan Hari I, III, V Variabel dependen: Jumlah trombosit konsentrat	Observasional analitik	Tidak terdapat perbedaan yang signifikan rata-rata jumlah trombosit di trombosit konsentrat pada penyimpanan hari I, III, dan V.
3	Judul: Storaging Time of Thrombocyte on Platelets Count in its Concentrate Peneliti: Samad <i>et al.</i> , (2016)	Variabel independen: Waktu penyimpanan Variabel dependen: Jumlah trombosit konsentrat	Observasional analitik	Penyimpanan Trombosit Konsentrat selama tujuh hari tidak dapat mempertahankan stabilitas jumlah trombosit dan disarankan untuk diteliti lebih lanjut

4	<p>Judul: Platelet Activation in Stored Platelet Concentrates: Comparison of Two Methods Preparation Peneliti: Ali (2012)</p>	<p>Variabel independen: Waktu penyimpanan Hari I, III, V Variabel dependen: Aktivasi Trombosit dalam Konsentrat Trombosit</p>	<p><i>Eksperimental</i></p>	<p>Tidak ada perbedaan pH yang signifikan. Rata-rata leukosit yang dihitung berasal dari buffy coat konsentrat dan konsentrat plasma kaya platelet, dan mendapatkan hasil yang sebanding dan signifikan secara statistik diamati ($P < 0,05$). Selama penyimpanan hingga 5 hari platelet rich plasma-platelet unit konsentrat menampilkan peningkatan signifikan pada CD62P, Ekspresi Annexin V, dibandingkan dengan persiapan konsentrat platelet turunan buffy coat pada hari ke 5 ($P < 0,05$).</p>
5	<p>Judul: Evaluation of Storage Length to Blood Component Platelet Concentrate Quality in the Blood Bank, Dr. Soetomo General Hospital, Surabaya, Indonesia Peneliti: Armenia & Tambunan (2020)</p>	<p>Variabel independen: Lama penyimpanan Variabel dependen: Komponen trombosit</p>	<p>Observasional analitik</p>	<p>Tidak ada perubahan signifikan pada jumlah trombosit dan nilai PO_2. Perubahan metabolik pada TC bag didapatkan namun tidak terjadi penurunan jumlah trombosit sehingga komponen TC masih layak untuk diberikan kepada pasien.</p>

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. *Interleukin-6 (IL6)*

2.1.1. Pengertian

Interleukin-6 (IL6) adalah salah satu kelompok sitokin proinflamasi sehingga sitokin ini berpeluang untuk dijadikan indikator menilai tingkat inflamasi yang dialami oleh sel endotel pembuluh darah. IL-6 beredar dalam bentuk *multiple glycosylated* dengan ukuran bervariasi antara 22-27 kDa. Peningkatan kadar IL-6 serum dapat menyebabkan penurunan regulasi produksi NO dengan menghambat *endothelial nitric oxide synthase (eNOS)* sehingga memfasilitasi pembentukan trombus dan akibatnya meningkatkan risiko kejadian penyakit kardiovaskuler. Peningkatan kadar penanda inflamasi berhubungan dengan disfungsi endotel dan untuk mengidentifikasi pasien dengan kondisi yang lebih parah²⁵.

Kadar IL-6 meningkat pada pasien dengan obesitas dan resistensi insulin serta berkorelasi baik dengan IMT. IL-6 terutama disekresi oleh adiposit terutama dari jaringan adiposa visceral, yang menghasilkan dua sampai tiga kali lebih tinggi dibandingkan dengan jaringan adiposa subkutan. Produksi IL-6 meningkat oleh jaringan adiposa selama obesitas. Peningkatan asam lemak dan IL-6 melalui sirkulasi hati menghasilkan peningkatan akumulasi lipid hati, hal ini berkontribusi terhadap perkembangan lesi aterosklerotik oleh efek

parakrin, autokrin, dan endokrin. IL-6 merupakan sitokin proinflamasi kuat yang dihasilkan oleh beberapa jenis sel, termasuk makrofag yang teraktivasi, sel T, sel endotel, dan sel otot polos untuk merangsang respon kekebalan tubuh selama infeksi²⁶, telah diakui sebagai penanda potensial terkait dengan kejadian penyakit kardiovaskuler.

Interlukin-6 (IL-6) juga mempengaruhi tindakan beragam seluler, termasuk efek pada trombosit, endotelium, faktor metabolisme, dan koagulasi. IL-6 memainkan peran penting dalam proses ruptur atau erosi plak aterosklerotik dan kadar IL-6 serum yang meningkat selama peristiwa ini. IL-6 merupakan *sitokin pleiotropik* yang memiliki kisaran aktivitas biologi yang luas sehingga tidak spesifik untuk menunjukkan parameter penyakit tertentu. Peningkatan kadar IL-6 berkorelasi dengan kerusakan jaringan dan inflamasi yang terjadi²⁷. Secara umum IL-6 berhubungan dengan IL-1 dan TNF- α , yang artinya ketiga sitokin ini dapat saling berkoordinasi pengeluarannya dari monosit aktif, terutama di daerah inflamasi sehingga sering disebut sitokin proinflamasi (*proinflammatory-cytokine*)²⁸.

Nilai normal kadar IL-6 dalam serum adalah < 4 pg/ml. Jika kadar IL6 dalam serum adalah ≥ 4 pg/ml dapat dikatakan meningkat. Hal ini menandakan bahwa telah terjadi suatu proses inflamasi¹⁷. Peningkatan IL-6 juga memiliki efek yang merugikan seperti

meningkatkan suhu tubuh dan dalam peningkatan kronis IL-6 menyebabkan kerusakan jaringan yang ditandai dengan terjadinya proses inflamasi dan peningkatan produksi leukosit. Kadar IL-6 dalam serum dapat meningkat seiring dengan bertambahnya usia. Pada usia 65- 74 tahun, kadar IL-6 rata – rata adalah 1,4 pg/ml pada laki – laki dan 1,1 pg/ml pada wanita. Pada usia diatas 85 tahun, kadar IL-6 rata – rata pada laki – laki adalah 3,5 pg/ml dan 2,1 pg/ml pada wanita. Peningkatan kadar IL-6 terkait usia diakibatkan stimulasi produksi IL-6 terkait peningkatan jumlah radikal bebas oksigen. Penyebab lainnya adalah adanya gangguan regulasi normal pada ekspresi gen yang mengatur produksi IL-6.

Interleukin-6 (IL- 6) berperan dalam peningkatan titer antibodi antitrombosit dan anti-endotel. Peningkatan titer antibodi antitrombosit ini berkaitan dengan kerusakan trombosit. Perubahan kualitas trombosit dapat berdampak pada viabilitas trombosit dan menurunnya fungsi hemostasis. Mekanisme yang menyebabkan terjadinya *platelet storage lesion* sangat multifaktorial dan belum dipahami dengan jelas. Beberapa faktor termasuk metode penyadapan darah, proses pembuatan komponen, penyimpanan serta adanya manipulasi setelah penyadapan darah dapat menyebabkan terjadinya *platelet storage lesion*.

2.1.2. Faktor yang mempengaruhi kadar IL-6

Terdapat beberapa faktor yang dapat memengaruhi kadar IL-6 di dalam tubuh seseorang, antara lain sebagai berikut:

a. Usia

Kadar IL-6 dalam serum dapat meningkat seiring dengan bertambahnya usia. Pada usia 65- 74 tahun, kadar IL-6 rata – rata adalah 1,4 pg/ml pada laki – laki dan 1,1 pg/ml pada wanita. Pada usia diatas 85 tahun, kadar IL-6 rata – rata pada laki – laki adalah 3,5 pg/ml dan 2,1 pg/ml pada wanita. Peningkatan kadar IL-6 terkait usia diakibatkan stimulasi produksi IL-6 terkait peningkatan jumlah radikal bebas oksigen. Penyebab lainnya adalah adanya gangguan regulasi normal pada ekspresi gen yang mengatur produksi IL-6¹⁸.

b. Jenis kelamin

Kaitan jenis kelamin dengan kadar IL-6 berawal dari beberapa studi yang menunjukkan bahwa penurunan produksi dan kadar hormon steroid dalam sirkulasi menyebabkan kondisi pro-inflamasi ringan pada orang tua. Misalnya, hormon dehidroepiandrosteron (DHEA) dan GHEA sulfat yang memiliki korelasi negatif dengan kadar IL-6 dalam serum serta menghambat sekresi IL-6 dari sel mononuklear. Dengan demikian, hubungan jenis kelamin dengan kadar IL-6 berkaitan dengan hormon seks yang diproduksi tubuh. Wanita menopause

akan mengalami peningkatan kadar IL-6. Pemberian terapi estrogen pada wanita menopause akan menurunkan kadar IL-6 di sirkulasi¹⁹.

c. Merokok

Merokok dapat memicu produksi IL-6 oleh leukosit. IL-6 memiliki peran penting dalam proses sintesis CRP dan protein fase akut lainnya oleh hepar. IL-6 juga memiliki karakteristik yang berbeda dengan sitokin lainnya karena sebagian besar berada di sirkulasi²⁰.

d. Hipertensi

IL-6 memiliki peran penting dalam patogenesis hipertensi melalui jalur angiotensin II (ANG II)²¹.

e. Diabetes mellitus

IL-6 yang meningkat merupakan faktor risiko terjadinya DM tipe 2 pada orang sehat. IL-6 juga mempengaruhi metabolisme glukosa dalam tubuh dengan menyebabkan peningkatan ambilan glukosa basal dan mengubah sensitivitas insulin²².

f. Penyakit jantung

IL-6 memiliki peran dalam patogenesis penyakit jantung koroner dan berhubungan erat dengan aterosklerosis. Kadar IL-6 yang tinggi berhubungan dengan mortalitas pada pasien dengan sindrom koroner akut²³.

2.1.3. Metode pemeriksaan IL6

1. Metode ELISA

ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*) merupakan teknik biokimia yang banyak digunakan di bidang imunologi untuk mendeteksi adanya antibodi atau antigen pada suatu sampel. ELISA diperkenalkan pada tahun 1971 oleh Peter Perlmann dan Eva Engvall untuk menganalisis adanya interaksi antigen dengan antibodi di dalam suatu sampel dengan menggunakan enzim sebagai reporter label. Terdapat beberapa jenis teknik ELISA, yaitu (1) Indirect ELISA; (2) Direct ELISA; (3) ELISA Sandwich; (4) ELISA Multiplex dan (5) ELISA Biotin Streptavidin.

Fungsi dari pemeriksaan ELISA yaitu bukan hanya untuk mengetahui keberadaan suatu antigen dengan antibodi tetapi juga untuk mengukur kadar antigen atau antibodi tersebut dengan menggunakan alat spektrofotometer. Spektrofotometer adalah sebuah alat yang dapat mengukur jumlah dari cahaya yang menembus sumuran dari microplate. Kompleks antigen – antibodi yang terjadi pada *well microplate* dan setelah pemberian substrat, enzim yang terikat pada antibodi ke dua pada kompleks antigen-antibodi yang terbentuk akan memberikan perubahan warna pada cairan tersebut, sehingga akan memberikan *optical density* yang berbeda. *Optical density* dapat dinyatakan

meningkat atau menurun berdasarkan pengenceran material standar, sehingga akan menghasilkan kurva *dose-response* yang nantinya akan digunakan untuk mengestimasi kadar dalam sampel²⁴. Pengukuran kadar atau konsentrasi IL-6 dapat dilakukan dengan uji ELISA.

Sampel darah vena diambil melalui spuit steril 3 mL dan dimasukkan dalam venoject plain ukuran 5 mL. Kemudian dilakukan pemusing/sentrifuse pada 3000 rpm selama 15 menit untuk memisahkan serum dari endapan/ pellet dalam 30 menit sesudah pengambilan. Serum yang didapat harus disimpan pada suhu - 200C, jika tidak langsung dianalisis. Setelah itu dilakukan pemeriksaan dengan teknik ELISA dan dibaca dengan ELISA reader. Preparasi sampel untuk pemeriksaan IL-6 dengan menggunakan teknik ELISA hampir sama untuk semua jenis alat ELISA, hanya saja prosedur pengerjaannya berbeda sesuai dengan kit reagen yang digunakan¹⁸.

2.2. *P-selektin* (CD62P)

P-selektin (CD62P), yang merupakan protein 140kD ditemukan di dalam granul alpha trombosit dan Weibel - Palade bodies dari sel endotel, adalah anggota dari keluarga selektin molekul adhesi, yang memainkan peran penting dalam reproduksi dan hemostasis. CD62P dilepaskan dari permukaan sel dan beredar sebagai molekul larut dalam plasma. Kedua bentuk membran dan bentuk larut p-selektin adalah agonis proses trombosis

dan inflamasi. Selanjutnya, *P-selektin* (CD62P) dapat mendukung trombosit, interaksi trombosit, dan berperan penting dalam tahap awal peradangan, trombosis, dan aterosklerosis dengan memediasi pembentukan dan perkembangan plak.

P-selektin merupakan anggota dari keluarga selektin dari molekul adhesi permukaan sel yang diekspresikan oleh trombosit dan sel endotel pada saat aktivasi dan mempunyai peran penting pada reaksi inflamasi yang mendukung pengambilan dan aktivasi sirkulasi leukosit, dan pada saat proses koagulasi melalui generasi *leucocyte-derived "bloodborne" tissue factor*. *P-selektin* dengan cepat dikeluarkan dari membran sel pada saat aktivasi trombosit dan pelepasan ini berkontribusi lebih banyak dalam bentuk molekul *isoform* terlarut yang ditemukan di dalam plasma. *P-selektin* (CD62P) merupakan suatu reseptor adhesi yang terletak pada membran sebelah dalam α -granul pada trombosit istirahat. *P-selektin* dilepaskan pada permukaan trombosit yang teraktivasi pada saat membran α -granul internal berintegrasi ke dalam membran sitoplasma dan berperan sebagai marker sekresi trombosit. *P-selektin* berfungsi sebagai reseptor pengikatan trombosit teraktivasi pada leukosit⁵.

Kualitas trombosit dapat dilihat dari proporsi trombosit yang teraktivasi dan kerusakan trombosit ini dapat diketahui dengan melihat adanya aktivasi trombosit pada konsentrat trombosit. Jumlah trombosit yang teraktivasi dapat diketahui dan diukur dari beberapa parameter, salah satunya dengan mengukur kadar CD62P pada konsentrat trombosit. Kadar

CD62P dinyatakan berkorelasi terbalik dengan peningkatan jumlah dan fungsi trombosit. Paparan CD62P pada permukaan trombosit selama penyimpanan konsentrat trombosit memicu terjadinya pembersihan trombosit melalui CD62P, sehingga dikatakan bahwa CD62P dapat berperan sebagai marker aktivasi trombosit¹⁰.

2.3. *Trombosit Concentrate*

Thrombosit concentrate (TC) merupakan komponen darah yang berisi trombosit, beberapa leukosit dan sel darah merah serta plasma. Penyimpanan optimal TC harus dipertahankan pada kisaran suhu 20°C hingga 24°C dengan agitasi. Komponen TC didapatkan dengan dua cara yaitu trombosit diperoleh dari darah lengkap (*Single Whole Blood*) dan trombosit yang diperoleh dari sistem *apheresis*³².

Produk darah adalah setiap substansi terapeutik yang dibuat dari darah manusia. Produk darah dibuat menjadi komponen darah. Komponen darah berawal dari Darah Lengkap (*Whole Blood*) merupakan darah dari donor yang dikumpulkan dalam sebuah wadah berisi larutan pengawet antikoagulan, dan belum dipisahkan komponennya. Darah lengkap dapat dibuat komponen darah yang antara lain sel darah merah pekat (*Packed Red Cells*), plasma, TC, *Cryoprecipitate - AHF (Anti Hemofili Faktor)*²⁵.

2.3.1. *Indikasi Transfusi Trombosit Concentrate*

Fungsi penting trombosit terlibat dalam mekanisme hemostasis proses terhadap perbaikan pembuluh darah yang rusak. Indikasi transfusi trombosit diantaranya sebagai terapi perdarahan akibat

trombositopenia, defek fungsi trombosit dan sebagai pencegahan perdarahan akibat trombositopenia seperti pada kegagalan sumsum tulang. Nilai normal jumlah trombosit dalam darah antara 150.000 sampai 400.000/mm³. Indikasi transfusi trombosit keadaan dimana trombositopenia yang dapat mengancam jiwa. Jumlah trombosit menurun sampai 20.000/mm³ dapat menyebabkan perdarahan otak yang berakibat fatal.

Pemberian transfusi trombosit untuk mengatasi perdarahan pada pasien dengan *trombositopenia* bila hitung trombosit kurang <50.000/uL, bila terdapat perdarahan *mikrovaskular difus* batasnya menjadi <100.000/uL, atau berapapun jumlah trombosit dengan perdarahan masif³⁴. Dosis pemberian TC 1 unit TC (*trombocyte concentrate*)/10 kg BB, anak dan neonatus 10-20 mL/kgBB/hari. Manfaat pemberian 1 unit TC pada pasien dengan berat badan 70 kg akan meningkatkan jumlah trombosit 5000/UI, peningkatan trombosit akan lebih rendah pada pasien dengan *splenomegali*, DIC, *septikemia*. Penilaian keberhasilan transfusi trombosit dinilai dari kenaikan jumlah trombosit *post transfusi*³⁵.

2.3.2. Pembuatan Trombosit Concentrate

Komponen trombosit dihasilkan dengan dua cara yaitu TC diperoleh dari *whole blood* dan trombosit yang diperoleh dari sistem *apheresis*³⁶.

1. *Trombocyte Concentrate* (TC) yang diperoleh dari *whole blood*

Didapat dari dua cara yaitu trombosit tunggal *Platelet Rich Plasma* (PRP) dan *Buffy Coat* (BC).

a. Pembuatan TC dari PRP

WB disimpan hingga 24 jam pada suhu 20°C hingga 24°C, disentrifugasi untuk mendapatkan sejumlah trombosit yang memadai didalam plasma (PRP). Trombosit disedimentasi melalui *sentrifugasi* cepat. Plasma dipindahkan dan ditinggalkan sekitar 50 hingga 70 ml. Trombosit didiamkan selama 1 jam, kemudian dimasukkan kedalam agitator dan inkubator sehingga tersuspensi kembali. FFP tidak boleh dibekukan ulang setelah *thawing*.

b. TC dari *buffy coat* (BC)

WB disimpan hingga 24 jam pada suhu 20°C hingga 24°C, disentrifugasi untuk mengendapkan trombosit kedalam lapisan *buffy coat* (BC). Selanjutnya disentrifugasi untuk mengendapkan sel darah merah dan leukosit. Trombosit dipindahkan bersama dengan plasma.

- 1) Jumlah trombosit per unit dari trombosit tunggal $>60 \times 10^9$
- 2) Jumlah leukosit per unit trombosit tunggal dari PRP $<0.2 \times 10^9$.

3) Jumlah leukosit per unit trombosit tunggal dari BC $<0.05 \times 10^9$.

2. Trombosit yang diperoleh dari Proses *Apheresis* (*Trombopheresis*)

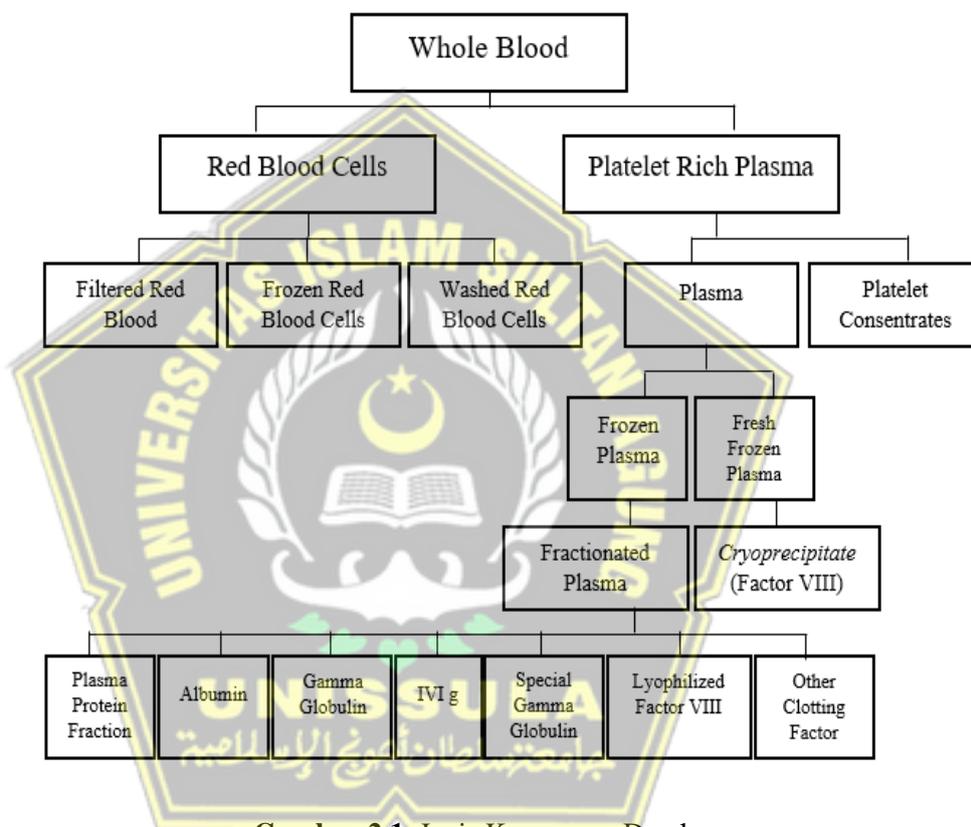
Didapat dari donor tunggal melalui proses *apheresis trombosit* peralatan pemisahan sel otomatis. WB yang diambil dengan mesin *apheresis* dari donor bercampur dengan antikoagulan dan disentrifugasi. Trombosit diekstraksi bersamaan dengan sejumlah plasma dimana trombosit akan tersuspensi. Sel darah merah kemudian akan dikembalikan ke tubuh donor. Adapun prosedur *apheresis* yaitu :

- a. Pengambilan darah donor.
- b. Pemisahan komponen berdasar berat jenis.
- c. Pengumpulan komponen yang diperlukan.
- d. Pengembalian darah yang tidak dibutuhkan ke tubuh donor.

2.3.3. Penyimpanan dan Transportasi

Suhu simpan TC 20°C sampai 24°C . Selama transportasi suhu penyimpanan dipertahankan 20°C sampai 24°C . Prinsip untuk penyimpanan trombosit baik TC maupun *thrombopheresis* adalah sama. Penyimpanan optimal trombosit harus dipertahankan pada kisaran suhu 20°C hingga 24°C dengan agitasi yang berfungsi menghindari agregasi antar trombosit. Mengurangi risiko kontaminasi bakteri penyimpanan trombosit dibatasi sampai 5 hari

dari pengambilan, sebab lingkungan suhu kamar dan plasma kaya nutrisi akan mendukung proliferasi bakteri. Selama proses penyimpanan trombosit rentan terhadap perubahan lingkungan yang dapat mempengaruhi kualitas dan dikenal sebagai *platelet storage lesions*.



Gambar 2.1. Jenis Komponen Darah

2.4. Pengaruh Lama Simpan Terhadap Kadar IL6 Dan CD62P Trombosit Concentrate .

Trombosit Concentrate (TC) adalah satu komponen darah yang penting peranannya dalam memperbaiki kondisi klinik pasien. TC sering diberikan pada penderita keganasan hematologi dan tumor padat lain. Agar TC yang dihasilkan dapat memberikan efek terapeutik yang diinginkan,

maka selama proses preparasi maupun selama penyimpanan, viabilitas TC harus dapat dipertahankan dengan baik. Viabilitas TC menunjukkan kemampuan trombosit yang telah ditransfusikan untuk dapat bersirkulasi tanpa mengalami penghancuran dini dalam tubuh resipien. Viabilitas TC ditentukan oleh faktor TC itu sendiri dan faktor resipien yang menerima TC.

Faktor TC adalah pH, suhu penyimpanan, volume plasma pada TC, lama penyimpanan, agitasi selama penyimpanan, akumulasi asam laktat pada TC, antikoagulan yang digunakan pada pengambilan WB, kantong darah yang digunakan dan metode preparasi TC yang akan diteliti. Sedangkan faktor dari resipien diantaranya yaitu umur resipien, jenis kelamin, splenektomi, adanya perdarahan, demam, infeksi, *disseminated intravascular coagulation* (DIC), adanya *lymphocytotoxic antibody*, resipien yang menerima terapi heparin atau amfoterisin dan peningkatan frekuensi transfusi trombosit³⁷.

Trombosit yang terdapat dalam TC mengalami berbagai perubahan selama pengumpulan, pemrosesan, dan penyimpanan TC, yang menimbulkan perubahan struktur dan fungsi trombosit dan dapat menurunkan efektivitas transfusi TC. Perubahan tersebut dikenal sebagai *platelet storage lesion*. Kerusakan trombosit selama penyimpanan ini menyebabkan hilangnya integritas fungsi trombosit, perubahan pada proses agregasi dan reaksi pelepasan granula trombosit, perubahan sitoskeleton dari trombosit, paparan *phosphatidyl serine* pada bagian luar permukaan membran trombosit dan *mikrovesikulasi*³⁸.

Penelitian-penelitian untuk mengatasi perubahan struktur dan fungsi trombosit yang terjadi selama penyimpanan telah banyak dilakukan, yang bertujuan untuk mempertahankan viabilitas trombosit *in vitro* dan *in vivo*. Salah satu usaha untuk mempertahankan viabilitas trombosit tersebut adalah dengan melakukan preparasi TC bertujuan untuk mengurangi leukosit residu yang terdapat pada TC. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa leukosit residu terutama monosit merupakan sumber utama sitokin proinflamasi pada TC dan adanya *sitokin proinflamasi* seperti *Interleukin-1 beta (IL-1 β)*, *Interleukin-6 (IL-6)*, *Interleukin-8 (IL-8)* dan *Tumor Necrosis Factor-alpha (TNF- α)* berperan dalam reaksi transfusi. Kerusakan trombosit selama preparasi dan penyimpanan juga diperkirakan disebabkan karena trombosit dapat melepaskan *platelet-specific cytokine*³⁹.

Kualitas trombosit dapat dilihat dari proporsi trombosit yang teraktivasi dan kerusakan trombosit ini dapat diketahui dengan melihat adanya aktivasi trombosit pada TC. Jumlah trombosit yang teraktivasi dapat diketahui dan diukur dari beberapa parameter, salah satunya dengan mengukur kadar CD62P pada TC. Kadar CD62P dinyatakan berkorelasi terbalik dengan peningkatan jumlah dan fungsi trombosit. Paparan CD62P pada permukaan trombosit selama penyimpanan TC memicu terjadinya pembersihan trombosit melalui CD62P, sehingga dikatakan bahwa CD62P dapat berperan sebagai marker aktivasi trombosit⁴⁰.

Kualitas TC dapat dipengaruhi oleh berbagai keadaan antara lain saat proses pengambilan, transportasi, pengolahan, penyimpanan dan kondisi

eksternal dari lingkungan. Faktor utama yang mempengaruhi kualitas TC pada kondisi *in vitro* adalah lama penyimpanan. Waktu penyimpanan diperkirakan akan menyebabkan perubahan beberapa kondisi sehingga akan mempengaruhi kualitas TC. Kualitas TC yang tidak baik akan meningkatkan resiko pasca transfusi seperti thrombosis. Trombosit memiliki masa hidup yang lebih singkat dari pada sel darah merah dan hanya bertahan hidup antara 8 – 10 hari secara *in vivo*. Sedangkan, secara *in vitro* masa hidup trombosit adalah tiga hari tanpa goyangan dan paling lama lima hari dengan alat agitator³⁵.

Secara *in vitro* proses koagulasi mempengaruhi aktivitas inflamasi, menghasilkan up-regulasi sitokin proinflamasi, untuk mengetahui hal tersebut dapat dilihat dari IL-6.

Tingkat IL-6 bervariasi selama prosedur penanganan sampel yang berbeda. Nilai dasar menunjukkan bahwa kadar nilai IL-6 dipengaruhi oleh jenis spesimen, sedangkan dalam plasma sedikit lebih tinggi daripada dalam serum. Ketika sampel disimpan pada suhu 4⁰C sebelum sentrifugasi, nilai plasma mengalami sedikit penurunan seiring waktu. Tetapi dalam kebanyakan kasus, itu tetap stabil. Namun demikian, jika spesimen tidak didinginkan, serum IL-6 meningkat seiring waktu⁴.

Transfusi TC adalah terapi tambahan yang menyelamatkan jiwa untuk mengontrol dan mencegah perdarahan pada pasien kanker, hematologis, bedah dan trauma. Ketersediaan TC dan keamanan dibatasi oleh perkembangan *platelet storage lesion* dan risiko kontaminasi bakteri.

Platelet storage lesion (PSL) adalah serangkaian biokimia, struktural dan fungsional perubahan yang terjadi dari pengumpulan darah ke transfusi.

Paparan saat proses pembuatan dan sentrifugasi yang tinggi selama proses pembuatan TC mempengaruhi terjadinya PSL yang disebabkan oleh aktivasi trombosit, fragmentasi dan pelepasan biokimia. Selama penyimpanan suhu kamar, peningkatan glikolisis dan berkurangnya fungsi mitokondria menyebabkan penipisan glukosa, akumulasi laktat dan pengasaman produk.

Gangguan generasi adenosin trifosfat mengurangi kapasitas trombosit untuk melakukan proses yang mengeluarkan energi seperti stres hipotonik dan aktivasi/agregasi. Perubahan yang diinduksi oleh penyimpanan pada permukaan trombosit protein seperti reseptor trombin dan glikoprotein menurunkan agregasi platelet. Selama penyimpanan, terjadi lisis leukosit dan akumulasi protein imunoaktif seperti sitokin (*tumor necrosis factor α* (TNF- α), *interleukin -1 α* , IL-6, IL-8) dan ligan CD40 larut (sCD40L) yang berperan dalam reaksi transfusi seperti *Transfusion Akut Lung Injury* (TRALI) dan reaksi transfusi non-hemolitik. Mikropartikel yang diinduksi penyimpanan telah dikaitkan dengan peningkatan agregasi trombosit dan modulasi sistem kekebalan tubuh.

Secara klinis, TC yang disimpan mempengaruhi penurunan jumlah trombosit. Transfusi TC segar dapat memaksimalkan fungsi trombosit secara *in vivo*. Berbagai perubahan kantong dan media penyimpanan telah diusulkan untuk mengurangi glikolisis dan aktivasi trombosit selama

penyimpanan suhu kamar. Selain itu, kriopreservasi dan penyimpanan dingin telah diusulkan sebagai metode potensial untuk memperpanjang umur simpan TC untuk mengurangi metabolisme trombosit dan proliferasi bakteri. PSL terjadi karena metabolisme trombosit secara in vitro, persiapan dan penyimpanan. Perubahan ini pada akhirnya menyebabkan gangguan pada aktivasi trombosit, agregasi, koagulasi dan fungsi imun.



BAB III

KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, DAN HIPOTESIS

3.1. Kerangka Teori

Thrombosit concentrate (TC) merupakan komponen darah yang terdiri dari trombosit, beberapa leukosit dan sel darah merah serta plasma. Komponen darah TC tetap terjaga fungsinya dengan memadai apabila disimpan selama 5 hari dan setelah itu dapat terjadi kehilangan viabilitas dan fungsi trombosit secara progresif selama penyimpanan trombosit. Waktu, suhu dan agitasi penyimpanan diperkirakan akan menyebabkan perubahan beberapa kondisi sehingga akan mempengaruhi kualitas TC. Sel trombosit bertahan hidup pada suhu 20°C–24°C dengan masa simpan pada agitator agar tidak terjadi penggumpalan sel trombosit pada plasma².

Kualitas TC dapat dipengaruhi oleh berbagai keadaan antara lain saat proses pengambilan, transportasi, pengolahan, penyimpanan dan kondisi eksternal dari lingkungan. Faktor utama yang mempengaruhi kualitas TC pada kondisi *in vitro* adalah lama penyimpanan. Waktu penyimpanan diperkirakan akan menyebabkan perubahan beberapa kondisi sehingga akan mempengaruhi kualitas TC. Paparan saat proses pembuatan dan sentrifugasi yang tinggi selama proses pembuatan TC mempengaruhi terjadinya PSL yang disebabkan oleh aktivasi trombosit, fragmentasi dan pelepasan biokimia.

Perubahan yang diinduksi oleh penyimpanan pada permukaan trombosit protein seperti reseptor trombin dan glikoprotein menurunkan

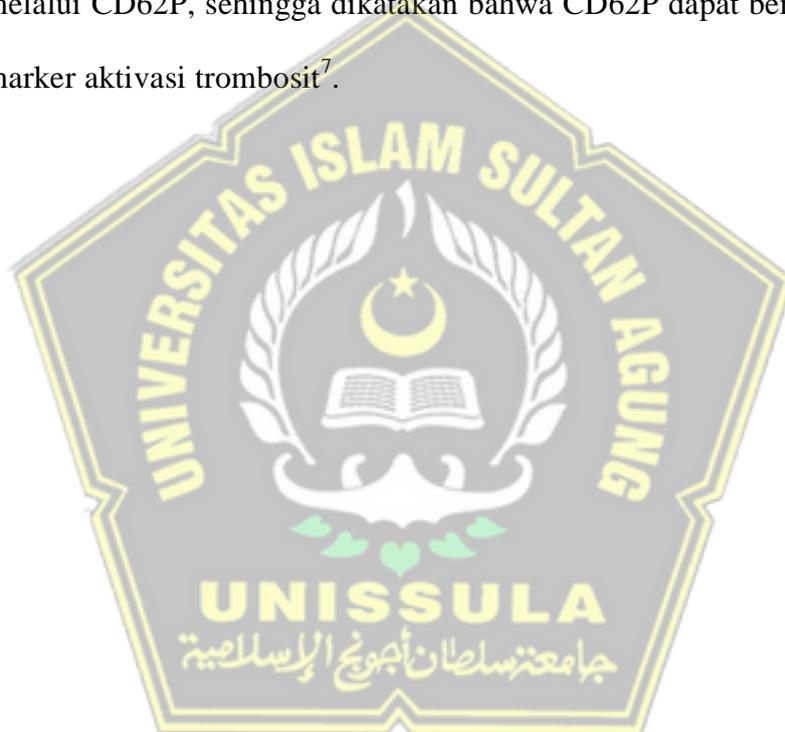
agregasi platelet. Selama penyimpanan, terjadi lisis leukosit dan akumulasi protein imunoaktif seperti sitokin (*tumor necrosis factor α* (TNF- α), *interleukin -1 α* , *Interleukin-6* (IL-6), *Interleukin-8* (IL-8) dan ligan CD40 larut (sCD40L) yang berperan dalam reaksi transfusi seperti *Transfusion Akut Lung Injury* (TRALI) dan reaksi transfusi non-hemolitik. Mikropartikel yang diinduksi penyimpanan telah dikaitkan dengan peningkatan agregasi trombosit dan modulasi sistem kekebalan tubuh.

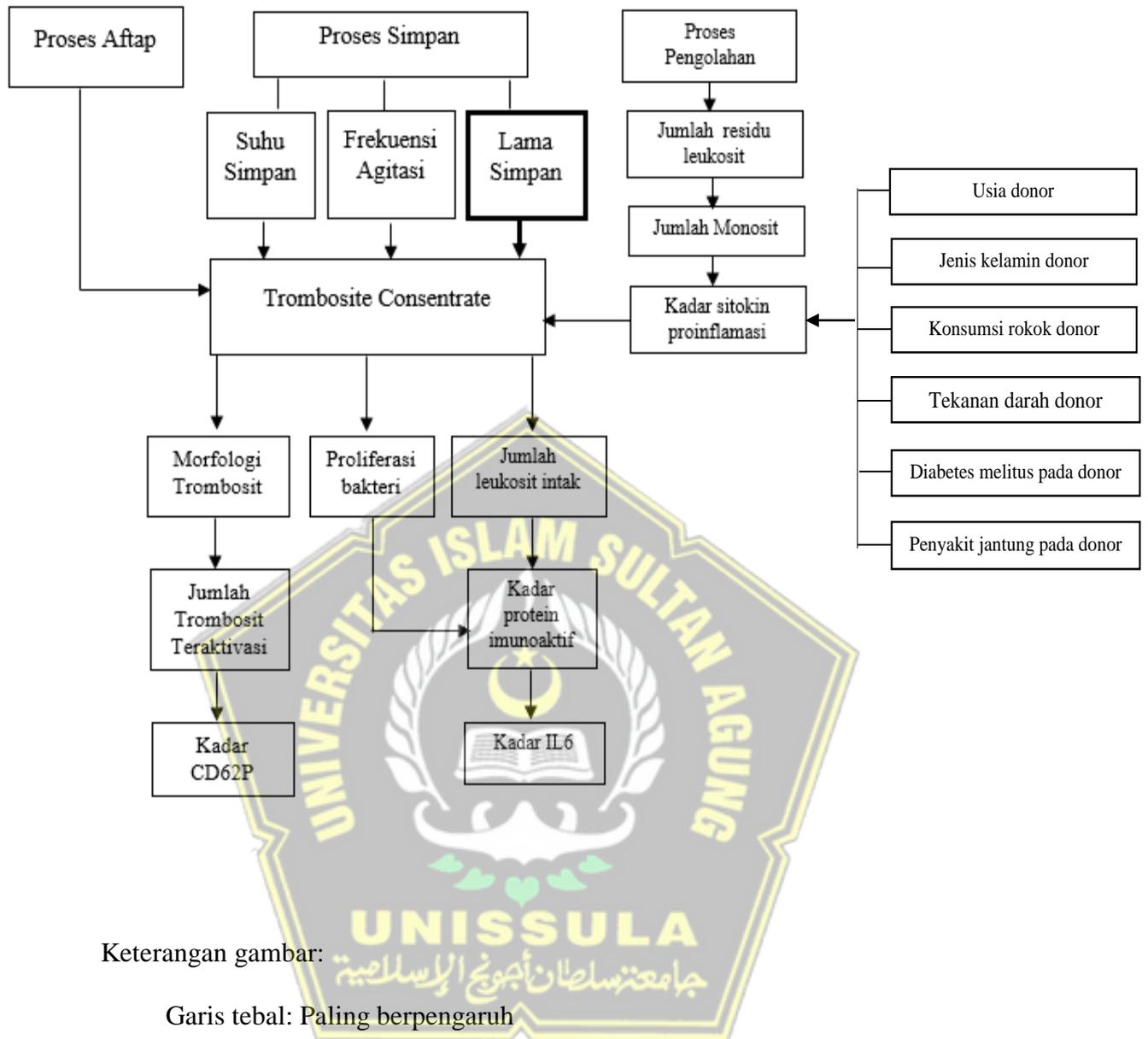
Interleukin 6 (IL-6) termasuk dalam salah satu kelompok sitokin proinflamasi sehingga sitokin ini berpeluang untuk dijadikan indikator menilai tingkat inflamasi yang dialami oleh sel endotel pembuluh darah. IL-6 berperan dalam peningkatan titer antibodi antitrombosit dan anti-endotel. Peningkatan titer antibodi antitrombosit ini berkaitan dengan kerusakan trombosit. Perubahan kualitas trombosit dapat berdampak pada viabilitas trombosit dan menurunnya fungsi hemostasis. Mekanisme yang menyebabkan terjadinya *platelet storage lesion* sangat multifaktorial dan belum dipahami dengan jelas.

Terdapat beberapa faktor yang dapat memengaruhi kadar IL-6 di dalam tubuh seseorang antara lain usia, jenis kelamin, perokok, diabetes melitus, hipertensi, dan penyakit jantung.

P-selektin (CD62P) bisa mendukung trombosit, interaksi trombosit, dan berperan penting dalam tahap awal peradangan, trombosis, dan aterosklerosis dengan memediasi pembentukan dan perkembangan plak. *P-selektin* CD62P dilepaskan pada permukaan trombosit yang teraktivasi

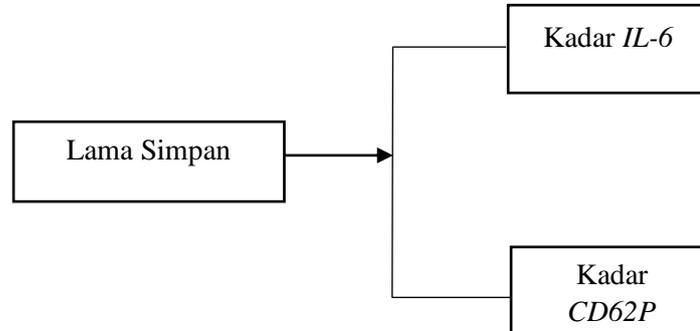
pada saat membran *α -granul internal* berintegrasi ke dalam membran sitoplasma dan berperan sebagai marker sekresi trombosit. *P-selektin* CD62P berfungsi sebagai reseptor pengikatan trombosit teraktivasi pada lekosit⁶. Kadar CD62P dinyatakan berkorelasi terbalik dengan peningkatan jumlah dan fungsi trombosit. Paparan CD62P pada permukaan trombosit selama penyimpanan TC memicu terjadinya pembersihan trombosit melalui CD62P, sehingga dikatakan bahwa CD62P dapat berperan sebagai marker aktivasi trombosit⁷.





Gambar 3.1. Kerangka Teori

3.2. Kerangka Konsep



Gambar 3.2. Kerangka Konsep

3.3. Hipotesis Penelitian

Lama simpan TC berpengaruh terhadap kadar IL6 dan kadar CD62P.

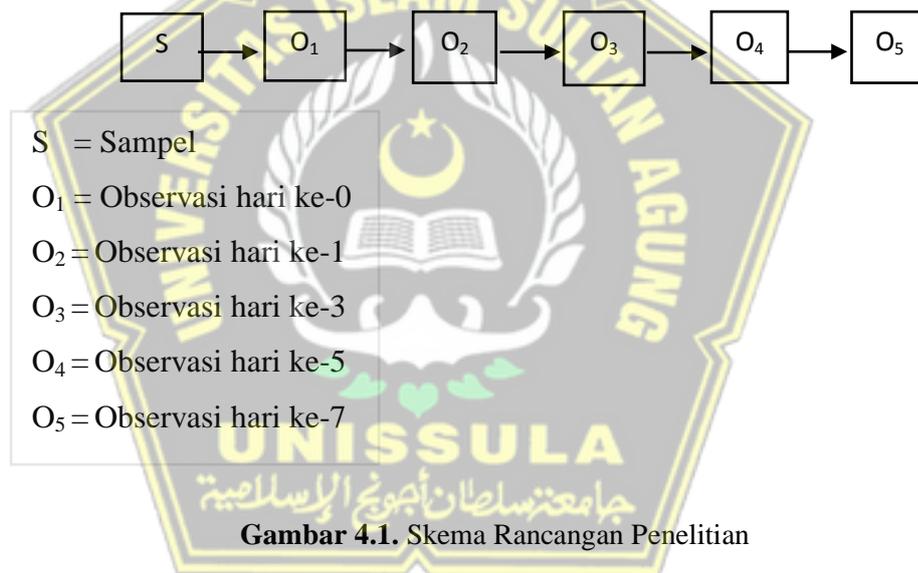


BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian *eksperimental*, dimana penelitian ini akan menganalisis bagaimana perubahan kadar IL6 dan kadar CD62P pada TC berdasarkan lama simpan di Unit Donor Darah PMI Kota Semarang. Rancangan penelitian ini terbagi atas kelompok hari ke-0, hari ke-1, hari ke-3, hari ke-5 dan hari ke-7 yang berasal dari lima kantong TC.



Keterangan gambar:

S = Sampel berupa TC yang berjumlah lima kantong dan diambil secara *purposive sampling*.

O₁ = Observasi kadar IL6 dan CD62P pada hari ke-0

O₂ = Observasi kadar IL6 dan CD62P pada hari ke-1

O₃ = Observasi kadar IL6 dan CD62P pada hari ke-3

O₄ = Observasi kadar IL6 dan CD62P pada hari ke-5

O₅ = Observasi kadar IL6 dan CD62P pada hari ke-7

4.2. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

4.2.1. Variabel Penelitian

4.2.1.1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah lama simpan.

4.2.1.2. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar IL6 dan kadar CD62P.

4.2.1.3. Variabel Pengganggu

Variabel pengganggu pada penelitian ini adalah proses pengolahan produk, suhu penyimpanan, lama simpan, agitasi dan karakteristik pendonor.

4.2.2. Definisi Operasional

4.2.2.1. Lama simpan

Lamanya TC disimpan dalam kondisi agitasi konstan pada suhu ruang ($20 - 24^{\circ}\text{C}$), yang dinyatakan dalam satuan hari, yang dihitung mulai dari setelah selesai diproduksi. Pada penelitian ini waktu simpan dikategorikan menjadi: waktu simpan hari ke-0, hari ke-1, hari ke-3, hari ke-5, hari ke-7

Skala: Ordinal

4.2.2.2. Kadar IL6

Kadar IL6 adalah banyaknya IL 6 dalam TC yang dinyatakan dalam satuan pikogram per mililiter (pg/mL) yang diukur dengan metode ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*) pada waktu simpan hari ke-0, hari ke-1, hari ke-3, hari ke-5, hari ke-7.

Skala: Numerik

4.2.2.3. Kadar CD62P

Kadar CD62P adalah banyaknya P- selectin (CD62P) dalam Trombosit yang terdapat pada TC dinyatakan dalam satuan persen (%) diukur dengan metode *flow cytometry* pada waktu simpan hari ke-0, hari ke-1, hari ke-3, hari ke-5, hari ke-7.

Skala: Numerik

4.3. Populasi dan Sampel Penelitian

4.3.1. Populasi Penelitian

Populasi pada penelitian ini adalah 5 kantong TC yang diproduksi dan disimpan di Unit Donor Darah PMI Kota Semarang.

4.3.2. Sampel Penelitian

Sampel pada penelitian ini adalah TC yang diproduksi di Unit Donor Darah PMI Kota Semarang pada tanggal 8 Juni 2023.

4.3.3. Besar Sampel

Penentuan besar sampel pada penelitian ini menggunakan teknik *purposive sampling* dimana pengambilan sampel didasarkan pada suatu pertimbangan tertentu yang dibuat oleh peneliti sendiri.

Permenkes No 91 Tahun 2015 menyebutkan bahwa pengawasan mutu (*quality control*) produk darah dilakukan pada 1% total produk darah. UDD PMI Kota Semarang memproduksi darah kurang lebih sebanyak 500 produk darah perhari. Sehingga sampel yang diambil pada penelitian ini adalah 5 kantong TC.

Adapun kriteria TC yang digunakan sebagai berikut:

1. TC siap pakai

Kriteria TC siap pakai adalah:

- a. TC dengan hasil pemeriksaan HIV, Hepatitis B, Hepatitis C, dan Sifilis negatif menggunakan metode CLIA.
- b. TC tanpa hemolisis.
- c. TC lulus uji Quality Control

2. TC yang dipreparasi pada tanggal 8 Juni 2023

4.4. Alat dan Bahan

4.4.1. Alat

Adapun alat-alat penelitian yang digunakan untuk penelitian ini adalah:

- a. Incubator platelet
- b. Agitator platelet

- c. Mikropipet 1000 uL
- d. Microtube
- e. Alat ELISA
- f. Alat *Flowcytometer*

4.4.2. Bahan

- a. TC
- b. KIT ELISA IL6
- c. KIT *flowcytometri* CD62P

4.5. Cara Penelitian

4.5.1. Perolehan *Ethical Clearance*

Penelitian yang akan dilakukan diajukan kepada komisi etik Fakultas Kedokteran Unissula Semarang untuk mendapat persetujuan etik.

4.5.2. Cara Pengambilan Sampel

TC diambil sebanyak 5 kantong pada hari saat TC selesai diproduksi dan selesai dilakukan pemeriksaan pengujian. TC yang sudah didapatkan disimpan dalam inkubator platelet pada suhu 22⁰C-24⁰C dan dengan agitasi 60 kali permenit yang bertujuan agar campuran TC homogen dan tidak terjadi agregasi trombosit. Agitator platelet ditempatkan pada inkubator platelet dan berada di ruang berpendingin udara dilengkapi termometer sebagai alat monitor suhu dan suhu pada inkubator platelet diatur tetap pada 22⁰C-24⁰C, kemudian sampel diambil dengan cara:

1. Sampel pada selang kantong TC dibuat homogen terhadap keseluruhan suspensi TC yang ada didalam kantong TC
2. Selang pada kantong TC *diseal* untuk memisahkan sampel pada selang dengan keseluruhan suspensi pada kantong TC, lalu potong pada sambungan selang yang di *seal* untuk mendapatkan sampel TC dalam selang
3. Pada saat akan diperiksa pindahkan sampel TC dari selang kedalam *microtube*.
4. Sampel TC pada *microtube* digunakan untuk pemeriksaan kadar IL6 dan CD62P.

4.5.3. Cara Pemeriksaan

4.5.3.1. Pemeriksaan Kadar IL6

Prosedur untuk menentukan kadar IL6 adalah sebagai berikut:

1. Sampel diambil dari kantong TC kemudian diletakkan pada *microtube*
2. Sampel TC pada *microtube* diambil menggunakan *micropipet*
3. Letakkan sampel pada *microwell* sebanyak 75 ul menggunakan *micropipet*
4. Dilakukan analisis menggunakan metode ELISA.

4.5.3.2. Pemeriksaan Kadar CD62P

Prosedur untuk menentukan kadar CD62P adalah sebagai berikut:

1. Sampel yang telah diambil dari selang kantong TC ditampung ke dalam *microtube*.
2. Ambil 18 ul sampel dari *microtube*, 5 ul anti-CD62P PE, atau kontrol anti-IgG PE lalu diinkubasi selama 20 menit pada suhu kamar dan ruang gelap.
3. Sampel TC yang telah terlabel segera dilakukan fiksasi menggunakan 1 mL 1% (w/v) *paraformaldehid* pada suhu kamar 30 menit.
4. Untuk analisis *flowcytometry*, 5.000 sel trombosit dianalisis menggunakan *software cellquest*.

Alat *flowcytometer* yang dipergunakan dioptimasi untuk akusisi trombosit dengan amplifikasi sinyal logaritmik dalam *forward* dan *side scatter* adalah 200.

Untuk analisis *gates* dibuat pada area trombosit yang telah ditentukan sebelumnya dengan penambahan anti -CD41. Data dipresentasikan sebagai persentase trombosit yang positif mengekspresikan CD62P.

4.6. Tempat dan Waktu

4.6.1. Tempat

1. UDD PMI Kota Semarang
2. Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat, dan Keperawatan Universitas Gadjah Mada (FK-KMK UGM), Yogyakarta.
3. FK UNISSULA Semarang

4.6.2. Waktu

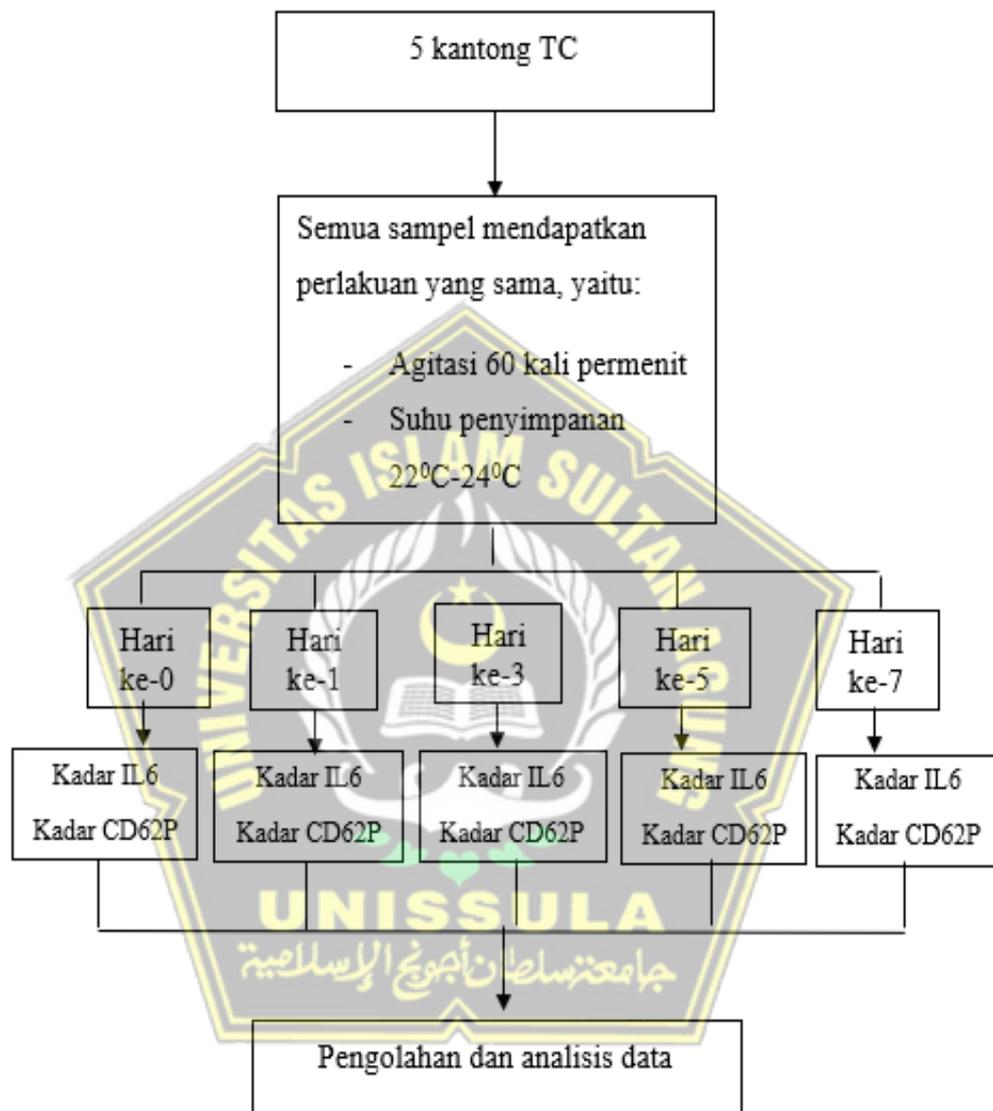
Penelitian ini dilakukan pada tanggal 8 Juni 2023 sampai 15 juni 2023

4.7. Analisa Hasil

Data yang diperoleh pada pemeriksaan kadar IL-6 dianalisis menggunakan uji deskriptif, normalitas, dan homogenitas. Data normal dan homogen ($P>0,05$), uji beda menggunakan *repeated anova* dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc* LSD untuk menunjukkan adanya perbedaan antar kelompok ($P<0,05$).

Pada CD62P data dianalisis menggunakan uji deskriptif, normalitas, dan homogenitas. Hasil analisis normalitas sebaran data tidak normal dan uji homogenitas didapatkan hasil $P>0,05$ yang berarti homogen, kemudian dilakukan uji beda menggunakan uji *friedman* dan dilanjutkan dengan uji *wilcoxon* untuk menunjukkan adanya perbedaan antar kelompok ($P<0,05$).

4.8 Alur Penelitian



Gambar 4.2. Alur Penelitian

BAB V

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

5.1. Hasil Penelitian

Penelitian ini telah dilakukan selama 7 hari pada tanggal 8-15 Juni 2023 yang menggunakan sampel 5 kantong TC. Penelitian dilakukan di Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Kesehatan Masyarakat dan Keperawatan Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

Masing-masing kantong TC berasal dari pedonor berjenis kelamin laki-laki dengan rentang usia 24-30 tahun. Masing-masing pedonor tidak ada riwayat penyakit penyerta seperti diabetes melitus, hipertensi, penyakit jantung dan tidak ada riwayat merokok. Masing-masing sampel TC diperiksa kadar IL6 dan CD62P pada hari ke-0, hari ke-1, hari ke-3, hari ke-5, dan hari ke-7. Selama penelitian semua kantong TC diberikan perlakuan yang sama yaitu penyimpanan pada inkubator platelet dengan suhu 22⁰C-24⁰C dan agitasi 60 kali permenit. Hasil penelitian ini dilakukan dengan pembacaan hasil kadar IL-6 dan CD62P dan didapatkan hasil sebagai berikut:

5.1.1. Kadar IL-6

Analisis kadar IL-6 yang dilakukan meliputi analisis deskriptif dengan menyajikan nilai rerata serta standar deviasi (SD), analisis normalitas sebaran data dengan uji *Shapiro Wilk*, analisis homogenitas varian dengan uji *Mauchly's test of spericity* dan

analisis hasil rerata kadar IL-6 menggunakan uji *repeated anova test*.

Tabel 5.1. Rerata kadar IL-6 berdasar lama simpan beserta hasil uji normalitas, homogenitas dan uji beda

Kadar IL-6 (pg/mL)	Lama simpan (hari)					p-value
	0	1	3	5	7	
Rerata±SD	4,34±0,81	5,78±0,47	5,36±0,65	7,59±0,77	10,71±1,62	
<i>Shapiro Wilk*</i>	0,964	0,485	0,258	0,251	0,365	
<i>Mauchly's test of spericity</i>						0,302
<i>Repeated anova</i>						<0,001

Keterangan: * = p-value

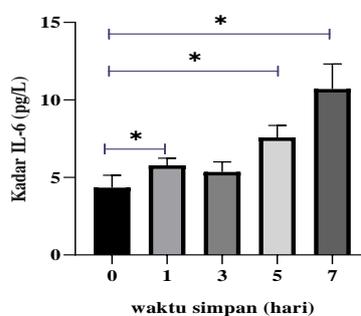
Hasil penelitian mendapatkan bahwa kadar IL-6 tertinggi pada lama simpan 7 hari yaitu sebesar $10,71 \pm 1,62$ pg/mL dan kadar IL-6 terendah pada TC hari ke-0 dengan kadar sebesar $4,34 \pm 0,81$ pg/mL. Pada uji *Shapiro Wilk* terhadap kadar IL-6 pada kelima waktu pemeriksaan mendapatkan nilai $p > 0,05$, yang berarti data kadar IL-6 normal. Kadar IL-6 pada kelima pengukuran juga homogen, ditunjukkan dari *Mauchly's test of spericity* mendapatkan nilai $p > 0,05$. Syarat sebaran data normal dan homogenitas varian terpenuhi sehingga perbandingan rerata kadar IL-6 antar kelima kali pengukuran dianalisis dengan uji *repeated anova* dan didapatkan nilai $p < 0,001$ sehingga dinyatakan terdapat perbedaan rerata kadar IL-6 yang signifikan antara lama simpan TC hari ke-0, hari ke-1, hari ke-3, hari ke-5, dan hari ke-7.

Perbedaan rerata kadar IL-6 yang signifikan dalam lima ulangan pengukuran dianalisis lebih lanjut dengan uji post hoc LSD dan diperoleh hasil sebagaimana ditunjukkan Tabel 5.2.

Tabel 5.2. Hasil analisis perbandingan rerata kadar IL-6 antar dua waktu lama simpan

Lama simpan	H0	H1	H3	H5	H7
H0	-	0,001*	0,089	0,002*	0,002*
H1	0,001*	-	0,277	0,012*	0,004*
H3	0,089	0,277	-	0,021*	0,002*
H5	0,002*	0,012*	0,021*	-	0,008*
H7	0,002*	0,004*	0,002*	0,008*	-

Perbandingan rerata kadar IL-6 antar dua waktu lama simpan hampir semuanya signifikan, ditunjukkan dengan nilai p dari uji *post hoc LSD* masing-masing $p < 0,05$; kecuali pada perbandingan antara lama simpan hari ke-0 dan hari ke-1 dengan lama simpan hari ke-3 yang ditunjukkan dengan nilai p masing-masing sebesar 0,089 dan 0,277 ($p > 0,05$). Hasil uji *post hoc LSD* ini menunjukkan bahwa lama simpan berpengaruh signifikan terhadap kadar IL-6. Pengaruh yang ditunjukkan yaitu meningkatkan kadar IL-6. Lama simpan yang berpengaruh terhadap peningkatan kadar IL-6 adalah lama simpan selama 1, 5 dan 7 hari. Lama simpan 7 hari menghasilkan peningkatan kadar IL-6 paling tinggi dibandingkan lama simpan 1 dan 5 hari. Sedangkan lama simpan selama 3 hari tidak berpengaruh pada kadar IL-6



Gambar 5.1. Grafik perbandingan rerata kadar IL-6 antar lama simpan * $p < 0,05$

5.1.2. Kadar CD62P

Analisis kadar CD62P yang dilakukan meliputi analisis deskriptif dengan menyajikan nilai rerata serta standar deviasi (SD), analisis normalitas sebaran data dengan uji *Shapiro Wilk*, analisis homogenitas varian dengan uji *Mauchly's test of spericity* dan analisis hasil rerata kadar CD62P menggunakan uji *Friedman*

Tabel 5.3. Rerata kadar CD62P berdasar lama simpan beserta hasil uji normalitas, homogenitas dan uji beda

Kadar CD62P (%)	Lama simpan (hari)					p-value
	0	1	3	5	7	
Rerata±SD	13,54±9,48	10,06±6,50	20,92±8,50	40,02±9,09	70,84±4,76	
<i>Shapiro Wilk</i> *	0,408	0,811	0,041	0,385	0,279	
<i>Mauchly's test of spericity</i>						0,842
<i>Friedman test</i>						0,001

Keterangan: * = p-value

Hasil penelitian mendapatkan bahwa kadar CD62P tertinggi pada lama simpan 7 hari yaitu sebesar $70,84 \pm 4,76\%$; sedangkan terendah pada lama simpan 1 hari dengan kadar $10,06 \pm 6,50\%$. Pada uji *Shapiro Wilk* terhadap kadar CD62P pada kelima waktu pemeriksaan mendapatkan nilai $p > 0,05$ yang berarti data kadar IL-6 normal, kecuali pada pengukuran di hari ke-3 yang mendapatkan nilai p sebesar 0,041 ($p < 0,05$) yang berarti bahwa kadar CD62P hari ke-3 tidak normal. Kadar CD62P pada kelima ulangan pengukuran didapatkan homogen, ditunjukkan dengan nilai p dari *Mauchly's test of spericity* sebesar 0,842 atau $p > 0,05$.

Upaya transformasi data kadar CD62P pengukuran hari ke-3 sudah dilakukan namun distribusi data yang didapat tetap tidak normal karena mendapatkan nilai p sebesar 0,034 ($p < 0,05$). Syarat

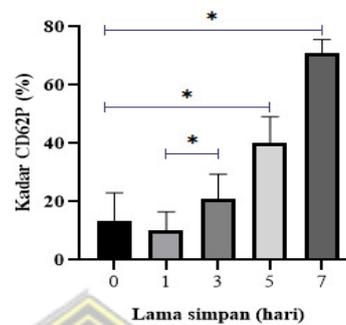
sebaran data normal pada tiap kelompok tidak semuanya terpenuhi sehingga perbandingan rerata kadar CD62P antar kelima ulangan pengukuran dianalisis dengan uji *Friedman* dan didapatkan nilai $p=0,001$ dinyatakan terdapat perbedaan rerata kadar CD62P yang signifikan antara lama simpan TC hari ke-0, hari ke-1, hari ke-3, hari ke-5, dan hari ke-7. Perbedaan rerata kadar CD62P yang signifikan dalam lima ulangan pengukuran dianalisis lebih lanjut dengan uji *Wilcoxon* dan didapatkan hasil sebagaimana tersaji pada Tabel 5.4.

Tabel 5.4. Hasil analisis perbandingan rerata kadar CD62P antar dua waktu lama simpan

Lama simpan	H0	H1	H3	H5	H7
H0	-	0,080	0,225	0,043*	0,043*
H1	0,080	-	0,043*	0,043*	0,043*
H3	0,225	0,043*	-	0,043*	0,043*
H5	0,043*	0,043*	0,043*	-	0,043*
H7	0,043*	0,043*	0,043*	0,043*	-

Perbandingan rerata kadar CD62P antar dua waktu lama simpan hampir semuanya signifikan, ditunjukkan dengan nilai p dari uji *Wilcoxon* dengan nilai $p < 0,05$, kecuali pada perbandingan antara lama simpan hari ke-0 dengan hari ke-1 dan hari ke-3 yang ditunjukkan dengan nilai $p > 0,05$. Hasil uji *Wilcoxon* ini menunjukkan bahwa lama simpan berpengaruh signifikan terhadap kadar CD62P. Pengaruh yang ditunjukkan yaitu meningkatkan kadar CD62P. Lama simpan yang berpengaruh terhadap peningkatan kadar CD62P adalah lama simpan hari ke-5 dan hari ke-7. Lama simpan hari ke-7 menghasilkan peningkatan kadar CD62P lebih tinggi

daripada lama simpan hari ke-5. Sedangkan lama simpan hari ke-1 dan hari ke-3 tidak berpengaruh pada kadar CD62P.



Gambar 5.2. Grafik perbandingan rerata kadar CD62P antar lama simpan *
 $p < 0,05$

5.2. Pembahasan

Hasil pemeriksaan kadar IL-6 pada lama simpan hari ke-0 dengan hari ke-1, hari ke-0 dengan hari ke-5, dan hari ke-0 dengan hari ke-7 terdapat perbedaan bermakna sedangkan pada hari ke-0 dengan hari ke-3 dan ke-1 dengan hari ke-3 tidak terdapat perbedaan bermakna. Hasil pemeriksaan kadar CD62P pada lama simpan hari ke-0 dengan hari ke-5, dan hari ke-0 dengan hari ke-7 terdapat perbedaan bermakna sedangkan pada hari ke-0 dengan hari ke-1 dan hari ke-0 dengan hari ke-3 tidak terdapat perbedaan bermakna.

Pada penelitian ini kadar IL-6 pada TC hari ke-1 meningkat signifikan namun pada hari ke-3 meningkat tidak signifikan saat dibandingkan dengan hari ke-0. Pada hari ke-3 penyimpanan monosit sebagai kandungan utama populasi leukosit pada TC belum teraktivasi penuh sehingga kemampuannya dalam mensekresi sitokin diantaranya IL-6 masih rendah. Kemampuan monosit mensekresi sitokin pada hari ke-3 penyimpanan turun

25%-50% dari konsentrasi awalnya hingga menginjak pada hari ke-5 penyimpanan³⁹.

Kadar CD62P relatif menurun pada hari ke-1 kemungkinan karena sebagian besar trombosit telah teraktivasi dan kemudian akan kehilangan CD62P pada permukaannya namun akan menuju pada bentuk larut CD62P pada plasma. Beberapa penelitian menyarankan pengukuran kadar *soluble P-selectin* sebagai petanda aktivasi trombosit untuk mendeteksi trombosit yang telah mengalami degranulasi, meskipun peningkatan konsentrasi pada plasma dapat pula akibat pelepasan CD62P dari kerusakan sel endotel⁶.

Leukosit residu terutama monosit merupakan sumber utama sitokin proinflamasi pada konsentrat trombosit dan adanya *sitokin proinflamasi* seperti *Interleukin-1 beta (IL-1 β)*, *Interleukin-6 (IL-6)*, *Interleukin-8 (IL-8)* dan *Tumor Necrosis Factor-alpha (TNF- α)* berperan dalam reaksi transfusi. Kerusakan trombosit selama preparasi dan penyimpanan juga diperkirakan disebabkan karena trombosit dapat melepaskan *platelet-specific cytokine*³⁹.

Trombosit yang terdapat dalam TC mengalami berbagai perubahan selama pengumpulan, pemrosesan, dan penyimpanan TC, yang menimbulkan perubahan struktur dan fungsi trombosit dan dapat menurunkan efektivitas transfusi TC. Perubahan tersebut dikenal sebagai *platelet storage lesion*. Kerusakan trombosit selama penyimpanan ini menyebabkan hilangnya integritas fungsi trombosit, perubahan pada proses agregasi dan reaksi pelepasan granula trombosit, perubahan sitoskeleton dari

trombosit, paparan *phosphatidyl serine* pada bagian luar permukaan membran trombosit dan *mikrovesikulasi*³⁸.

Lama simpan TC menyebabkan peningkatan aktivasi trombosit akibat kondisi yang berbeda dari lingkungan aktivasi *in vivo*, juga dipengaruhi oleh apoptosis trombosit secara *in vitro*, atau akibat proses kematian sel lainnya serta penuaan. Trombosit tua biasanya dibersihkan dari sirkulasi oleh limpa dan hati, tetapi trombosit tua dalam konsentrat yang disimpan tetap ada dan dapat mengubah keadaan aktivasi sisa trombosit melalui pelepasan mediator terlarut dan interaksi sel ke sel.³⁵

Trombosit diketahui aktif secara progresif selama waktu simpan dan melepaskan mediator proinflamasi ke dalam supernatan unit penyimpanan. Mediator tersebut juga dapat berinteraksi dengan sel lain di dalam produk yang disimpan, dan dapat menyebabkan reaksi inflamasi saat transfusi. Peningkatan kadar IL-6 pada TC terjadi karena adanya interaksi sel terlarut CD40L yang terikat pada membran untuk merangsang sel pengekspres CD40 *in vitro*. Pensinyalan CD40L trombosit kemudian menstimuli produksi fibroblast dari prostaglandin E2 dan IL-6.³⁵ Peningkatan IL-6 TC terkait lama simpan terjadi karena pelepasan (*lisis*) leukosit yang berikutnya terakumulasi dalam plasma TC selama penyimpanan.³⁶

Lama simpan juga mempengaruhi kadar CD62P. Penelitian serupa juga ditunjukkan oleh *Tong et al.* yang menyatakan bahwa konsentrasi CD62P dalam aferesis TC meningkat selama waktu simpan.³⁷ Hasil serupa juga ditunjukkan oleh *Sperling et al.* bahwa CD62P meningkat selama

penyimpanan *buffy-coat-derived platelet concentrates* (BCP) dan aferesis trombosit. Peningkatan CD62P terjadi karena degranulasi α -granul trombosit.³⁸

Kualitas trombosit dapat dilihat dari proporsi trombosit yang teraktivasi dan kerusakan trombosit ini dapat diketahui dengan melihat adanya aktivasi trombosit pada TC. Jumlah trombosit yang teraktivasi dapat diketahui dan diukur dari beberapa parameter, salah satunya dengan mengukur kadar CD62P pada TC. Kadar CD62P dinyatakan berkorelasi terbalik dengan peningkatan jumlah dan fungsi trombosit. Paparan CD62P pada permukaan trombosit selama penyimpanan TC memicu terjadinya pembersihan trombosit melalui CD62P, sehingga dikatakan bahwa CD62P dapat berperan sebagai marker aktivasi trombosit⁴⁰. Penelitian ini sejalan dengan penelitian *Samad et al.*, yang menyebutkan bahwa penyimpanan TC selama tujuh hari tidak dapat mempertahankan stabilitas jumlah trombosit dan disarankan untuk diteliti lebih lanjut.

5.3. Keterbatasan Penelitian

Pada penelitian ini terdapat keterbatasan yaitu :

1. Tidak dilakukan pemeriksaan hitung jumlah trombosit sebelum dilakukan pengukuran kadar CD62P, dimana kadar CD62P dipengaruhi oleh banyaknya trombosit yang teraktivasi yang dapat diukur dengan hematologi analyzer.
2. Tidak dilakukan pemeriksaan hitung jumlah leukosit sebelum dilakukan pengukuran kadar IL-6, dimana kadar IL-6 dipengaruhi oleh jumlah

leukosit yang rusak yang terukur dengan adanya penurunan jumlah leukosit yang dapat diukur dengan hematologi analyzer.



BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

- 6.1.1. Kadar terendah IL-6 dan CD62P pada TC terdapat pada hari ke-0
- 6.1.2. Kadar tertinggi IL-6 dan CD62P pada TC terdapat pada hari ke-7
- 6.1.3. Analisis perbedaan kadar IL-6 dan CD62P antara penyimpanan TC hari ke-0, hari ke-1, hari ke-3, hari ke-5, dan hari ke-7 mendapatkan hasil signifikan kecuali pada hari ke-3. Pengaruh yang ditunjukkan yaitu meningkatnya kadar IL-6 dan CD62P .

6.2. Saran

- 6.2.1. Perlu dilakukan hitung jumlah trombosit sebelum dilakukan pemeriksaan kadar IL-6 dan CD62P
- 6.2.2. Perlu dilakukan hitung jumlah leukosit sebelum dilakukan pemeriksaan kadar IL-6 dan CD62P

DAFTAR PUSTAKA

1. Armenia D, Tambunan BA. Evaluation of storage length to blood component platelet concentrate quality in the blood bank, Dr. Soetomo General Hospital, Surabaya, Indonesia. *Indian J Forensic Med Toxicol.* 2020;14(4):908–13.
2. Aubron C, Flint AWJ, Ozier Y, McQuilten Z. Platelet storage duration and its clinical and transfusion outcomes: A systematic review. *Crit Care.* 2018;22(1):1–13.
3. Gong Y, Liang S, Zeng L, Ni Y, Zhou S, Yuan X. Effects of blood sample handling procedures on measurable interleukin 6 in plasma and serum. *J Clin Lab Anal.* 2019;33(7):1–7.
4. Anggini R, Sepvianti W, Wulandari M. Gambaran Jumlah Trombosit pada Sediaan Darah Thrombocyte Concentrate (TC) Selama Masa Simpah 5 Hari. *Conf Res Community Serv.* 2017;480–4.
5. Mentari D, Pebrina R, Nurpratami D. Pengaruh Waktu Simpan Terhadap Perubahan Ph, Kadar Glukosa, Laktat Dehidrogenase(LDH), Kalsium, Mean Platelet Volume (MVP) Sebagai Indikator Kualitas Thrombocyte Concentrate. *Biomedika.* 2020;12(1):7–15.
6. Herawati, Sudewa-Djelantik, Yasa S, Suega. Efek Prestorage Leukoreduced Filtration (Plf) Terhadap Kadar Cd62p Pada Konsentrat Trombosit. *Univ Udayana.* 2020;1–6.
7. Lestariyani N, Herawati S. Perbedaan Jumlah Trombosit Konsentrat Trombosit Pada Penyimpanan Hari I, Iii, V Di Unit Donor Darah Pmi Provinsi Bali/Rsup Sanglah Denpasar. *E-Jurnal Med Udayana.* 2017;6(3):1–4.
8. Samad R, Abdullah Aa, A.P. K, Arif M. Waktu Penyimpanan Trombosit Terkait Jumlah Di Konsentrat TrombosIT. *Indones J Clin Pathol Med Lab.* 2016;20(3):224.
9. Ali. Platelet Activation in Stored Platelet Concentrates: Comparison of Two Methods Preparation. *J Hematol.* 2012;1(1):15–9.

10. Yuniarti E. Pengaruh Latihan Submaksimal Terhadap Kadar Interleukin-6 Pada Siswa Pusat Pendidikan Latihan Pelajar Sumatera Barat. *J Sainstek*. 2014;6(2):189–92.
11. Susantiningsih T, Mustofa S. Ekspresi IL-6 dan TNF- α Pada Obesitas IL-6 and TNF- α Expression in Obesity. *JK Unila*. 2018;2(2):174–80.
12. Setiawan D, Indra MR. Pengaruh Leptin terhadap Kadar Interleukin 6 Serum Tikus yang Diberi Pakan Tinggi Lemak. *Mutiara Med*. 2014;14(1):85–92.
13. Pawluk H, Woźniak A, Grzešk G, Kołodziejska R, Kozakiewicz M, Kopkowska E, *et al*. The role of selected pro-inflammatory cytokines in pathogenesis of ischemic stroke. *Clin Interv Aging*. 2020;15:469–84.
14. Semaradana WGP, Suka Aryana IGP, Tuty Kuswardhani R, Astika IN, Putrawan IB, Rai Purnami NK. Kadar interleukin 6 serum sebagai prediktor luaran rawat inap pada lanjut usia di desa Pedawa Buleleng Bali. *J Penyakit Dalam Udayana*. 2018;2(1):10–4.
15. Tania A, Simamora D, Dyah Parmasari W, Rahmawati F, Biomedik B, Biomolekuler P, *et al*. Kadar Interleukin 6 (IL-6) Sebagai Indikator Progresivitas Penyakit Reumatoid Arthritis (Ra). *Ilm Kedokt*. 2014;3:40–7.
16. Whitham JC, Bryant JL, Miller LJ. Beyond glucocorticoids: Integrating dehydroepiandrosterone (DHEA) into animal welfare research. *Animals*. 2020;10(8):1–25.
17. Masfufatun M, Tania POA, Raharjo LH, Baktir A. Kadar IL-6 dan IL-10 Serum pada Tahapan Inflamasi di Rattus norvegicus yang terinfeksi *Candida albicans*. *J Kedokt Brawijaya*. 2018;30(1):19–23.
18. Fauzan DR, Irawati NAV, Fadli MY. Hipertensi Dan Inflamasi: Sebuah Perspektif Ke Depan Untuk Target Terapi Baru. *JK Unila*. 2020;4(2):135–46.
19. Qu D, Liu J, Lau CW, Huang Y. IL-6 in diabetes and cardiovascular complications. *Br J Pharmacol*. 2014;171(15):3595–603.
20. Fatiah, R GA, P KA. Perbedaan Kadar Interleukin 6 pada Pasien dengan dan tanpa stenosis koroner signifikan. *Maj Kedokt Nusant*.

- 2017;50(2):70–4.
21. Arif M, Ferry Fernanda H, Sa'adi A, Sudjarwo. Verifikasi Linieritas Kurva Baku Testosteron Menggunakan Metode Elisa (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay). *J Res Technol.* 2019;5(1):50–6.
 22. Amalia L. Peran Platelet-Selectin sebagai Marker Agregasi Trombosit pada Trombosis Sinus Venosus Serebral. *J Neuroanestesi Indones.* 2022;11(3):206–15.
 23. Slichter SJ, Fitzpatrick L, Osborne B, Christoffel T, Gettinger I, Pellham E, *et al.* Platelets stored in whole blood at 4°C: in vivo posttransfusion platelet recoveries and survivals and in vitro hemostatic function. *Transfusion.* 2019;59(6):2084–92.
 24. Ghartimagar D. Rational Clinical Use of Blood and Blood products – A summary. *J Pathol Nepal.* 2017;7(1):1111–7.
 25. Umar I, Sujud RW. Hemostasis dan Disseminated Intravascular Coagulation (DIC). *J Anaesth Pain.* 2020;1(2):53–66.
 26. Squires JE. Indications for platelet transfusion in patients with thrombocytopenia. *Blood Transfus.* 2015;13(2):221–6.
 27. Wahidiyat PA, Adnani NB. Transfusi Rasional pada Anak. *Sari Pediatr.* 2017;18(4):325.
 28. Nindhita LR, Widyaningrum D. Perbandingan Nilai Corrected Count Increment pasca transfusi Thrombocyte Concentratedengan Thrombocyte Apheresispada penderita Keganasan Hematologi. *Medica Hosp J Clin Med.* 2019;6(1):24–9.
 29. Amalia Y, Samsulhadi W, Darmawati D. Perbedaan Jumlah Trombosit Pada Produk Trombosit Konsentrat (TC) Yang Berasal Dari Kantong Darah 350 ml Dan 450 ml di UTD PMI Kota Surabaya Tahun 2019. *J Anal Med Biosains.* 2022;9(1):09.
 30. Rafika, Amelia D, Naim N, Hasan ZA. Perbandingan Kualitas Trombocyte Concentrate Dari Platelet Rich Plasma Quality Comparison of Platelet Concentrate Prepared by Platelet Rich Plasma and Platelet Apheresis on Platelet Counts and Leukocyte Residues. *J Anal Kesehat.* 2015;10(1):22–8.

31. Diyanti LPS, Herawati S, Yasa Iwps. Perbedaan Kadar Glukosa Konsentrat Trombosit Pada Penyimpanan Hari I, Iii, V Di Unit Donor Darah Pmi Provinsi Bali / Rsup Sanglah Denpasar. *E-Jurnal Med.* 2017;6(3):1–5.
32. Ariani R, Widyaningrum N, Prasetyo H. Perbandingan Jumlah Trombosit Pada Thrombocyte Concentrate Berdasarkan Masa Simpan Comparison of the Number of Thrombocytes in Concentrate Thrombocytes Based on the Storage Time. *Hermia Heal Sci J.* 2021;1(2):64–8.
33. Rossaint J, Margraf A, Zarbock A. Role of platelets in leukocyte recruitment and resolution of inflammation. *Front Immunol.* 2018;9(NOV):1–13.
34. Hegazy S, Elsabaawy M, Eltabakh M, Hammad R, Bedair H. CD62P (P-selectin) expression as a platelet activation marker in patients with liver cirrhosis with and without cholestasis. *Clin Exp Hepatol.* 2021;7(2):231–40.
35. Sahler J, Grimshaw K, Spinelli SL, Refaai MA, Phipps RP, Blumberg N. Platelet storage and transfusions: new concerns associated with an old therapy. *Drug Discov Today Dis Mech* [Internet]. 2011;8(1–2):e9–e14. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3624763/pdf/nihms412728.pdf>
36. Rosyidah RA, Hartini WM, Sumoko E, Triliyawati IY. Pengaruh lama masa simpan thrombocyte concentrate (TC) terhadap jumlah residual leukosit dengan metode manual improved neubauer. *J Kesehat.* 2021;9(2):109–18.
37. Tong S, Wang H, Zhang T, Chen L, Liu B. Accumulation of CD62P during storage of apheresis platelet concentrates and the role of CD62P in transfusion-related acute lung injury. *Mol Med Rep.* 2015;12(5):7777–81.
38. Sperling S, Vinholt PJ, Sprogøe U, Yazer MH, Frederiksen H, Nielsen C. The effects of storage on platelet function in different blood products. *Hematol (United Kingdom).* 2019;24(1):89–96.

39. Hillyer CD, Silberstein LE, Ness PM, Anderson KC, Roback JD. Blood Banking and Transfusion Medicine Basic Principles and Practice. Churchill livingstone: Elsevier Health Sciences; 2006. 364 p

