

**INDEKS APOPTOSIS SEL
UNTUK MENILAI RESPON KEMOTERAPI
PADA PASIEN LEUKEMIA MIELOBLASTIK AKUT ANAK**

TESIS



Oleh

dr. Arief Rahman

NIM 178070901111004

Pembimbing :

dr. Susanto Nugroho, Sp.A(K)

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS 1
ILMU KESEHATAN ANAK RUMAH SAKIT SAIFUL ANWAR
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2020**



**INDEKS APOPTOSIS SEL
UNTUK MENILAI RESPON KEMOTERAPI
PADA PASIEN LEUKEMIA MIELOBLASTIK AKUT ANAK**

TESIS

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Spesialis**



Oleh

dr. Arief Rahman

NIM 178070901111004

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS 1
ILMU KESEHATAN ANAK RUMAH SAKIT SAIFUL ANWAR
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG**

2020



LEMBAR PERSETUJUAN TESIS

**INDEKS APOPTOSIS SEL UNTUK MENILAI RESPON KEMOTERAPI
PADA PASIEN LEUKEMIA MIELOBLASTIK AKUT ANAK**

Oleh:
ARIEF RAHMAN

Dipertahankan di depan penguji
Pada tanggal 19 November 2020

Telah disetujui oleh:
Pembimbing,

dr. Susanto Nugroho, Sp.A(K)
NIP. 196803041997031005

Penguji 1,

Dr. dr. Krisni Subandiyah, Sp.A(K)
NIP. 196407191989102001

Penguji 2,

dr. Anik Puryatni, Sp.A(K)
NIP. 196312261989032002

**Ketua Program Studi Ilmu Kesehatan Anak
Program Pendidikan Dokter Spesialis 1
Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang**



Dr. dr. Krisni Subandiyah, Sp.A(K)
NIP. 196407191989102001

IDENTITAS TIM PENGUJI

JUDUL TESIS :
**INDEKS APOPTOSIS SEL UNTUK MENILAI RESPON KEMOTERAPI
PADA PASIEN LEUKEMIA MIELOBLASTIK AKUT ANAK**

Nama Mahasiswa : Arief Rahman
NIM : 178070901111004
Program studi : Program Pendidikan Dokter Spesialis I
Ilmu Kesehatan Anak
Pembimbing : dr. Susanto Nugroho, Sp.A (K)

TIM PENGUJI :
Dosen Penguji 1 : Dr. dr. Krisni Subandiyah, SpA(K)
Dosen Penguji 2 : dr. Anik Puryatni, SpA (K)

Tanggal Ujian Tesis : 19 November 2020



PERNYATAAN ORISINALITAS TESIS

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa sepanjang pengetahuan saya, di dalam Naskah TESIS ini tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh orang lain untuk memperoleh gelar akademik di suatu Perguruan Tinggi, dan tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila ternyata di dalam naskah TESIS ini dapat dibuktikan terdapat unsur-unsur plagiasi, saya bersedia TESIS ini digugurkan dan gelar akademik yang saya peroleh (SPESIALIS) dibatalkan, serta diproses sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku (UU No. 20 Tahun 2003, pasal 25 ayat 2 dan pasal 70).

Malang, 19 November 2020

Mahasiswa,

Nama : Arief Rahman, dr

NIM : 178070901111004

PS : Ilmu Kesehatan Anak

Prog. : Pendidikan Dokter Spesialis I

Fak. : Kedokteran UB



KATA PENGANTAR

Puji syukur hanya bagi Allah SWT, atas berkat rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian tesis dengan judul: **INDEKS APOPTOSIS SEL UNTUK MENILAI RESPON KEMOTERAPI PADA PASIEN LEUKEMIA MIELOBLASTIK AKUT ANAK.**

Dengan selesainya tesis ini, penulis menyampaikan terima kasih sebesar-besarnya kepada:

1. dr. Susanto Nugroho, Sp.A(K) selaku pembimbing penelitian yang telah dengan sabar bersedia meluangkan waktu untuk membimbing, memberikan saran, membantu kelancaran penyusunan tesis, dan memberikan motivasi untuk segera menyelesaikan tesis sehingga tesis ini dapat selesai dengan baik.
2. Dr. dr. Krisni Subandiyah, Sp.A(K) selaku Ketua Program Studi PPDS I IKA yang telah memberikan kesempatan dan fasilitas dalam menyelesaikan tesis, serta sebagai penguji yang telah banyak memberikan saran serta masukan untuk perbaikan tesis ini.
3. dr. Eko Sulitijono, Sp.A(K) sebagai Kepala Departemen Ilmu Kesehatan Anak Rumah Sakit Saiful Anwar yang telah memberikan kesempatan dan fasilitas dalam pengumpulan data dan penyelesaian tesis.
4. dr. Anik Puryatni, Sp.A(K) selaku dosen pembimbing akademik yang selalu memberikan dorongan dan motivasi dalam menyelesaikan pendidikan serta sebagai penguji yang telah banyak memberikan saran serta masukan untuk perbaikan tesis ini.

5. Seluruh staf pengajar Lab/SMF Ilmu Kesehatan Anak/RSU dr. Saiful Anwar

Malang yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu atas semua ilmu dan nasehat yang telah penulis terima selama proses penyelesaian tesis ini.

6. Orang tua Penulis, almarhum Bapak Drs. Sofyan Arief dan Ibu Rosmiyati,

SST, M.Kes, beserta Bapak dan Ibu mertua, Bapak Abdul Haris dan Ibu Nurjanah, atas semua doa dan segala bentuk dukungan yang selalu memberikan kemudahan dalam penyelesaian tesis ini.

7. Istri tercinta, dr. Nanda Fitri Wardani dan anak tercinta Namira Shadeeqa

Rahman, atas segala dukungan dan pengorbanan waktu, tenaga, materi yang diberikan selama saya menempuh pendidikan.

8. Kakak-kakak saya, Octavia Imelda, Heikal Anugerah, Rosa Ariesa, Tulus

Setianugraha, Vany Octary, Laju Gandharum, dan adik adik saya, Nisa, Nadia, serta keponakan tercinta Key, Shofya, Hyra, Omar, dan Qiqi yang selalu memberikan dukungan dan doa dalam penyelesaian tesis ini.

9. Teman-teman seperjuangan PPDS IKA angkatan XXIV, dr. Astarini

Hidayah, dr. Radwika Swastanti Wijaya, dr. Ika Maya S, dan dr. Fiona Paramitha atas bantuan dan kerjasama serta semangat selama proses pendidikan dan penyelesaian tesis ini.

10. Semua rekan-rekan PPDS, kakak kelas dan adik kelas, yang telah

memberikan dukungan, dan semangat, serta kerjasama dalam proses penyelesaian tesis ini.

11. Pasien-pasien yang telah bersedia mengikuti penelitian ini terima kasih

atas kerjasama dan kesabaran dalam menjalani penelitian ini.

12. Seluruh perawat di lingkungan IRNA IV atas bantuan dan kerjasamanya

untuk kelancaran penelitian dan pelayanan pada pasien kami.

13. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu yang

memberikan bantuan, saran dan masukan demi selesainya tesis ini



Semoga segala bantuan dan pengorbanan yang diberikan kepada penulis mendapatkan balasan pahala yang berlimpah dari Allah SWT. Penulis menyadari masih banyak kekurangan dan keterbatasan dalam tulisan ini, oleh karena itu penulis mengharapkan saran yang membangun agar tulisan ini bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Malang, 19 November 2020

Arief Rahman



RINGKASAN

Arief Rahman, NIM. 178070901111004. Program Pendidikan Dokter Spesialis Ilmu Kesehatan Anak, Rumah Sakit Umum dr. Saiful Anwar, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, 19 November 2020. Indeks Apoptosis Sel Untuk Menilai Respon Kemoterapi Pada Pasien Leukemia Mieloblastik Akut Anak.
Supervisor : dr. Susanto Nugroho, Sp.A (K).

Leukemia akut terhitung sebesar 30 persen dari seluruh keganasan pada masa kanak-kanak, dan 15 persen dari leukemia pada anak merupakan leukemia mieloblastik akut. Angka harapan hidup pada leukemia mieloblastik akut telah meningkat dengan tajam namun angka harapan hidup keseluruhan anak dengan leukemia mieloblastik akut diperkirakan 65-70 persen dan tetap lebih rendah dibandingkan leukemia limfoblastik akut. Masih banyak permasalahan yang dihadapi pada leukemia mieloblastik anak. Salah satunya adalah penyakit yang refrakter atau resisten yang terjadi pada 3-19% pasien yang disebabkan oleh resistensi obat terhadap sel leukemia mieloblastik akut yang besar. Studi yang dilakukan selama beberapa dekade terakhir mengindikasikan bahwa agen kemoterapi yang menginduksi apoptosis pada sel leukemia yang gagal mengaktivasi aktivitas apoptosis dapat menyebabkan resistensi pada banyak agen kemoterapi. Temuan ini menyimpulkan bahwa proses apoptosis dapat memainkan peranan penting dalam resistensi obat pada praktik klinik. Analisis *flow cytometry* menggunakan ikatan annexin V dari translokasi fosfatidilserin adalah suatu uji kuantitatif sensitif untuk mendeteksi apoptosis sel dini, dengan pemeriksaan ini maka dapat dihitung indeks apoptosis sel untuk menilai respon kemoterapi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui bahwa induksi kemoterapi dapat meningkatkan indeks apoptosis sel pada pasien leukemia mieloblastik akut anak serta adanya korelasi antara hemoglobin, leukosit, trombosit, *absolute neutrophil count* (ANC) terhadap indeks apoptosis sel tersebut.

Penelitian ini disetujui oleh komite etik rumah sakit, yang merupakan suatu penelitian observasional dengan desain kohort, melibatkan 5 subjek yang didiagnosis sebagai LMA. Masing-masing sampel penelitian dilakukan pengambilan darah perifer sebelum dan sesudah induksi kemoterapi. Kemudian dibandingkan indeks apoptosis sel sebelum dan sesudah induksi kemoterapi serta

dilihat korelasi antara indeks apoptosis sel dengan hemoglobin, leukosit, trombosit, dan ANC sebelum dan sesudah induksi kemoterapi.

Pada hasil uji t berpasangan didapatkan perbedaan yang signifikan antara indeks apoptosis sel sebelum dan sesudah induksi kemoterapi ($p=0,014$), dengan rerata indeks apoptosis sel sebelum induksi kemoterapi $2,2 \pm 1,22$ dan rerata indeks apoptosis sel sesudah kemoterapi $8,13 \pm 2,81$. Berdasarkan uji korelasi Pearson didapatkan korelasi negatif antara indeks apoptosis sel dengan kadar hemoglobin sebelum diberikan kemoterapi fase induksi ($r= -0,9$; $p= 0,03$), indeks apoptosis sel dengan kadar hemoglobin sesudah diberikan induksi kemoterapi ($r= -0,92$; $p= 0,02$), serta pada korelasi antara selisih indeks apoptosis sel dan selisih hemoglobin sebelum dan sesudah kemoterapi ($r= -0,89$; $p= 0,04$). Pada korelasi antara indeks apoptosis sel dengan leukosit sebelum induksi kemoterapi ($r= -0,8$; $p=0,09$), sesudah induksi kemoterapi ($r= -0,51$; $p=0,38$), dan selisih indeks apoptosis sel sebelum dan sesudah induksi kemoterapi dengan selisih leukosit sebelum dan sesudah induksi kemoterapi ($r= -0,93$; $p=0,018$) didapatkan masing-masing dengan korelasi negatif. Kemudian untuk korelasi antara indeks apoptosis sel dan trombosit sebelum induksi kemoterapi ($r= -0,66$; $p= 0,22$), sesudah induksi kemoterapi ($r= -0,91$; $p= 0,02$), serta korelasi antara selisih indeks apoptosis sel dan selisih trombosit sebelum dan setelah induksi kemoterapi ($r= -0,98$; $p= 0,002$) didapatkan korelasi negatif. Hubungan antara indeks apoptosis sel dan ANC sebelum induksi kemoterapi ($r= -0,98$; $p= 0,002$), sesudah induksi kemoterapi ($r= -0,99$; $p= 0,001$), serta selisih antara indeks apoptosis sel dan selisih ANC sebelum dan sesudah induksi kemoterapi ($r= -0,88$; $p= 0,04$) didapatkan korelasi negatif.

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa terdapat peningkatan indeks apoptosis sel setelah induksi kemoterapi. Terdapat korelasi negatif antara indeks apoptosis sel dan hemoglobin sebelum, sesudah, serta selisih antara sebelum dan sesudah induksi kemoterapi. Terdapat korelasi negatif antara indeks apoptosis sel dan leukosit sebelum, sesudah, serta selisih antara sebelum dan sesudah induksi kemoterapi. Terdapat korelasi negatif antara indeks apoptosis sel dan trombosit sebelum, sesudah, serta selisih antara sebelum dan sesudah induksi kemoterapi. Terdapat korelasi negatif antara indeks apoptosis sel dan ANC sebelum, sesudah, serta selisih antara sebelum dan sesudah induksi kemoterapi.

Kata kunci: leukemia mieloblastik akut, indeks apoptosis sel, apoptosis, hemoglobin, leukosit, trombosit, ANC, kemoterapi fase induksi

SUMMARY

Arief Rahman, NIM. 178070901111004. Pediatric Medical Education Program, Saiful Anwar General Hospital, Faculty of Medicine Brawijaya University Malang, November 19th 2020. Cell Apoptotic Index to Evaluate Chemotherapy Response in Pediatric Acute Myeloid Leukemia. Supervisor : Susanto Nugroho, M.D, Paed (C).

Acute leukemia was counted 30 percent from all malignancy in children and 15 percent from leukemia in childhood was acute myeloid leukemia. Survival rate in acute myeloid leukemia had increased sharply however the overall survival rate of children with acute myeloid leukemia was estimated 65-70 percent and it was lower than acute lymphoblastic leukemia. There were still many problems faced in acute myeloid leukemia. One of them was refractory or resistant disease which occurred in 3-19% patients due to drug resistance to large acute myeloid leukemia cell. Studies conducted over the last few decades indicated that chemotherapy agents that induced apoptosis in leukemia cell which failed to activate apoptotic activity could lead to resistance to many chemotherapeutic agents. These findings suggested that the apoptotic process could play an important role in drugs resistance in clinical practice. Flow cytometry analysis using annexin V binds from phosphatidylserine translocation was a sensitive quantitative test to detect early cell apoptosis, with this examination could be calculated the cell apoptotic index to assess chemotherapy response.

This study aimed to determine that chemotherapy induction could increase cell apoptotic index in patients with acute myeloid leukemia in children and there were correlations between hemoglobin, leukocytes, platelets, absolute neutrophil count (ANC) and cell apoptotic index.

This study was approved by the hospital ethics committee, which is an observational study with a cohort design, involving 5 subjects diagnosed as AML. Peripheral blood sampling was carried out for each study sample before and after chemotherapy induction. Then the cell apoptotic index before and after chemotherapy induction was compared and the correlation between the cell apoptotic index with hemoglobin, leukocytes, platelets, and ANC before and after chemotherapy induction was compared.

The paired t test results showed a significant difference between the cell apoptotic index before and after chemotherapy induction ($p=0.014$), with the mean

cell apoptotic index before chemotherapy induction was 2.2 ± 1.22 and the mean cell apoptotic index after chemotherapy was 8.13 ± 2.81 . Based on the Pearson correlation test, it was found that a negative correlation between the cell apoptotic index with hemoglobin levels before being given induction phase chemotherapy ($r = -0.9$; $p = 0.03$), the cell apoptotic index with hemoglobin levels after being given chemotherapy induction ($r = -0.92$; $p = 0.02$), as well as the correlation between the difference in cell apoptotic index and the difference in hemoglobin before and after chemotherapy ($r = -0.89$; $p = 0.04$). In the correlation between cell apoptotic index and leukocytes before chemotherapy induction ($r = -0.8$; $p = 0.09$), after chemotherapy induction ($r = -0.51$; $p = 0.38$), and the difference in cell apoptotic index before and after chemotherapy induction with the difference in leukocytes before and after chemotherapy induction ($r = -0.93$; $p = 0.018$), each was obtained with negative correlation. Then for the correlation between the cell apoptotic index and platelets before chemotherapy induction ($r = -0.66$; $p = 0.22$), after chemotherapy induction ($r = -0.91$; $p = 0.02$), as well as the correlation between the difference in cell apoptotic index and the difference in platelets before and after chemotherapy induction ($r = -0.98$; $p = 0.002$) were obtained negative correlation. The relationship between cell apoptotic index and ANC before chemotherapy induction ($r = -0.98$; $p = 0.002$), after chemotherapy induction ($r = -0.99$; $p = 0.001$), and the difference between cell apoptotic index and ANC difference before and after chemotherapy induction ($r = -0.88$; $p = 0.04$) were obtained negative correlation.

From this study could be concluded that there was an increase in the cell apoptotic index after chemotherapy induction. There were negative correlations between cell apoptotic index and hemoglobin before, after, and the difference between before and after chemotherapy induction. There were negative correlations between the cell apoptotic index and leukocytes before, after, and the difference between before and after chemotherapy induction. There were negative correlations between the cell apoptotic index and platelets before, after, and the difference between before and after chemotherapy induction. There were negative correlations between the cell apoptotic index and ANC before, after, and the difference between before and after chemotherapy induction.

Keywords: Acute myeloid leukemia, cell apoptotic index, apoptosis, hemoglobin, leukocytes, platelets, ANC, induction phase chemotherapy



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PERSETUJUAN TESIS.....	ii
IDENTITAS TIM PENGUJI	iii
PERNYATAAN ORISINALITAS TESIS	iv
KATA PENGANTAR	v
RINGKASAN	viii
SUMMARY	x
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xvi
DAFTAR TABEL.....	xvii
DAFTAR SINGKATAN.....	xviii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.2.1 Sub Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.3.1 Tujuan Umum	3
1.3.2 Tujuan Khusus	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.4.1 Manfaat Keilmuan.....	4
1.4.2 Manfaat Praktis	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Leukemia Mieloblastik Akut.....	6
2.1.1 Epidemiologi dan Etiologi Leukemia Mieloblastik Akut.....	7
2.1.2 Patofisiologi Leukemia Mieloblastik Akut.....	10
	xiii



2. 1. 3	Gambaran Patologis Leukemia Mieloblastik Akut	13
2. 1. 3. 1	Imunofenotip	13
2. 1. 3. 2	Gambaran Genetik	15
2. 1. 4	Penegakan Diagnosis Leukemia Mieloblastik Akut	15
2.2	Apoptosis Sel	19
2. 2. 1	Definisi dan Mekanisme Apoptosis Sel	19
2. 2. 2	Peranan Apoptosis Sel Dalam Kemoterapi	21
2.3	Tata Laksana Leukemia Mieloblastik Akut	28
2. 3. 1	Kemoterapi	28
2. 3. 2	Prognosis dan Respon Terhadap Induksi Kemoterapi	32
BAB 3	KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN	37
3.1	Bagan Kerangka Konseptual	37
3.2	Keterangan Kerangka Konseptual	38
3.3	Hipotesis Penelitian	39
BAB 4	METODE PENELITIAN	41
4.1	Desain Penelitian	41
4.2	Tempat dan Waktu Penelitian	41
4.3	Persetujuan Penelitian	41
4.4	Subjek Penelitian	41
4.4.1	Populasi dan Subjek Penelitian	41
4.4.2	Pengambilan Sampel Penelitian	42
4.4.3	Metode Pemilihan Sampel	42
4.5	Kriteria Inklusi dan Eksklusi Subjek Penelitian	43
4.5.1	Kriteria Inklusi	43
4.5.2	Kriteria Eksklusi	43
4.6	Variabel Penelitian	43
4.6.1	Variabel Bebas	43



4.6.2 Variabel Tergantung.....	43
4.7 Definisi Operasional.....	43
4.8 Prosedur Penelitian.....	45
4.8.1 Alat dan Bahan.....	45
4.8.2 Pengambilan Sampel Darah.....	46
4.8.3 Cara Isolasi PBMC.....	46
4.8.4 Pemeriksaan <i>Flow Cytometry</i>	47
4.9 Analisis Statistik.....	47
4.10 Bagan Alur Penelitian.....	49
BAB 5 HASIL PENELITIAN.....	50
5.1 Karakteristik Subjek Penelitian.....	50
5.2 Perbedaan Indeks Apoptosis Sel Sebelum dan Sesudah Induksi Kemoterapi.....	51
5.3 Korelasi Indeks Apoptosis Sel Sebelum dan Sesudah Induksi Kemoterapi Terhadap Kadar Hemoglobin.....	53
5.4 Korelasi Indeks Apoptosis Sel Sebelum dan Sesudah Induksi Kemoterapi Terhadap Leukosit.....	55
5.5 Korelasi Indeks Apoptosis Sel Sebelum dan Sesudah Induksi Kemoterapi Terhadap Trombosit.....	57
5.6 Korelasi Indeks Apoptosis Sel Sebelum dan Sesudah Induksi Kemoterapi Terhadap ANC.....	58
BAB 6 PEMBAHASAN.....	60
6.1 Karakteristik Subjek Penelitian.....	60
6.2 Peningkatan Indeks Apoptosis Sel Sesudah Induksi Kemoterapi.....	62
6.3 Korelasi Indeks Apoptosis Sel Sebelum dan Sesudah Induksi Kemoterapi Terhadap Kadar Hemoglobin, Leukosit, Trombosit, dan ANC.....	63

BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN..... 71

7.1 Kesimpulan..... 71

7.1 Saran..... 72

DAFTAR PUSTAKA..... 73

LAMPIRAN..... 83



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Bagan Hematopoiesis Normal dan Leukemia Mieloblastik Akut..... 12

Gambar 2.2 Tahapan Utama Dalam Hematopoiesis..... 20

Gambar 2.3 Jalur Ekstrinsik dan Intrinsik dari Apoptosis..... 22

Gambar 2.4 Ikatan Annexin V dan Fosfatidilserin 25

Gambar 3.1 Bagan Kerangka Konseptual..... 37

Gambar 4.1 Bagan Alur Penelitian..... 49

Gambar 5.1 Indeks Apoptosis Sel Sebelum dan Sesudah Induksi Kemoterapi... 53

Gambar 5.2 Diagram Scatter Korelasi Indeks Apoptosis Sel Terhadap Hemoglobin Sebelum dan Sesudah Induksi Kemoterapi 55

Gambar 5.3 Diagram Scatter Korelasi Indeks Apoptosis Sel Terhadap Leukosit Sebelum dan Sesudah Induksi Kemoterapi 56

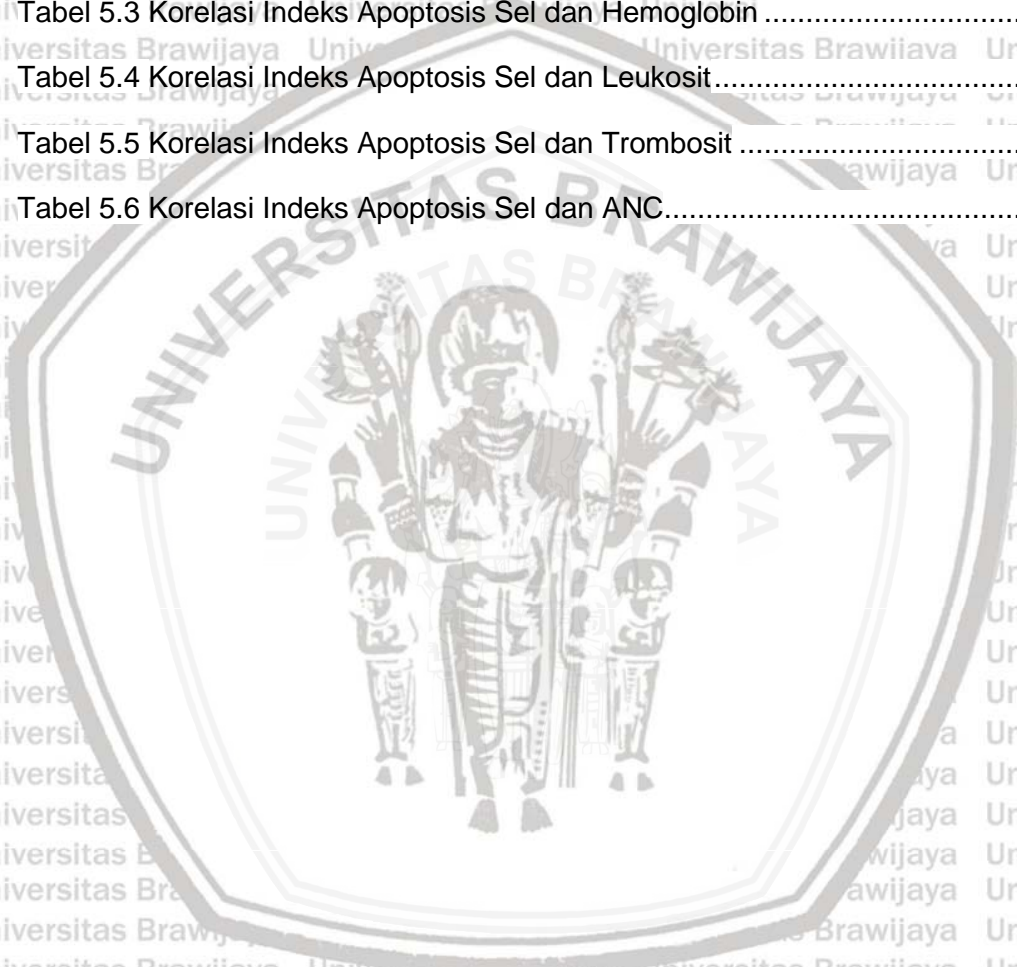
Gambar 5.4 Diagram Scatter Korelasi Indeks Apoptosis Sel Terhadap Trombosit Sebelum dan Sesudah Induksi Kemoterapi 58

Gambar 5.5 Diagram Scatter Korelasi Indeks Apoptosis Sel Terhadap ANC Sebelum dan Sesudah Induksi Kemoterapi 59



DAFTAR TABEL

Tabel 5.1 Karakteristik Subjek Penelitian.....	50
Tabel 5.2 Indeks Apoptosis Sel, Hemoglobin, Leukosit, Trombosit, dan ANC Pada Anak dengan LMA Sebelum dan Sesudah Kemoterapi Fase Induksi	52
Tabel 5.3 Korelasi Indeks Apoptosis Sel dan Hemoglobin	54
Tabel 5.4 Korelasi Indeks Apoptosis Sel dan Leukosit.....	55
Tabel 5.5 Korelasi Indeks Apoptosis Sel dan Trombosit	57
Tabel 5.6 Korelasi Indeks Apoptosis Sel dan ANC.....	58



DAFTAR SINGKATAN

- ANC : *Absolute Neutrophil Count*
- APPT : *Activated Partial Thromboplastin Time*
- BMA : *Bone Marrow Aspiration*
- CCR : *Continuous Complete Remission*
- DNA : *Deoxyribonucleic Acid*
- EGIL : *European Group for the Immunological Classification of Leukemia*
- EOT : *End of Treatment*
- FAB : *French American British*
- FISH : *Fluorescence in situ Hybridization*
- HLA : *Human Leukocyte Antigen*
- LCS : *Liquor Cerebrospinalis*
- LDH : *Laktat Dehidrogenase*
- LLA : *Leukemia Limfoblastik Akut*
- LMA : *Leukemia Mieloblastik Akut*
- MDS : *Myelodysplastic Syndrome*
- MPO : *Myeloperoxidase*
- MRD : *Minimal Residual Disease*
- PCR : *Polymerase Chain Reaction*
- PML : *Progressive Multifocal Leukoencephalopathy*
- PT : *Prothrombin Time*
- RAR- α : *Retinoic Acid Nuclear Receptor Alpha*
- SSP : *Susunan Saraf Pusat*
- TSH : *Transplantasi Sel Hematopoesis*
- TUNEL : *Terminal Deoxynucleotidyl Transferase dUTP Nick End Labeling*



BAB 1**PENDAHULUAN****1.1. Latar Belakang**

Leukemia akut terhitung sebesar 30 persen dari seluruh keganasan pada masa kanak-kanak dan merupakan kanker tersering pada anak. Leukemia mieloblastik akut diperkirakan 15 persen dari leukemia pada anak dan lebih jarang terjadi dibandingkan leukemia limfoblastik akut. Angka harapan hidup pada leukemia mieloblastik akut telah meningkat dengan tajam selama beberapa dekade terakhir, namun demikian angka harapan hidup keseluruhan anak dengan leukemia mieloblastik akut diperkirakan 65-70 persen dan tetap lebih rendah dibandingkan leukemia limfoblastik akut (Gamis *et al.*, 2013).

Masih banyak permasalahan yang dihadapi pada leukemia mieloblastik anak. Pertama, kematian yang terjadi pada 2 hingga 10% pasien terutama disebabkan oleh infeksi dan komplikasi perdarahan. Kedua, penyakit yang refrakter atau resisten yang terjadi pada 3-19% pasien yang disebabkan oleh resistensi obat terhadap sel leukemia mieloblastik akut yang besar. Ketiga, mortalitas akhir (pada remisi komplisit mempengaruhi hingga 5% pasien) yang terutama disebabkan komplikasi yang berhubungan dengan terapi. Keempat, angka relaps penyakit yang merupakan kejadian tersering dan terjadi pada 30-40% pasien. Keempat hal ini mengindikasikan perlunya peningkatan luaran pada penderita leukemia mieloblastik akut (Kaspers, 2005).

Studi yang dilakukan selama beberapa dekade terakhir mengindikasikan bahwa agen kemoterapi yang menginduksi apoptosis pada sel leukemia manusia secara *in vitro* dan *in vivo* yang gagal mengaktifasi aktivitas apoptosis dapat menyebabkan resistensi pada banyak agen kemoterapi. Temuan ini

menyimpulkan bahwa proses apoptosis dapat memainkan peranan penting dalam resistensi obat pada praktik klinik (Stelmaszczyk-Emme *et al.*, 2002). Singh *et al.* pada tahun 2016 meneliti indeks apoptosis pada pasien leukemia limfoblastik akut anak sebelum dan sesudah induksi kemoterapi. Penelitian tersebut menyimpulkan bahwa indeks apoptosis yang rendah berhubungan dengan luaran klinis yang buruk pada leukemia limfoblastik akut anak (Singh *et al.*, 2018).

Studi penelitian *in vitro* terbaru berdasarkan pada resistensi kemoterapi telah memperbaharui fokus pada peranan jalur apoptosis dalam stratifikasi risiko dan tatalaksana pasien leukemia. Agen kemoterapi dipercaya kuat bekerja terutama dengan menginduksi kematian sel kanker melalui aktivasi bermacam-macam jalur pensinyalan apoptosis (Taylor *et al.*, 2008). Analisis *flow cytometry* menggunakan ikatan annexin V dari translokasi fosfatidilserin adalah suatu uji kuantitatif sensitif untuk mendeteksi apoptosis sel dini, dengan pemeriksaan ini maka dapat dihitung indeks apoptosis sel untuk menilai respon kemoterapi. Namun sampai saat ini belum banyak penelitian yang dilakukan untuk meneliti indeks apoptosis sel sebagai respon kemoterapi pada pasien leukemia khususnya leukemia mieloblastik akut, sedangkan hal ini penting untuk dilakukan untuk dapat menilai efektifitas suatu protokol kemoterapi. Oleh karena itu peneliti tertarik untuk mengangkat hal ini untuk mengetahui bagaimanakah indeks apoptosis sel pada pasien leukemia mieloblastik akut sebagai respon terhadap induksi kemoterapi.

1.2. Rumusan Masalah

Apakah induksi kemoterapi dapat meningkatkan indeks apoptosis sel pada pasien leukemia mieloblastik akut anak serta bagaimana korelasi antara hemoglobin, leukosit, trombosit, *absolute neutrophil count* (ANC) terhadap indeks apoptosis sel tersebut?

1.2.1. Sub Masalah

1. Apakah terdapat peningkatan indeks apoptosis sel sesudah induksi kemoterapi pada pasien leukemia mieloblastik akut anak?
2. Apakah terdapat korelasi antara indeks apoptosis sel sebelum dan sesudah induksi kemoterapi terhadap hemoglobin pada pasien leukemia mieloblastik akut anak?
3. Apakah terdapat korelasi antara indeks apoptosis sel sel sebelum dan sesudah induksi kemoterapi terhadap leukosit pada pasien leukemia mieloblastik akut anak?
4. Apakah terdapat korelasi antara indeks apoptosis sel sel sebelum dan sesudah induksi kemoterapi terhadap trombosit pada pasien leukemia mieloblastik akut anak?
5. Apakah terdapat korelasi antara indeks apoptosis sel sel sebelum dan sesudah induksi kemoterapi terhadap *absolute neutrophil count* (ANC) pada pasien leukemia mieloblastik akut anak?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Mengetahui bahwa induksi kemoterapi dapat meningkatkan indeks apoptosis sel pada pasien leukemia mieloblastik akut anak serta adanya korelasi antara hemoglobin, leukosit, trombosit, *absolute neutrophil count* (ANC) terhadap indeks apoptosis sel tersebut.

1.3.2. Tujuan Khusus

1. Membuktikan bahwa terdapat peningkatan indeks apoptosis sel setelah induksi kemoterapi pada pasien leukemia mieloblastik akut anak.
2. Mengetahui korelasi indeks apoptosis sel sebelum dan sesudah induksi kemoterapi terhadap hemoglobin pada pasien leukemia mieloblastik akut anak.
3. Mengetahui korelasi indeks apoptosis sel sebelum dan sesudah induksi kemoterapi terhadap leukosit pada pasien leukemia mieloblastik akut anak.
4. Mengetahui korelasi indeks apoptosis sel sebelum dan sesudah induksi kemoterapi terhadap trombosit pada pasien leukemia mieloblastik akut anak.
5. Mengetahui korelasi indeks apoptosis sel sebelum dan sesudah induksi kemoterapi terhadap *absolute neutrophil count* (ANC) pada pasien leukemia mieloblastik akut anak.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Keilmuan

1. Menambah keilmuan mengenai mekanisme apoptosis sel pada leukemia mieloblastik akut.
2. Mengetahui indeks apoptosis sel sebelum dan sesudah induksi kemoterapi pada pasien leukemia mieloblastik akut anak.
3. Mengembangkan peranan apoptosis sel untuk menilai efektifitas kemoterapi pada leukemia mieloblastik akut anak.
4. Menambah informasi tentang korelasi indeks apoptosis sel sebelum dan sesudah induksi kemoterapi terhadap hemoglobin pada pasien leukemia mieloblastik akut anak.

5. Menambah informasi tentang korelasi indeks apoptosis sel sebelum dan sesudah induksi kemoterapi terhadap leukosit pada pasien leukemia mieloblastik akut anak.

6. Menambah informasi tentang korelasi indeks apoptosis sel sebelum dan sesudah induksi kemoterapi terhadap trombosit pada pasien leukemia mieloblastik akut anak.

7. Menambah informasi tentang korelasi indeks apoptosis sel sebelum dan sesudah induksi kemoterapi terhadap ANC pada pasien leukemia mieloblastik akut anak.

1.4.2. Manfaat Praktis

1. Mengetahui efektifitas protokol kemoterapi leukemia mieloblastik akut Indonesia revisi tahun 2015.
2. Memprediksi luaran penyakit pasien leukemia mieloblastik akut pasca kemoterapi.
3. Menjadi bahan pertimbangan untuk penggantian protokol kemoterapi pada pasien leukemia mieloblastik akut anak dengan respon kemoterapi yang kurang baik.



BAB 2**TINJAUAN PUSTAKA****2. 1. Leukemia Mieloblastik Akut**

Leukemia adalah suatu keganasan sel darah yang berasal dari sumsum tulang. Penyakit ini adalah jenis kanker yang paling sering terjadi pada anak ditandai oleh proliferasi sel-sel darah putih dengan manifestasi adanya sel-sel muda dalam darah tepi. Leukemia terjadi karena adanya gangguan pengaturan sel leukosit. Leukosit dalam darah berproliferasi tidak terkendali dan fungsinya pun menjadi tidak normal. Oleh karena terjadinya proses tersebut, fungsi-fungsi lain dari sel darah normal juga terganggu hingga menimbulkan gejala klinis leukemia.

Leukemia akut dibagi atas leukemia limfoblastik akut (LLA) dan leukemia mieloblastik akut (LMA) (Pizzo & Poplack, 2015).

Leukemia akut merupakan 30-40% keganasan yang sering terjadi pada anak. Insiden rata-rata 4-4,5 kasus/tahun/100000 anak di bawah 15 tahun.

Komposisi leukemia akut di negara berkembang terdiri atas 80-83% LLA dan 15-17% LMA dan secara ras lebih tinggi pada anak kulit putih dibandingkan kulit hitam. Di Asia kejadian leukemia pada anak lebih tinggi pada anak kulit putih. Di Amerika Serikat diperkirakan 2900 anak-anak dan remaja yang berusia di bawah 20 tahun didiagnosis dengan LLA setiap tahun (Gamis *et al.*, 2013).

Leukemia mieloblastik akut (LMA) dapat dibagi menjadi dua subtipe: primer yang disebabkan oleh kemoterapi atau kondisi hematologis sebelumnya dan sekunder yang merupakan turunan dari kondisi tersebut. Leukemia mieloblastik akut merupakan kelompok gangguan neoplastik yang ditandai oleh peningkatan

jumlah sel mieloid imatur di dalam sumsum tulang dengan atau tanpa keterlibatan darah perifer. Sebagai akibatnya terjadi sindrom kegagalan sumsum tulang, menyebabkan anemia, granulositopenia, dan trombositopenia dengan manifestasi klinis ditandai oleh sesak nafas dan kelemahan, infeksi, dan perdarahan. Bila tidak ditatalaksana, LMA bersifat fatal dalam beberapa minggu dari waktu terdiagnosis. LMA lebih sering ditemukan pada orang dengan usia yang lebih tua. Insidensi di Amerika Serikat adalah 3,5 kasus per 100000, dan lebih tinggi pada pasien yang berusia di atas 65 tahun dibandingkan pasien dengan usia lebih muda (15,9, dan 1,7), dan menyebabkan 2,1 % dari seluruh kematian di Amerika Serikat dengan tingkat kematian tahunan 3,2 per 100000 pada tahun 2007. Evaluasi klinis, meliputi biomarker baru, terapi dan prognosis pada pasien dengan LMA telah berubah secara dramatis selama dua dekade terakhir. Tantangan para klinisi saat ini adalah untuk meningkatkan respon dan kesintasan pada pasien LMA dimana insidensi dan kemoresistensi cukup tinggi (Vilella & Bolanos-Meade, 2011).

2. 1. 1. Epidemiologi dan Etiologi Leukemia Mieloblastik Akut

Kejadian leukemia akut di Jepang mencapai 4/100000 anak, dan diperkirakan tiap tahun terjadi 1000 kasus baru. Sedangkan di Jakarta pada tahun 1994 insidennya mencapai 2,76/100000 anak usia 1-4 tahun. Di RSUD Dr. Soetomo sepanjang tahun 2002 dijumpai 70 kasus leukemia baru (Urayama *et al.*, 2010). Pada studi yang dilakukan di RS Dr. Sardjito Yogyakarta, pada tahun 2011, didapatkan adanya peningkatan kasus baru leukemia akut dari 45 per tahun di tahun 1999 menjadi 91 per tahun di tahun 2009. Dari hasil analisis terpisah diperoleh hasil angka rerata kejadian tahunan dalam kurun waktu dari tahun 1998-2009 di DIY adalah 20,8. Insidensi LLA pada anak sebesar 3,0-3,5 per 100000, bervariasi pada setiap negara, wilayah geografis, ras, dan etnis. Hal ini juga terkait dengan laju pertumbuhan penduduk di daerah pedesaan, dimana faktor

lingkungan diduga kuat berpengaruh pada kejadian penyakit ini. Insiden LLA di Eropa sebesar 46,7 kasus per juta per tahun pada tahun 2002. Di Perancis insidensi LLA dilaporkan sebesar 34,3 dan leukemia mieloblastik akut (LMA) adalah 7,1 per juta penduduk (Supriyadi *et al.*, 2011).

Leukemia akut pada anak mencapai 97% dari semua leukemia pada anak, dan terdiri dari 2 tipe yaitu leukemia limfoblastik akut (LLA) 82% dan leukemia mieloblastik akut (LMA) 18%. Leukemia kronik mencapai 3% dari seluruh leukemia pada anak. Di RSU Dr. Soetomo pada tahun 2002, LLA 88%, LMA 8%, dan 4% leukemia kronik sedangkan di RSU Dr. Sardjito tahun 2011 didapatkan LLA 73%, LMA 24%, dan sisanya leukemia kronik (Supriyadi *et al.*, 2011).

Leukemia adalah penyakit yang berawal dari sumsum tulang. Populasi sel darah normal digantikan oleh sel leukemia yaitu sel darah putih yang masih muda, yang tumbuh tak terkendali. Perubahan pada tingkat DNA, baik terjadinya delesi, mutasi ataupun perubahan kimia akan menyebabkan teraktivasi onkogen sekaligus menonaktifkan *tumor suppressor gene* (gen yang menghambat tumbuhnya tumor). Proses apoptosis normal bisa terhambat, sehingga proliferasi sel (limfoid dan/atau mieloid) akan sangat meningkat diikuti dengan proses apoptosis yang menurun (Hann *et al.*, 2000).

Penyebab leukemia masih belum diketahui, namun anak dengan kelainan genetik (Trisomi 21, sindrom Bloom's, anemia Fanconi's dan ataksia telangiektasia) mempunyai kemungkinan lebih tinggi untuk menderita leukemia. Studi faktor lingkungan difokuskan pada paparan *in utero* dan pasca natal dengan melakukan studi kasus pada 204 pasien dengan paparan paternal/maternal terhadap pestisida dan produk minyak bumi. Dari studi tersebut didapatkan peningkatan risiko leukemia pada keturunannya (Hann *et al.*, 2000).

Faktor-faktor yang diduga dapat berperan dalam kejadian leukemia adalah genetika, radiasi, kimia dan obat-obatan, infeksi, status imunologis dan status

sosial ekonomi. Di negara-negara berpenghasilan rendah, faktor lingkungan diduga memiliki peran dalam kejadian leukemia pada anak. Peran *day care* ataupun *play group* dimana terjadi kontak dini anak-anak di usia awal akan memiliki dampak awal terkena infeksi. Hal ini berperan dalam mengurangi kejadian leukemia. Penggunaan marijuana selama masa kehamilan juga menunjukkan hubungan yang signifikan. Radiasi dosis tinggi merupakan leukemogenik, seperti dilaporkan di Hiroshima dan Nagasaki sesudah ledakan bom atom. Meskipun demikian paparan radiasi dosis tinggi *in utero* secara signifikan tidak mengarah pada peningkatan insidensi leukemia, demikian juga halnya dengan radiasi dosis rendah. Namun hal ini masih merupakan perdebatan. Pemeriksaan x-ray abdomen selama trimester I kehamilan menunjukkan peningkatan kasus LLA sebanyak 5 kali. Selama 40 tahun metode ini digunakan secara rutin, tetapi saat ini pemeriksaan tersebut amat jarang dan hanya sedikit kasus yang bisa dijelaskan hubungannya dengan faktor ini (IDAI, 2018).

Kontroversi tentang paparan bidang elektromagnetik masih tetap ada. Pada beberapa studi tidak ditemukan peningkatan kejadian leukemia pada paparan elektromagnetik, tapi studi terbaru menunjukkan peningkatan 2 kali diantara anak-anak yang tinggal di jalur listrik tegangan tinggi, namun tidak signifikan karena jumlah anak yang terpapar sedikit (Teepen & van Dijck, 2012).

Hipotesis yang menarik saat ini mengenai etiologi leukemia pada anak-anak adalah peranan infeksi virus dan atau bakteri. Inaba *et al.* menyatakan bahwa dipercayai ada 2 langkah mutasi pada sistem imun. Pertama selama kehamilan atau awal masa bayi dan kedua selama tahun pertama kehidupan sebagai konsekuensi dari respons terhadap infeksi pada umumnya. Meski masih kontroversial, teori ini sangat menarik untuk dipelajari, di satu sisi teori infeksi ini mengatakan bahwa isolasi terhadap infeksi di usia dini akan meningkatkan risiko terhadap terjadinya leukemia, di lain pihak ada teori yang mengatakan kejadian

infeksi akan meningkatkan risiko terjadinya leukemia akut (Petridou *et al.*, 2001; Mc Nally, 2006; Inaba *et al.*, 2013).

Belakangan ini, perhatian khusus dilakukan terhadap LMA sekunder setelah kemoterapi yang agresif. Risiko LMA setelah penyakit Hodgkin disebabkan oleh obat pengalkilasi. Klon leukemia sering menunjukkan adanya kelainan kromosom nomor 5 dan 7 dan memiliki FAB tipe M1/M2. Terdapat pula hubungan antara penggunaan epipodofilaktoksin dosis tinggi (VP-16 dan atau VM 26) memiliki risiko kumulatif 5-12% menjadi LMA sekunder. LMA-nya berbeda dengan yang mendapat terapi obat pengalkilasi, yaitu terdapat periode laten yang lebih pendek dan mayoritas melibatkan perubahan kromosom 11q23 dan sebagian FAB tipe M4/M5. Mielodisplasia dan LMA sekunder juga meningkat pada pasien yang mendapat terapi mieloblastif pada transplantasi sel stem autologus (Clavel *et al.*, 2004).

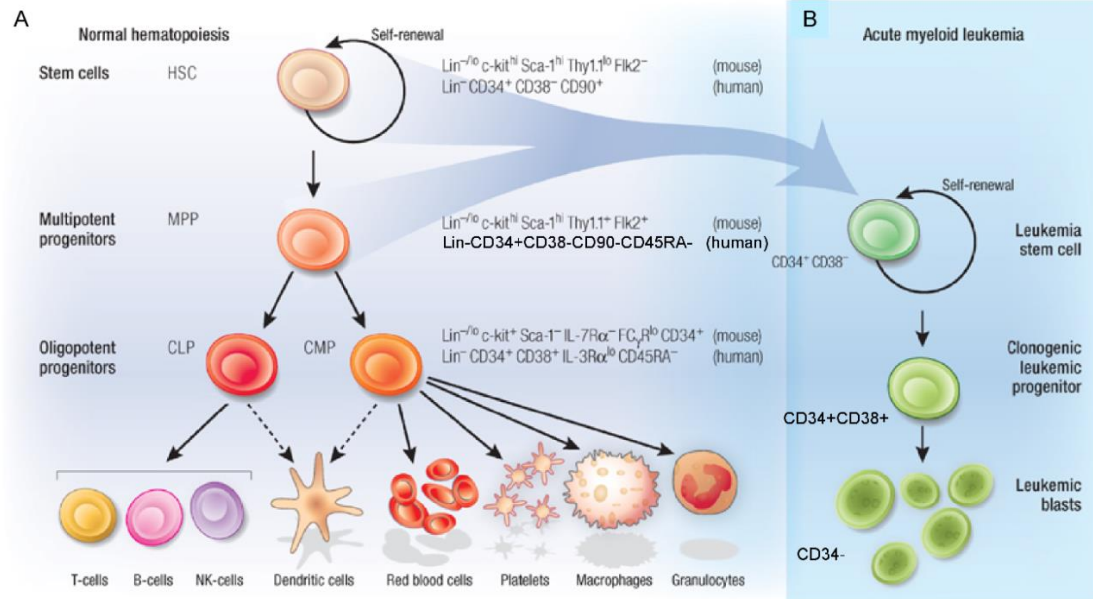
Beberapa kondisi perinatal merupakan faktor risiko terjadinya leukemia pada anak. Faktor-faktor tersebut adalah penyakit ginjal pada ibu, penggunaan suplemen oksigen, berat badan lahir > 4500 gram, dan hipertensi saat hamil. Dilaporkan bahwa ibu hamil yang mengonsumsi alkohol meningkatkan risiko terjadinya leukemia pada bayi, terutama LMA (IDAI, 2018).

2. 1. 2. Patofisiologi Leukemia Mieloblastik Akut

Leukemia sebenarnya merupakan suatu istilah untuk beberapa jenis penyakit yang berbeda-beda dengan manifestasi patofisiologis yang berbeda-beda pula. Mulai dari yang berat dengan penekanan sumsum tulang yang berat seperti pada leukemia akut sampai kepada penyakit dengan perjalanan yang lambat dan gejala ringan (*indolent*) seperti pada leukemia kronik. Pada dasarnya efek patofisiologi berbagai macam leukemia akut mempunyai kemiripan tetapi sangat berbeda dengan leukemia kronik (Pizzo & Poplack, 2015).

Kelainan yang menjadi ciri khas sel leukemia di antaranya termasuk asal mula gugus sel (klonal), kelainan proliferasi, kelainan sitogenetik, dan morfologi, kegagalan diferensiasi, petanda sel, dan perbedaan biokimiawi terhadap sel normal. Terdapat bukti kuat bahwa leukemia akut dimulai dari sel tunggal yang berproliferasi secara klonal sampai mencapai sejumlah populasi sel yang dapat terdeteksi. Meskipun etiologi leukemia pada manusia belum diketahui benar, tetapi pada penelitian mengenai proses leukemogenesis pada binatang percobaan ditemukan bahwa penyebabnya (*agent*) mempunyai kemampuan melakukan modifikasi nukleus DNA, dan kemampuan ini meningkat bila terdapat kondisi genetik tertentu seperti translokasi, amplifikasi, dan mutasi dari suatu mutasi somatik yang mengakibatkan terbentuknya gugus (*clone*) abnormal (Hann *et al.*, 2000).

Dari analisis sitogenetik, isoenism, dan fenotip sel, dapat ditarik kesimpulan bahwa transformasi sel pada LMA dapat terjadi di berbagai tempat pada jalur perkembangan sel induk. Dengan demikian ekspresinya berupa perkembangan gugus sel tertentu (*clone*) dengan akibat dapat terjadi berbagai jenis sel leukemia. Misalnya transformasi leukemia terjadi pada sel induk pluripoten, yang akan mengenai eritrosit dan trombosit, atau terjadi pada gugus sel induk yang telah dijuruskan untuk granulositopoiesis atau monositopoiesis (gambar 2.1) (Ceppi *et al.*, 2009).



Gambar 2.1 Bagan Hematopoiesis Normal dan Leukemia Mieloblastik Akut

(A) Sel punca hematopoiesis berada di atas hierarki membangkitkan progenitor *multipotent* yang kemudian akan menghasilkan turunan progenitor terikat yang pada akhirnya akan menghasilkan berbagai jenis sel darah. (B) LMA diatur sebagai hierarki yang diinisiasi oleh sel punca yang dapat memperbaiki diri sendiri yang akan menghasilkan progenitor leukemia yang pada akhirnya akan menghasilkan sel blas leukemia.

Dikutip dari: Thomas & Majeti, 2017

Evaluasi patologis dari tersangka LMA meliputi penilaian dari morfologi sel blas, imunofenotip, sitogenetik, dan gambaran molekuler. LMA dibedakan dari LLA berdasarkan pada morfologi dan imunofenotip dari sel blas. Temuan pada metafase sitogenetik, *fluorescence in situ hybridization* (FISH), dan studi molekuler penting untuk stratifikasi risiko. Pungsi lumbal dengan analisis LCS merupakan bagian standar dari evaluasi anak-anak yang baru terdiagnosis LMA (Tarlock & Cooper, 2019).

Mieloblas merupakan sel imatur dengan inti yang besar, biasanya dengan inti yang menonjol dan berbagai jumlah sitoplasma biru. Biasanya, blas mieloid memiliki sitoplasma yang lebih banyak dibandingkan blas limfoid dan mungkin terdapat *Auer rods* atau granula (inti). Telah dapat pula dibedakan masing-masing sel leukemia yang termasuk golongan LMA yang berasal dari sel induk granulosit – monosit yang relatif tua (matur) dari sel induk yang lebih muda fenotipnya.

Perbedaan ini mudah dikenali oleh para ahli dan berdasarkan hal ini dibuatlah klasifikasi jenis leukemia yang termasuk golongan LMA dan yang sekarang dianut, adalah klasifikasi morfologik menurut FAB (Perancis, Amerika, Inggris) yang terdiri dari M-0 (leukemia mieloblastik akut dengan diferensiasi minimal), M-1 (leukemia mieloblastik akut tanpa maturasi), M-2 (leukemia mieloblastik akut dengan maturasi), M-3 (leukemia promielositik hipergranuler), M-4 (leukemia mielomonositik akut), M-5 (leukemia monositik akut), M-6 (leukemia eritroblastik (eritroleukemia)), dan M-7 (leukemia megakariositik akut) (IDAI, 2018).

Terbentuknya populasi sel leukemia yang semakin banyak akan menimbulkan dampak buruk bagi produksi sel normal dan faal tubuh, serta dampak karena infiltrasi sel leukemia ke dalam organ tubuh. Kegagalan hematopoiesis normal merupakan akibat yang ditimbulkan oleh leukemia akut, walaupun demikian patogenesisnya masih sedikit diketahui. Tidak selamanya kegagalan hematopoiesis normal terjadi akibat desakan populasi sel leukemia, hal ini terlihat dari beberapa kasus leukemia dengan gejala pansitopenia tetapi justru memiliki sumsum tulang yang hiposeluler (bukan hiperseluler akibat sel leukemia). Kematian pada pasien leukemia akut pada umumnya diakibatkan penekanan sumsum tulang yang cepat dan hebat, akan tetapi dapat pula disebabkan oleh infiltrasi sel leukemia tersebut ke organ tubuh (IDAI, 2018).

2. 1. 3. Gambaran Patologis Leukemia Mieloblastik Akut

2. 1. 3. 1. Imunofenotip

Pemeriksaan *immunophenotyping* yang dilakukan pada anak (yang dicurigai) leukemia berperan untuk memperbaiki kualitas diagnosis yang sebelumnya hanya berdasarkan pada morfologi dan sitokimiawi saja. *Immunophenotyping* sangat bermanfaat dalam membedakan jenis limfoblas sel B dengan sel T, maupun dengan mieloblas. Penentuan LLA atau LMA berdasarkan

morfologi dan sitokimiawi saja kadang menyisakan keraguan pada sejumlah pasien. Dengan pemeriksaan *immunophenotyping* keraguan ini dapat dihilangkan.

Stratifikasi penyakit (risiko tinggi/*high risk* atau risiko biasa/*standard risk*) dan penentuan jenis protokol terapi juga dapat dilakukan dengan lebih tepat (McNeil *et al.*, 2019).

Imunofenotip dari sel tumor dapat ditentukan dengan menggunakan *flow cytometry* atau menggunakan imunohistokimia. Imunofenotip sel tumor dapat secara cepat membedakan antara LMA dan LLA. Hal ini dapat pula menentukan turunan spesifik mieloid namun biasanya tidak menggantikan klasifikasi morfologi FAB. LMA mengekspresikan berbagai petanda meliputi CD11b, CD34, CD33, CD45, CD64, CD117, mieloperoksidase, dan lisozim (McNeil *et al.*, 2019).

Klasifikasi imunofenotip sangat berguna dalam mengklasifikasikan leukemia sesuai tahap-tahap maturasi normal yang dikenal. Kebanyakan kelompok saat ini mengklasifikasikan LLA dalam prekursor sel B atau leukemia sel T. Prekursor sel B termasuk CD19, CD20, CD22, dan CD7A (Hjalgrim *et al.*, 2003).

Karakteristik sel B matur adalah immunoglobulin pada permukaan sel, sementara sel T membawa imunofenotip CD3, CD7, atau CD2. Petanda mieloid spesifik termasuk CD13, CD14, CD33, CD117 dan MPO. Petanda sel B dan atau petanda sel T. Kadang-kadang dapat dideteksi pada konsentrasi rendah. Sel leukemia dapat menunjukkan antigen mieloid dan limfoid pada saat yang bersamaan, leukemia dianggap bifenotip. Batasan bifenotip ini berdasarkan sistem skoring yang diadaptasi dari EGIL (*European Group for the Immunological Classification of Leukemia*) apabila skor mieloid lebih dari 2 dan sekaligus skor limfoid lebih dari 1.

Manfaat lain dari *immunophenotyping* adalah kemampuannya dalam deteksi adanya ekspresi antigen campuran pada LLA antigen campuran yang dimaksud adalah adanya ekspresi antigen mieloid pada LLA (Hjalgrim *et al.*, 2003).

2. 1. 3. 2. Gambaran Genetik

Kelainan sitogenetik dapat dideteksi pada sekitar 75 persen anak-anak dengan LMA. Meskipun banyak kelainan sering dapat dideteksi dengan sitogenetik konvensional, banyak translokasi kriptik membutuhkan *fluorescence in situ hybridization* (FISH) untuk deteksi yang lebih terpercaya. Sejumlah penyimpangan sitogenetik memiliki implikasi terapeutik dan prognostik. Selain *karyotyping* konvensional, fusi spesifik harus dievaluasi menggunakan FISH setidaknya untuk translokasi t(8;21), inv(16), t(15;17), dan 11q23. Pengurutan yang lebih mendalam dapat memberikan profil genomik yang lebih komprehensif, meliputi fusi kriptik yang tidak terdeteksi dengan menggunakan sitogenetik konvensional, dan banyak kelainan yang terdeteksi semakin dapat dikenali karena pentingnya peranannya dalam aspek terapeutik meliputi stratifikasi risiko dan monitoring penyakit (Pui *et al.*, 2004).

Abnormalitas klon kromosom sekarang dapat diidentifikasi pada sebagian besar kasus leukemia anak. Jumlah kromosom (*DNA content*) per sel leukemia dikenali sebagai parameter prognostik yang penting. Pada penyakit leukemia dengan hiperdiploid (>50 kromosom/sel) prognosisnya sangat baik, sebaliknya prognosis buruk pada hipodiploid (<45 kromosom/sel) (IDAI, 2018).

2. 1. 4. Penegakan Diagnosis Leukemia Mieloblastik Akut

Gejala klinis dan pemeriksaan darah lengkap dapat dipakai untuk menegakkan diagnosis leukemia. Gejala dan manifestasi klinis merupakan refleksi dari kondisi sumsum tulang. Pucat, demam, segala bentuk manifestasi perdarahan, sakit otot, sakit tulang serta kelelahan merupakan gejala dan tanda yang bisa kita temukan pada penderita leukemia akut. Perjalanan penyakit untuk bisa menimbulkan manifestasi klinis berlangsung dalam kisaran minggu dan kadang dalam rentang bulan (Pui, 2011).

Gejala yang paling umum terjadi pada LMA hampir serupa dengan LLA.

Pasien dengan LMA dapat mengalami demam, malaise, nyeri pada muskuloskeletal, limfadenopati, hepatosplenomegali dan perdarahan.

Pemeriksaan darah lengkap paling sering menunjukkan anemia dan trombositopenia serta dapat disertai dengan sel darah putih yang menurun, normal, atau meningkat dengan mieloblas leukemia yang tampak pada hapusan darah tepi. Koagulasi intravaskular diseminata dapat muncul dan dapat terjadi mulai ringan hingga berat, khususnya pada beberapa subtype LMA (misalnya leukemia promielositik akut). Lebih jarang anak-anak dapat menunjukkan gejala keterlibatan susunan saraf pusat (SSP) seperti sakit kepala, letargi, perubahan kesadaran, palsy saraf kranial) dan lokasi ekstrapedula lainnya. Gangguan elektrolit yang signifikan dan gagal ginjal akut dapat terjadi, khususnya pada mereka yang memiliki sel darah putih yang tinggi atau beban tumor. Disfungsi hati juga dapat terjadi saat diagnosis (Gamis *et al.*, 2013).

Manifestasi di beberapa organ/sistem organ antara lain meliputi; (1) Manifestasi sistem saraf pusat; (2) Tanda-tanda kenaikan tekanan intrakranial (sakit kepala, papil edema dan letargi); (3) Hemiparese, kejang, ataksia, dismetria, hipotoni, hiperefleksia; (3) Keterlibatan kardiopulmoner: efusi perikard, massa mediastinal; (4) Mediastinum: pembesaran timus, sindrom vena cava superior; (5) Mata: Perdarahan retina; (6) Otot, tulang, dan sendi: sakit pada otot, sendi dan tulang karena infiltrasi sel-sel leukemik (20-30% kasus); (7) Manifestasi pada genital: Kebanyakan terjadi pada anak laki-laki karena adanya infiltrasi sel ke testis. Pada pasien perempuan keterlibatan ovarium bisa terjadi walaupun sangat jarang; (8) Keterlibatan sistem gastrointestinal: yang paling sering terjadi adalah perdarahan gastrointestinal karena trombositopenia (Pui, 2011).

Diagnosis dilakukan dengan pemeriksaan aspirasi sumsum tulang, dan dilengkapi dengan pemeriksaan radiografi dada, cairan cerebrospinal, dan

beberapa pemeriksaan penunjang yang lain. Cara ini dapat mendiagnosis sekitar 90% kasus, sedangkan sisanya memerlukan pemeriksaan lebih lanjut, yaitu sitokimia, sitogenetika, dan biologi molekuler (Pui, 2011).

Pada pemeriksaan darah lengkap didapatkan anemia, kelainan jumlah hitung jenis leukosit dan trombositopenia. Bisa terdapat eosinofil reaktif. Pada pemeriksaan preparat apusan darah tepi didapatkan sel-sel blas. Diagnosis harus dipastikan dengan aspirasi sumsum tulang/*bone marrow aspiration* (BMA) secara morfologis, immunofenotip dan karakter genetik. Leukemia dapat menjadi kasus gawat darurat dengan komplikasi infeksi, perdarahan atau disfungsi organ yang terjadi akibat leukostasis (Pui, 2011).

Pemeriksaan laboratorium meliputi pemeriksaan darah lengkap dan hitung jenis, pemeriksaan kimia darah dengan fungsi hati dan ginjal dan serum elektrolit, glukosa, *prothrombin time* (PT), *activated partial thromboplastin time* (aPTT), fibrinogen, laktat dehidrogenase (LDH), kalsium, magnesium, fosfor, asam urat, albumin dan protein total (Creutzig *et al.*, 2012).

Pungsi lumbal untuk evaluasi SSP. Cairan serebrospinal/*liquor cerebrospinalis* (LCS) harus dikirim untuk hitung sel, protein, glukosa, sitologi. Aspirasi sumsum tulang unilateral dan biopsi aspirasi sumsum tulang akan dapat menentukan morfologi dan imunofenotip untuk diagnosis definitif LMA. Sampel ini dikirim untuk review patologis, imunofenotip, sitogenetik metafase (misalnya *karyotyping*), *fluorescence in situ hybridization* (FISH), begitu pula pemeriksaan molekuler spesifik yang penting untuk menentukan stratifikasi risiko. Pada beberapa kondisi evaluasi imunofenotip menggunakan *flow cytometric* pada hapusan darah tepi dapat digunakan untuk tujuan diagnostik, namun demikian hal ini tidak menggantikan evaluasi sumsum tulang (Creutzig *et al.*, 2012).

Pasien dengan kecurigaan penyakit ekstrapedukula harus dilakukan pemeriksaan radiologi pada area yang dicurigai. Skrining untuk leukemia akut

familial dan sindrom mielodisplastik terdiri dari riwayat keluarga dan medis yang detail yang dimaksudkan untuk mengidentifikasi tanda dan gejala sindrom familial (Creutzig *et al.*, 2012).

Leukemia mieloblastik akut pediatrik merupakan suatu penyakit yang heterogen secara genetik dan berbagai mutasi genetik telah ditetapkan sebagai faktor prognostik dan dapat memiliki implikasi terapeutik. Evaluasi rutin dengan *polymerase chain reaction* (PCR) untuk mutasi yang dapat dideteksi dengan relevansi prognostik meliputi NPM1, CEBPA, FLT3/ITD harus dievaluasi pada diagnosis (Tarlock & Cooper, 2019).

Diagnosis keterlibatan SSP membutuhkan konfirmasi sitologis adanya sel leukemia pada LCS, gejala klinis dari leukemia SSP meliputi palsy saraf fasialis atau keterlibatan otak/mata, atau massa tumor meliputi SSP yang diketahui melalui pemeriksaan radiologis. Positivitas SSP berdasarkan sitologi secara umum didefinisikan sebagai $>5 \times 10^6$ /L sel darah putih pada LCS dengan adanya sel blas pada pungsi lumbal yang tidak terdapat darah (Tarlock & Cooper, 2019).

Kadang-kadang diagnosis LMA diawali dengan *prolonged* preleukemia, biasanya ditunjukkan adanya kekurangan produksi sel darah yang normal sehingga terjadi anemia refrakter, neutropenia, atau trombositopenia. Pemeriksaan sumsum tulang tidak menunjukkan leukemia, tetapi ada perubahan morfologi yang jelas. Kondisi ini sering mengarah pada sindrom mielodisplastik (MDS) dan mempunyai klasifikasi FAB sendiri. Biasanya sumsum tulang menunjukkan hiperseluler, kadang-kadang hipoplastik yang kemudian berkembang menjadi leukemia akut (IDAI, 2018).

Pada saat diagnosis leukemia ditegakkan akan menimbulkan beberapa permasalahan, baik karena tindakan yang invasif maupun kondisi psikologis orang tua atau keluarga. Aspirasi sumsum tulang dan pungsi lumbal dapat menimbulkan nyeri dan ketakutan pada anak dan kekhawatiran pada orang tua, sehingga perlu

penjelasan dan edukasi, pemberian obat penenang dan pendekatan psikologi.

Tindakan tersebut juga perlu dilakukan pada saat mengevaluasi perkembangan penyakit/kemajuan pengobatan, sesuai jadwal yang sudah ditentukan. Edukasi dan pendampingan orang tua pada saat dilakukan tindakan aspirasi sumsum tulang dan pungsi lumbal adalah langkah yang bertujuan untuk mengurangi rasa sakit dan meningkatkan rasa percaya diri. Diagnosis banding leukemia pada anak yang perlu dipikirkan antara lain anemia aplastik, gangguan mioproliferatif, purpura trombositopenia idiopatik, keganasan lain, penyakit reumatologi atau penyakit kolagen vaskular, sindrom hemofagosit familial atau induksi virus, infeksi virus Epstein Barr, infeksi mononukleosis, reaksi leukemoid, dan sepsis (IDAI, 2018).

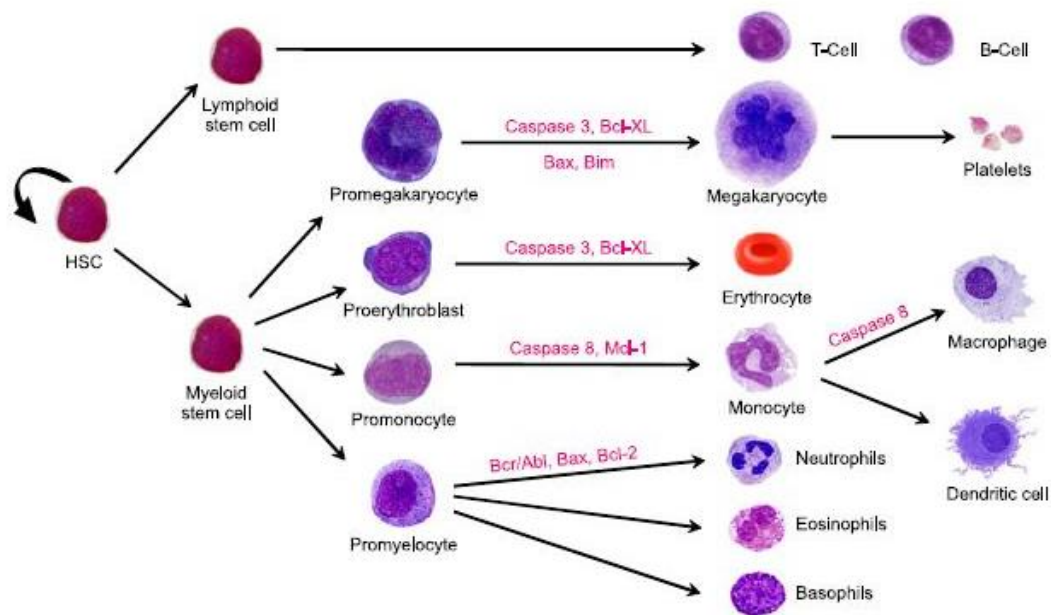
2. 2. Apoptosis Sel

2. 2. 1. Definisi dan Mekanisme Apoptosis Sel

Kematian sel terprogram (apoptosis) merupakan rangkaian kejadian terkontrol dimana ketika diimbangi dengan proliferasi sel akan sangat penting untuk perkembangan normal jaringan dan fungsi sel. Terganggunya keseimbangan ini merupakan faktor yang berkontribusi dalam sejumlah penyakit, seperti gangguan neurodegeneratif, hipertensi paru, dan kanker (Mandegar *et al.*, 2004). Apoptosis terjadi dalam tiga tahapan utama: (1) Kejadian inisiasi ketika sinyal untuk apoptosis sel diterima dan sel mulai mengerut dikarenakan kehilangan volume sel; (2) Fase efektor ketika potensial membran mitokondria menjadi terdepolarisasi, pori-pori transisi mitokondria terbuka dan melepaskan sitokrom C dan molekul besar lainnya dari matriks mitokondria yang berakibat pada aktivasi kaspase; dan (3) Fase terakhir dimana DNA menjadi terdegradasi, badan apoptotik dikeluarkan dari membran plasma, dan sitoskeleton dihancurkan (Burg *et al.*, 2006). Sebagai bagian dari proses ini, fosfatidilserin ditranslokasikan dari bagian dalam membran plasma (sitoplasma) ke bagian luar (permukaan sel)

segera setelah induksi dari apoptosis ("flippage"), dimana protein seperti annexin diketahui berikatan dengan afinitas yang tinggi. Fenomena *flippage* ini digunakan dalam tes diagnostik untuk apoptosis (Smith *et al.*, 2009).

Apoptosis merupakan kejadian fisiologis, tempat sel berperan secara aktif dalam proses kehancuran di dalam dirinya sendiri. Apoptosis berperan penting untuk berbagai penyakit, terutama yang terkait keganasan. Protein yang telah terbukti berperan dalam proses apoptosis antara lain: p53, MDM2, Bax, Bcl-2, survivin dan kaspase-3. Setiap molekul tersebut ada yang berperan memicu kematian sel dan ada juga yang berperan sebaliknya untuk menekan jalannya apoptosis (gambar 2.2) (Menendez *et al.*, 2004).



Gambar 2.2 Tahapan Utama Dalam Hematopoiesis

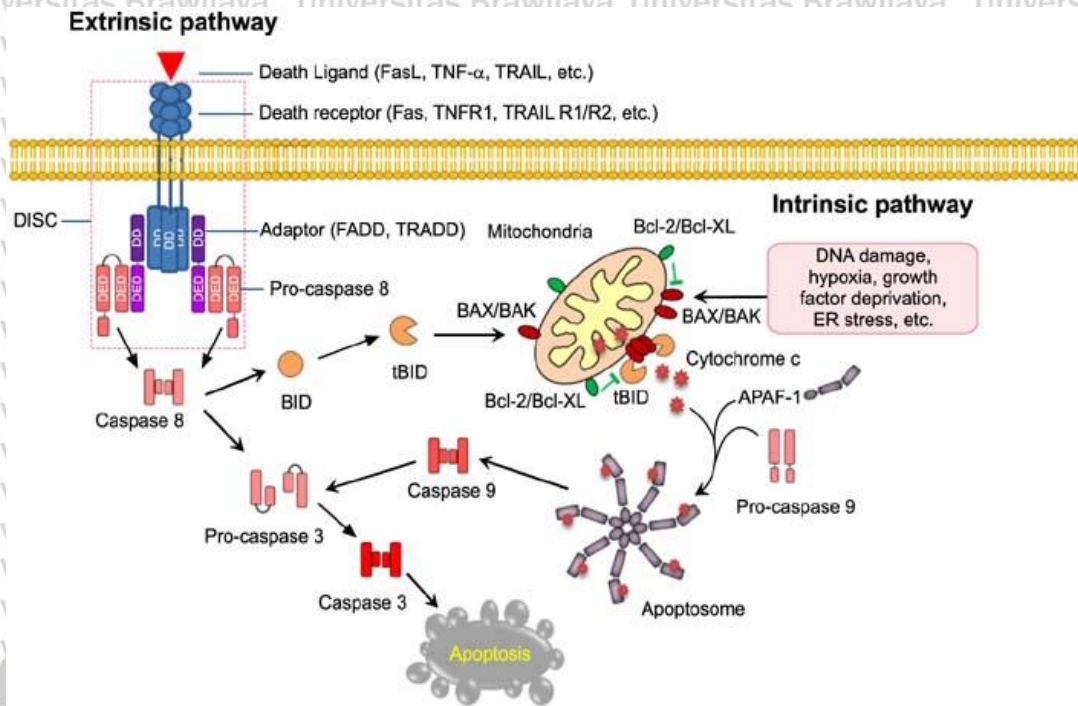
Berbagai kaspase dan faktor apoptosis terlibat dalam pembentukan sel mieloid. Apoptosis merupakan mekanisme utama yang digunakan oleh sistem hematopoiesis untuk mengatur produksi sel darah. Faktor-faktor tersebut terdiri dari faktor proapoptosis dan antiapoptosis. Dikutip dari: Sarvothaman *et al.*, 2015

Studi pendahuluan yang dilakukan oleh Kerr *et al.* pada tahun 1970 mengidentifikasi sel apoptosis berdasarkan morfologi khasnya. Sel yang mengalami apoptosis menunjukkan gambaran karakteristik meliputi pengelilingan

dan penarikan sel, kondensasi inti, fragmentasi inti dan pelepasan plasma membran seiring dengan pemeliharaan integritas membran plasma hingga akhir proses. Gambaran karakteristik dari apoptosis sel ini merupakan konsekuensi aktivasi dari golongan protease yang disebut kaspase. Selama aktivasi apoptosis, kaspase menargetkan ratusan substrat protein untuk proteolisis, bagian spesifik yang menghasilkan karakteristik fenotip apoptosis. Akhirnya, kematian apoptosis sel berakibat pada penghancuran terkontrol dari sel dan pembentukan badan apoptosis. Fagosit memainkan peranan penting untuk membedakan antara sel sehat dan apoptosis yang secara cepat menelan pada tahap akhir untuk memastikan arus pelepasannya dan menghalangi kemungkinan terjadinya kebocoran isi sel (Luthi & Martin, 2007; Taylor *et al.*, 2008).

2. 2. 2. Peranan Apoptosis Sel Dalam Kemoterapi

Studi penelitian *in vitro* terbaru berdasarkan pada resistensi kemoterapi telah memperbaharui fokus pada peranan jalur apoptosis dalam stratifikasi risiko dan tatalaksana pasien leukemia. Agen kemoterapi dipercaya kuat bekerja terutama dengan menginduksi kematian sel kanker melalui aktivasi bermacam-macam jalur pensinyalan apoptosis. Pada leukemia proses apoptosis terjadi baik secara spontan dan diinduksi oleh terapi antitumor. Pada tingkat seluler, apoptosis diatur oleh dua jalur pensinyalan: (1) jalur ekstrinsik yang dimediasi oleh reseptor, dan (2) jalur intrinsik yang dimediasi oleh mitokondria (gambar 2.3) (Taylor *et al.*, 2008).



Gambar 2.3 Jalur Ekstrinsik dan Intrinsik dari Apoptosis

Jalur ekstrinsik diinisiasi oleh ligase dari reseptor kematian dengan ligan kematian. Interaksi ini menghasilkan pembentukan *death inducing signalling complex* (DISC), yang berisi reseptor kematian, sebuah molekul adaptor, dan pro kaspase 8. Molekul adaptor memiliki *death domain* (DD) dan sebuah *death effector domain* (DED). Pada DISC, kaspase 8 secara auto katalis diaktivasi dan secara berurutan mentransmisi sinyal kematian kepada kaspase pengeksekusi efektor, berakibat pada kematian sel apoptosis. Jalur intrinsik mensinyalkan aliran yang dicetuskan oleh sejumlah faktor, meliputi kerusakan DNA, hipoksia, kehilangan faktor pertumbuhan, dan stres retikulum endoplasma. Sinyal kematian dirasakan awalnya oleh protein BH-3, yang berinteraksi dengan mediator *downstream* dari apoptosis (BAX dan BAK). BAX dan BAK melalui perubahan konformasional yang jelas, yang mengacu pada pembentukan pori-pori mitokondria atau peningkatan permeabilitas dari membran luar mitokondria, dengan demikian melepaskan kompleks heptamerik, yang kemudian merekrut dan mengaktifasi pro-kaspase 9. Akhirnya, kaspase 9 mengaktifasi kaspase efektor (kaspase 3, 6, atau 7) dan menyebabkan terjadinya apoptosis.

Dikutip dari: Sarvothaman *et al.*, 2015

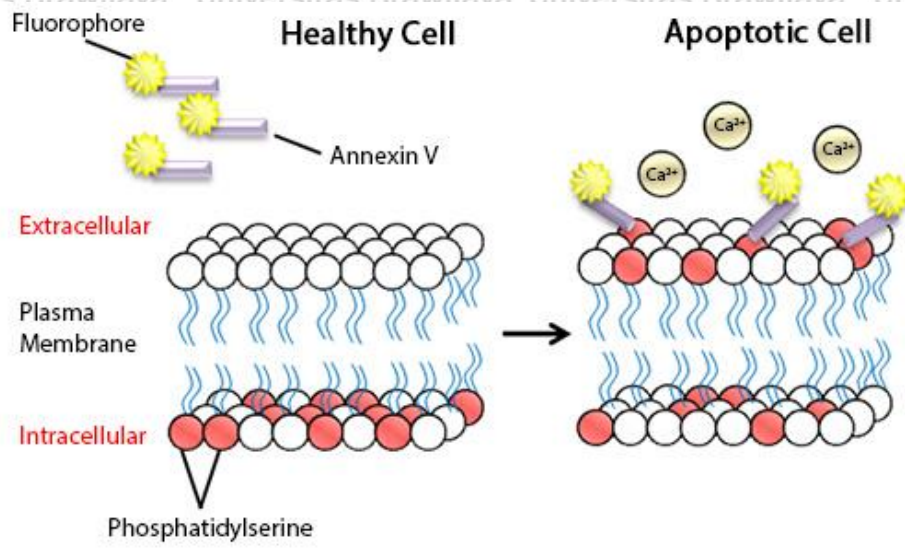
Kerentanan sel terhadap apoptosis bergantung pada ekspresi relatif dari molekul pro apoptosis (Bax, Bcl-10, Bak, Bid, Bad, Bim, Bik, dan NIK) dan anti apoptosis (Bcl-2, Bcl-x, Bcl-XL, Bcl-XS, Bcl-w, BAG, MCL-1). Melalui studi *in vitro*, telah ditunjukkan bahwa defek fungsional pada pensinyalan apoptosis bertanggung jawab untuk resistensi kemoterapi dan kegagalan terapi pada leukemia akut (Llambi & Green, 2011).

Mekanisme dimana fagosit secara selektif mengenali sel apoptosis tidak sepenuhnya dipahami. Namun demikian, perubahan membran plasma merupakan dasar dari proses ini. Beberapa studi menunjukkan bahwa fosfatidilserin, suatu fosfolipid yang secara normal berada pada bagian dalam dari membran plasma, penting untuk pengenalan sel apoptosis oleh fagosit. Biasanya fosfatidilserin secara aktif berada pada bagian dalam dari membran plasma melalui aksi dari translokasi aminofosfolipid dan perputaran yang bergantung pada kalsium.

Selama menerima sinyal proapoptosis, fosfatidilserin ditransportasikan dari bagian dalam ke bagian luar dari membran plasma, dimana hal ini memberikan sinyal sebagai petanda awal dari apoptosis (Taylor *et al.*, 2008).

Translokasi fosfatidilserin dari bagian dalam membran plasma menuju permukaan luar adalah ciri khas perubahan awal dari apoptosis sel yang terjadi sebelum kehilangan integritas membran sel. Selama respon patofisiologis, perubahan-perubahan tertentu pada komposisi membran dan kehilangan dari asimetris membran dapat dijumpai berulang. Gambaran yang menonjol adalah translokasi fosfatidilserin, dimana pada sel yang viable terletak dalam permukaan yang menghadap sitosol dari membran plasma, hingga pada permukaan yang menghadap keluar pada membran sel apoptosis (Kenis *et al.*, 2004). Pada kondisi adanya Ca^{2+} , fosfatidilserin merupakan ligan berafinitas tinggi untuk annexin dan ikatan fosfatidilserin dependen Ca^{2+} merupakan sifat dasar dari golongan annexin (Kenis *et al.*, 2007). Untuk annexin V, nilai 5×10^{-10} Kd pada kondisi terdapatnya Ca^{2+} menekankan selektifitas tinggi preferensinya terhadap fosfatidilserin dibandingkan fosfolipid bermuatan negatif lainnya, dan spesifisitasnya adalah alasan dibalik penggunaan yang luas dari annexin V untuk identifikasi apoptosis sel, contohnya dalam penggunaan pada *flow cytometry* (Fadok & Henson, 2003; Boersma *et al.*, 2005).

Annexin V adalah suatu protein yang berikatan dengan fosfolipid dan dependen kalsium dengan afinitas yang tinggi untuk fosfolipid fosfatidilserin (Gambar 2.4) (van Heerde *et al.*, 2000). Analisis *flow cytometric* menggunakan ikatan annexin V dari translokasi fosfatidilserin adalah suatu uji kuantitatif sensitif untuk deteksi apoptosis sel dini. Kekurangannya adalah ikatan antara annexin V terhadap apoptosis sel bahkan dalam kondisi nekrosis berlebihan. Pemeriksaan ini sering digunakan bersamaan dengan pewarna vital seperti 7-amino-actinomycin atau propidium iodida yang berikatan dengan asam nukleat, tetapi hanya dapat melakukan penetrasi pada membran plasma ketika integritas membran terganggu seperti yang terjadi pada tahap selanjutnya dari apoptosis atau nekrosis. Hanya sel positif untuk annexin V dan negatif untuk propidium iodida yang dianggap sebagai sel apoptosis sejati, Indeks apoptosis dapat dihitung sebagai jumlah sel yang mengalami apoptosis dibagi dengan jumlah total sel yang diperiksa sebagai persentase selama interval waktu sebelum terapi (indeks apoptosis H-0) dan setelah terapi (indeks apoptosis H-35) (Kaparou *et al.*, 2013).



Gambar 2.4 Ikatan Annexin V dan Fosfatidilserin

Pada sel yang *viabile*, fosfatidilserin terletak pada bagian dalam membran plasma. Sel yang mengalami apoptosis awal akan kehilangan asimetris membran ketika fosfatidilserin bertranslokasi menuju permukaan luar. Petanda annexin V dapat digunakan untuk secara spesifik menargetkan dan mengidentifikasi sel yang berikatan pada tahap awal apoptosis. Dikutip dari: Ferhat, 2017

Prinsip dari metode deteksi apoptosis ini adalah bahwa annexin V, suatu protein yang merupakan bagian dari keluarga annexin yang terdapat pada 12 jenis vertebrata memiliki struktur dan fungsi yang mirip, dapat secara spesifik mengenali dan berikatan terhadap bagian fosfatidilserin dengan adanya Ca^{2+} . Protein tersebut memiliki pori hidrofilik yang sangat menonjol berhubungan dengan kanal spesifik kalsium, dan lima situs ikatan kalsium-besi yang teridentifikasi. Ketika molekul fosfatidilserin yang secara normal berada pada membran bagian dalam dikeluarkan pada lingkungan eksternal dari sel yang apoptosis, interaksi antara annexin V dan fosfatidilserin pun terjadi. Namun demikian, eksternalisasi fosfatidilserin tidak dapat terjadi pada sel yang sehat maupun sel yang nekrosis (Willems *et al.*, 2000; Richter *et al.*, 2005).

Penelitian yang dilakukan oleh Pepper, Hoy, dan Bentley pada tahun 1997 menunjukkan adanya kenasaban positif kuat antara jumlah keseluruhan angka banding protein apoptosis terhadap terjadinya apoptosis dini (jumlah antara

AnV+PI- dengan AnV+Mito-) dengan $p=0,009$ dan $R=0,991$. Petanda AnV+PI- menunjukkan persentase kelompok sel yang mengekspresikan annexin V tanpa mengekspresikan propidium iodida, kondisi ini terdapat pada sel yang berada pada tahap apoptosis dini. Apoptosis dini dapat ditandai dengan ekspresi fosfatidilserine pada bagian luar membran sel tanpa adanya kerusakan membran inti atau fragmentasi DNA. Ekspresi fosfatidilserine sendiri dapat dideteksi menggunakan petanda annexin V, sedangkan kerusakan membran inti sel dapat dikenali dengan petanda propidium iodida (Pepper *et al.*, 1997).

Chilmi *et al.* meneliti mengenai protein terkait apoptosis pada leukemia limfoblastik akut pada tahun 2014. Hasil penelitian pada analisis statistik menunjukkan adanya kenasaban positif kuat antara jumlah keseluruhan angka banding protein apoptosis terhadap terjadinya apoptosis dini (jumlah antara AnV+PI- dengan AnV+Mito-) dengan $p=0,009$ dan $R=0,991$ (Chilmi *et al.*, 2014).

Petanda AnV+PI- menunjukkan persentase kelompok sel yang mengekspresikan annexin V tanpa mengekspresikan *propidium iodide*, kondisi ini terdapat pada sel yang berada pada tahap apoptosis dini. Apoptosis dini dapat ditandai dengan ekspresi fosfatidilserin pada bagian luar membran sel tanpa adanya kerusakan membran inti atau fragmentasi DNA. Ekspresi fosfatidilserin sendiri dapat dideteksi menggunakan petanda annexin V, sedangkan kerusakan membran inti sel dapat dikenali dengan petanda *propidium iodide* (Chilmi *et al.*, 2014).

Petanda AnV+Mito- menunjukkan ekspresi annexin V (ekspresi fosfatidilserin) tanpa adanya aktivitas respirasi mitokondria (membran mitokondria mengalami depolarisasi). *Mitotracker RedCMOS* merupakan petanda kimiawi adanya aktivitas respirasi mitokondria yang menunjukkan adanya kehidupan sel. Apoptosis dini dapat juga digambarkan dengan ekspresi fosfatidilserin pada bagian luar membran sel dan adanya penurunan aktivitas respirasi mitokondria,

hal ini sesuai dengan mekanisme apoptosis melalui jalur intrinsik (Chilmi *et al.*, 2014).

Jumlah keseluruhan persentase petanda apoptosis dini menggunakan AnV+PI- dan AnV+Mito- dapat menggambarkan persentase jumlah keseluruhan sel yang mengalami apoptosis dini. Perbandingan angka banding antara protein proapoptosis dan antiapoptosis dengan petanda apoptosis dini diharapkan dapat menggambarkan peranan protein tersebut terhadap kerentanan apoptosis dini sel LLA pada kondisi *in vitro*. Sedangkan hubungan antara jumlah keseluruhan angka banding protein apoptosis terhadap petanda apoptosis AnV+PI- tidak bermakna ($p=0,284$) dan terhadap petanda apoptosis AnV+Mito- juga demikian ($p=0,09$). Hal ini menunjukkan bahwa protein proapoptosis dan protein antiapoptosis bekerja secara sinergis dalam memicu perjalanan apoptosis (Chilmi *et al.*, 2014).

Meskipun petanda apoptosis AnV+Mito- tidak bermakna secara statistik, tetapi nilai p -nya ($p=0,09$) lebih mendekati kemaknaan $p=0,05$ daripada petanda AnV+PI- ($p=0,284$). Hal ini menunjukkan bahwa perjalanan apoptosis yang terjadi mungkin baru sebatas disfungsi mitokondria dan belum mengalami kematian sel secara struktural (kerusakan membran inti) (Chilmi *et al.*, 2014).

Pada penelitian yang dilakukan oleh Tanzilia *et al.* pada tahun 2017 yang meneliti sel CD4+, CD8+, rasio CD4+/CD8+ dan apoptosis sebagai respon terhadap fase induksi kemoterapi pada LLA dengan menggunakan petanda annexin V didapatkan hasil bahwa apoptosis tidak menurun secara signifikan setelah kemoterapi ($p=0,689$). Perbandingan apoptosis dilakukan pada pasien LLA dan subjek kontrol yang sehat. Tidak didapatkan perbedaan yang signifikan pada apoptosis antara kedua kelompok baik sebelum maupun setelah kemoterapi (Tanzilia *et al.*, 2017).

2. 3. Tata Laksana Leukemia Mieloblastik Akut

Penanganan leukemia meliputi kuratif dan suportif. Penanganan suportif meliputi pengobatan penyakit lain yang menyertai leukemia dan pengobatan komplikasi antara lain berupa pemberian transfusi darah/trombosit, pemberian antibiotik, pemberian obat untuk meningkatkan granulosit, obat anti jamur, pemberian nutrisi yang baik, dan pendekatan aspek psikososial (IDAI, 2018).

Terapi kuratif/spesifik bertujuan untuk menyembuhkan leukemianya berupa kemoterapi yang meliputi induksi remisi, intensifikasi, profilaksis susunan saraf pusat dan rumatan. Klasifikasi risiko normal atau risiko tinggi, menentukan protokol kemoterapi. Saat ini di Indonesia sudah memakai protokol nasional untuk mengobati leukemia akut ini baik LLA maupun LMA (IDAI, 2018).

2. 3. 1. Kemoterapi

Regimen kemoterapi pada anak-anak dan remaja terdiri dari dua bagian utama yaitu kemoterapi induksi intensif diikuti dengan konsolidasi dengan dasar sitarabin atau transplantasi sel hematopoiesis. Anak-anak dan remaja dengan LMA harus ditatalaksana secara klinis. Kemoterapi induksi standar terdiri dari antrasiklin (donorubisin, idarubisin, atau antrasenedion mitosantron) dan paparan lanjut dari sitarabin. Pada beberapa regimen ditambahkan obat ketiga seperti etoposide at 6-thioguanine. Namun demikian, keuntungan dari agen tambahan ini belum terbukti.

Tingkat remisi komplit setelah induksi dicapai lebih dari 70 persen menggunakan regimen ini (Gamis *et al.*, 2013).

Setelah fase induksi, kebanyakan dari regimen pediatrik menggunakan fase tambahan untuk kemoterapi intensif untuk konsolidasi dan memperoleh remisi komplit. Regimen konsolidasi harus menggunakan sitarabin dosis tinggi seperti yang telah dilakukan oleh berbagai percobaan telah menunjukkan bahwa anak-anak yang mengalami kemungkinan yang lebih rendah terhadap terjadinya risiko

relaps dengan menggunakan sitarabin dosis tinggi pada fase konsolidasi (Tsukimoto *et al.*, 2009). Tiga tahapan konsolidasi tidak lebih baik dibandingkan dua tahapan. Keputusan untuk melanjutkan dengan transplantasi sel hematopoiesis (TSH) alogenik setelah konsolidasi harus seimbang dengan risiko relaps dengan peningkatan risiko mortalitas dan morbiditas dari transplanstasi sel hematopoiesis. Transplantasi sel hematopoiesis ditawarkan pada anak-anak dengan sitogenetik risiko tinggi pada remisi komplit pertama. Pasien dengan gambaran penyakit risiko yang lebih baik seperti t(8;21) dan inv(16) tidak perlu ditransplantasi pada remisi komplit pertama. Anak-anak yang ditatalaksana untuk keganasan lain dengan kemoterapeutik (khususnya agen pengalkilasi seperti siklofosamid dan epipodofilotoksin etoposide) dan radioterapi berisiko untuk terjadinya LMA sebagai akibat dari tatalaksana sebelumnya dan harus menerima transplantasi sel hematopoiesis konsolidasi sebagai bagian dari tatalaksananya (Rihani *et al.*, 2010).

Baik transplantasi sel hematopoiesis autologus maupun alogenik telah dipertimbangkan dalam LMA pediatrik sebagai suatu strategi untuk meningkatkan angka keberlangsungan hidup pasien. Tidak ada keuntungan yang ditunjukkan dari transplantasi sel hematopoiesis autologus dibandingkan dengan kemoterapi nonmyeloablatif pada anak-anak dengan LMA yang telah mencapai remisi (Oliansky *et al.*, 2007). Peranan dari TSH alogenik pada anak-anak dan remaja dengan LMA masih menjadi area penelitian yang masih diteliti sampai saat ini dan tidak ada kesepakatan bersama di antara para ahli. Ketika dibandingkan dengan kemoterapi sendiri, TSH alogenik pos remisi dihubungkan dengan risiko relaps yang lebih rendah pada beberapa studi. Namun demikian ketika diaplikasikan pada seluruh pasien hal ini tidak selalu meningkatkan tingkat harapan hidup. Kesenjangan ini mungkin disebabkan mortalitas yang lebih tinggi dari TSH alogenik yang berhubungan dengan terapi (Creutzig *et al.*, 2012).

Tatalaksana SSP dengan kemoterapi intratekal harus diberikan pada semua anak-anak dan remaja dengan LMA, meliputi anak-anak yang pada diagnosisnya tidak terdapat keterlibatan SSP. Terapi intratekal menggunakan berbagai regimen tergantung dari protokolnya. Agen tunggal sitarabin yang umumnya digunakan, namun beberapa protokol menggunakan tiga terapi yang terdiri dari sitarabin, metotreksat, dan hidrokortison. Meskipun iradiasi kranial efektif dalam mencegah leukemia SSP namun sebaiknya tidak digunakan sebagai profilaksis dikarenakan risiko dari efek jangka panjang meliputi defisit kognitif, defisit endokrin, dan malignansi sekunder. Penggunaan sitarabin dosis tinggi sebagai terapi sistemik yang dapat menembus sawar darah otak dapat berfungsi sebagai terapi SSP tambahan. Jumlah tatalaksana profilaksis intratekal yang optimal masih belum diketahui, kebanyakan regimen dan percobaan klinis menggunakan setidaknya satu dosis dari masing-masing terapi (Chow *et al.*, 2013).

Keterlibatan SSP terjadi pada 5 hingga 10 persen anak-anak dengan LMA saat diagnosis. Faktor risiko berhubungan dengan keterlibatan SSP meliputi usia <2 tahun, hitung sel darah putih yang tinggi, hepatosplenomegali, t(8;21), inv(16), atau t(16;16). Pasien dengan keterlibatan SSP membutuhkan terapi SSP langsung tambahan. Positivitas SSP saat diagnosis bukan merupakan faktor prognosis yang memperburuk bagi anak-anak dengan LMA, dan dengan terapi langsung SSP intensif tidak mempengaruhi angka harapan hidup. Kemoterapi intratekal yang sering dikombinasikan dengan kemoterapi sistemik intensif meliputi sitarabin dosis tinggi dapat seefektif iradiasi kranial pada pasien dengan keterlibatan SSP dan radiasi tidak diperlukan (Johnston *et al.*, 2012).

Pasien dinyatakan remisi komplisit apabila tidak ada keluhan dan bebas gejala klinis leukemia, pada aspirasi sumsum tulang didapatkan jumlah sel blas <5% dari sel berinti, hemoglobin >12 g/dL tanpa transfusi, jumlah leukosit >3000

/uL dengan hitung jenis leukosit normal, jumlah granulosit >2000/uL, jumlah trombosit >100000 /uL, dan pemeriksaan cairan serebrospinal normal (IDAI, 2018).

Terapi intensif modern menyebabkan remisi akan tercapai pada 98% pasien. 2-3% dari pasien anak akan meninggal dalam *continuous complete remission* (CCR) dan 25-30% akan kambuh. Sebab utama kegagalan terapi adalah kambuhnya penyakit. Relaps sumsum tulang terjadi dalam 18 bulan sesudah diagnosis memperburuk prognosis (10-20% *long-time survival*) sementara relaps yang terjadi kemudian setelah penghentian terapi mempunyai prognosis lebih baik, khususnya relaps testis dimana *long-time survival* 50-60%.

Terapi relaps harus lebih agresif untuk mengatasi resistensi obat (IDAI, 2018).

Tiga puluh tahun yang lalu, hampir setiap anak dengan LMA meninggal dan tidak ada kelompok yang teridentifikasi. Saat ini gambaran survival hidup lebih dari 40% dilaporkan pada banyak studi. Perubahan terjadi pada tahun 70-an dengan dikenalkan sitarabin (Ara-C) dan antrasiklin. Dengan kombinasi obat yang berbeda remisi bisa berpengaruh pada 75-85% anak, namun tanpa terapi lebih lanjut kebanyakan anak-anak relaps dalam 1 tahun. Di Indonesia sudah mempunyai protokol nasional untuk mengobati LMA. Sebuah studi pendahuluan yang dilakukan di RS Dr. Sardjito pada tahun 2017, membandingkan protokol nasional ini dibandingkan dengan protokol sebelumnya dengan hasil kesintasan di protokol nasional sebesar 16% dibanding protokol sebelumnya sebesar 5% ($p=0,04$) (IDAI, 2018).

Perhatian psikologis dan kebutuhan untuk menangani pasien dan seluruh keluarga pada suatu lingkungan adalah suatu keharusan. Kualitas remisi harus diperbaiki dengan terapi konsolidasi intensif, namun intensitas remisi juga bisa mempengaruhi hasil dari tipe terapi konsolidasi yang digunakan. Tiga metode terapi konsolidasi adalah kemoterapi sendiri, transplantasi sumsum tulang

autologus, atau transplantasi alogenkik dari donor dengan HLA yang identik masih merupakan yang terbaik untuk kesembuhan (IDAI, 2018).

2. 3. 2. Prognosis dan Respon Terhadap Induksi Kemoterapi

Awalnya prognosis pasien LMA ditentukan oleh beberapa faktor penjamu dan penyakit tertentu seperti jumlah sel darah putih dan usia, namun saat ini terdapat lebih banyak faktor yang mempengaruhi luaran dari LMA, sedangkan banyak fator prognostik sebelumnya yang telah kehilangan signifikansinya dengan terapi modern. Selama 10 hingga 15 tahun terakhir, kemajuan yang pesat dalam mengidentifikasi faktor risiko sitogenetik dan molekuler pada terapi LMA telah memberikan wawasan baru ke dalam heterogenitas penyakit yang dapat mendasari berbagai respon (Radhi *et al.*, 2010).

Berdasarkan prognosis yang ada maka pasien dapat digolongkan ke dalam kelompok risiko biasa dan risiko tinggi. Para ahli telah melakukan penelitian dan membuktikan faktor prognostik itu ada hubungannya dengan resistensi obat *in vitro*. Faktor prognostik LMA antara lain; (1) Umur saat diagnosis. Pengalaman beberapa peneliti menunjukkan bahwa bayi mempunyai prognosis lebih baik; (2) Leukosit tinggi; (3) FAB M3 (promielositik leukemia) bereaksi pada asam retinoik, sebaiknya diterapi dengan kombinasi vitamin dan kemoterapi; (4) Anak-anak dengan sindrom down terdapat pada 10% kasus. Sebagian besar merupakan FAB M7 dan mempunyai respon baik dengan kemoterapi. Translokasi kromosom adalah faktor penting. Prognosis baik berhubungan dengan t(8;21), t(15;17), dan inversi 16. Ploidi juga mempengaruhi prognosis; (5) Respon awal terhadap terapi (IDAI, 2018).

Beberapa faktor penjamu, meliputi usia, jenis kelamin, ras, indeks massa tubuh (IMT), dan polimorfisme penjamu, telah diimplikasikan dalam luaran penyakit (Lange *et al.*, 2005). Perbedaan ras telah terbukti berhubungan dengan

luaran penyakit ketika pasien ras Afrika Amerika memiliki luaran yang lebih buruk dibandingkan dengan ras kulit putih. Studi ini dikonfirmasi pada studi lain, menunjukkan bahwa tingkat kesintasan yang buruk terutama disebabkan oleh angka kekambuhan yang tinggi. Mekanisme yang mendasari untuk resistensi penyakit belum sepenuhnya dapat dijelaskan namun diperkirakan disebabkan polimorfisme pada penjamu. Beberapa studi menunjukkan bahwa polimorfisme pada gen terlibat dalam metabolisme obat, perbaikan DNA, atau regulasi perkembangan hematopoiesis yang dapat berkontribusi terhadap berbagai respon pada terapi. Tidak adanya fenotip enzim S-transferase menunjukkan pengaruh terhadap kesintasan melalui toksisitas berlebih. Penelitian terbaru menunjukkan adanya polimorfisme pada gen tumor Wilm's berhubungan dengan luaran yang lebih baik (Aplenc *et al.*, 2006; Rubnitz *et al.*, 2007; Damm *et al.*, 2010).

Sebaliknya pada IMT pasien dengan jelas menunjukkan pengaruh terhadap luaran LMA. Pada analisis retrospektif yang dilakukan oleh Lange *et al.* menunjukkan bahwa baik anak dengan berat badan lebih dan berat badan kurang yang ekstrim memiliki tingkat kesintasan yang lebih rendah dibandingkan dengan anak dengan rentang IMT persentil 11 hingga 94. Penyebab yang mungkin berkontribusi pada luaran yang lebih buruk ini meliputi kematian yang berhubungan dengan terapi saat awal, yang kebanyakan disebabkan oleh infeksi.

Penelitian terdahulu menyatakan bahwa pasien LMA kurang dari 1 tahun memiliki luaran yang buruk, namun studi terbaru menunjukkan bahwa pasien LMA dengan usia lebih muda memiliki tingkat kesintasan yang lebih baik dibandingkan pasien dengan usia lebih tua dikarenakan tingkat kekambuhan yang lebih rendah (Chessells *et al.*, 2002; Lange *et al.*, 2005).

Respon terhadap induksi terapi merupakan faktor prognostik utama pada LMA. Faktor kuat ini tercantum dalam rekomendasi awal dan revisi dari *International Working Group on Acute Myeloid Leukemia*. Respon terhadap terapi

biasanya berdasarkan pada pemeriksaan morfologi dari sumsum tulang, namun metode ini memiliki keterbatasan dalam mendeteksi MRD (*minimal residual disease*) yang dapat mempengaruhi prognosis. Metode terbaru meliputi metode berdasarkan pada multiparameter *flow cytometry* dan *polymerase chain reaction* (PCR) menunjukkan hasil lebih sensitif (Grimwade & Hills, 2009).

Dampak dari respon terapi terhadap tingkat kesintasan dan kekambuhan ditunjukkan pada penelitian yang dilakukan oleh *Medical Council Research* (MCR) LMA 10 *trial* pada pasien berusia 0-55 tahun dengan jumlah sampel sebesar 1711. Studi tersebut menyatakan bahwa pasien dengan 5% hingga 15% sel blas (remisi parsial) setelah induksi kemoterapi pertama memiliki luaran yang lebih baik dibandingkan pasien dengan 15% hingga 20% sel blas yang memiliki luaran yang sama buruknya dengan pasien dengan lebih dari 20% sel blas. Hal yang terpenting bahwa pasien dengan remisi parsial memiliki tingkat remisi yang tinggi (89%) setelah induksi kemoterapi kedua (INDII) yang menyebabkan *overall survival* (OS) pada pasien remisi parsial yang hanya terpaut sedikit lebih rendah dibandingkan pasien dengan remisi komplit dan memiliki luaran yang sama apabila mencapai remisi setelah INDII, sedangkan pasien dengan penyakit yang resisten (>15% sel blas) memiliki prognosis yang sangat buruk bahkan apabila mereka mencapai remisi setelah INDII (Radhi *et al.*, 2010).

Beberapa pasien tidak memiliki kelainan sitogenetik dan molekuler sebagai nilai prognostik, dengan demikian diklasifikasikan sebagai risiko intermediet. Pada kelompok pasien ini, faktor prognostik yang paling penting adalah respon penyakit terhadap terapi induksi, meliputi penilaian residu penyakit terukur atau sering pula disebut dengan *minimal residual disease* (MRD) dengan menggunakan *flow cytometric* (van der Valden *et al.*, 2010).

Dikatakan MRD negatif apabila anak-anak tersebut memperoleh remisi setelah induksi pertama (didefinisikan dengan tidak adanya MRD yang terdeteksi

pada *flow cytometric*). Kelompok ini memiliki kemungkinan 65 persen lebih tinggi untuk bebas kekambuhan. Seorang anak dikatakan MRD positif apabila penyakit terdeteksi dengan *flow cytometric* setelah menjalani induksi. Hal ini menunjukkan prognosis yang lebih buruk dengan risiko kekambuhan diperkirakan 60 persen.

Diantara anak-anak dengan gambaran sitogenetik dan molekuler yang diharapkan dan tidak diharapkan, peranan MRD pada akhir fase induksi belum ditunjukkan memiliki signifikansi prognostik (Loken *et al.*, 2012).

Pada penelitian yang dilakukan di India oleh Seth *et al.* mengenai tingkat kesintasan anak dengan LMA dinyatakan bahwa faktor prognostik seperti jumlah leukosit yang tinggi $\geq 50.000/\text{mm}^3$ dan trombosit $\leq 10.000/\text{mm}^3$ memiliki rasio bahaya yang tinggi pada penderita LMA namun tidak signifikan secara statistik (Seth *et al.*, 2017). Schmiegelow *et al.* pada tahun 2016 melakukan studi pada anak-anak dengan leukemia limfoblastik akut dan menyimpulkan bahwa ANC yang rendah berhubungan dengan risiko terjadinya relapse pada pasien dengan LLA hal ini berkaitan dengan pemberian kemoterapi yang tidak optimal (Schmiegelow *et al.*, 2016).

Studi yang dilakukan di Semarang pada tahun 2018 mengenai hubungan antara parameter hematologi (hemoglobin, leukosit, trombosit, dan ANC) dan induksi remisi pada pasien LMA anak menyimpulkan bahwa nilai $\text{ANC} \leq 500$ berhubungan secara signifikan dengan angka remisi yang lebih rendah dibandingkan dengan nilai ANC yang lebih tinggi (> 500) (Perdani & Sudarmanto, 2018). Chang *et al.* melakukan studi di Pakistan mengenai profil hematologis pada 107 pasien dengan leukemia mieloblastik akut yang baru terdiagnosis. Dari penelitian ini didapatkan sebanyak 84,1% pasien mengalami leukositosis, 6,5% pasien leukopenia, 45,8% anemia, 27,1 % pasien dengan hemoglobin normal, 96,3% dengan trombositopenia, dan 3,7% pasien dengan trombosit normal.

Anemia disebabkan oleh infiltrasi dari sumsum tulang dan penurunan produksi dan

kadang kala menurunkan masa hidup eritrosit dan destruksi autoimun.

Hiperleukositosis pada pasien LMA secara signifikan berhubungan dengan angka kematian yang tinggi selama minggu pertama terapi dibandingkan dengan pasien dengan pasien dengan leukosit normal. Sedangkan trombositopenia sebagai manifestasi yang telah diketahui pada leukemia berhubungan dengan kejadian perdarahan pada pasien (Chang *et al.*, 2016).

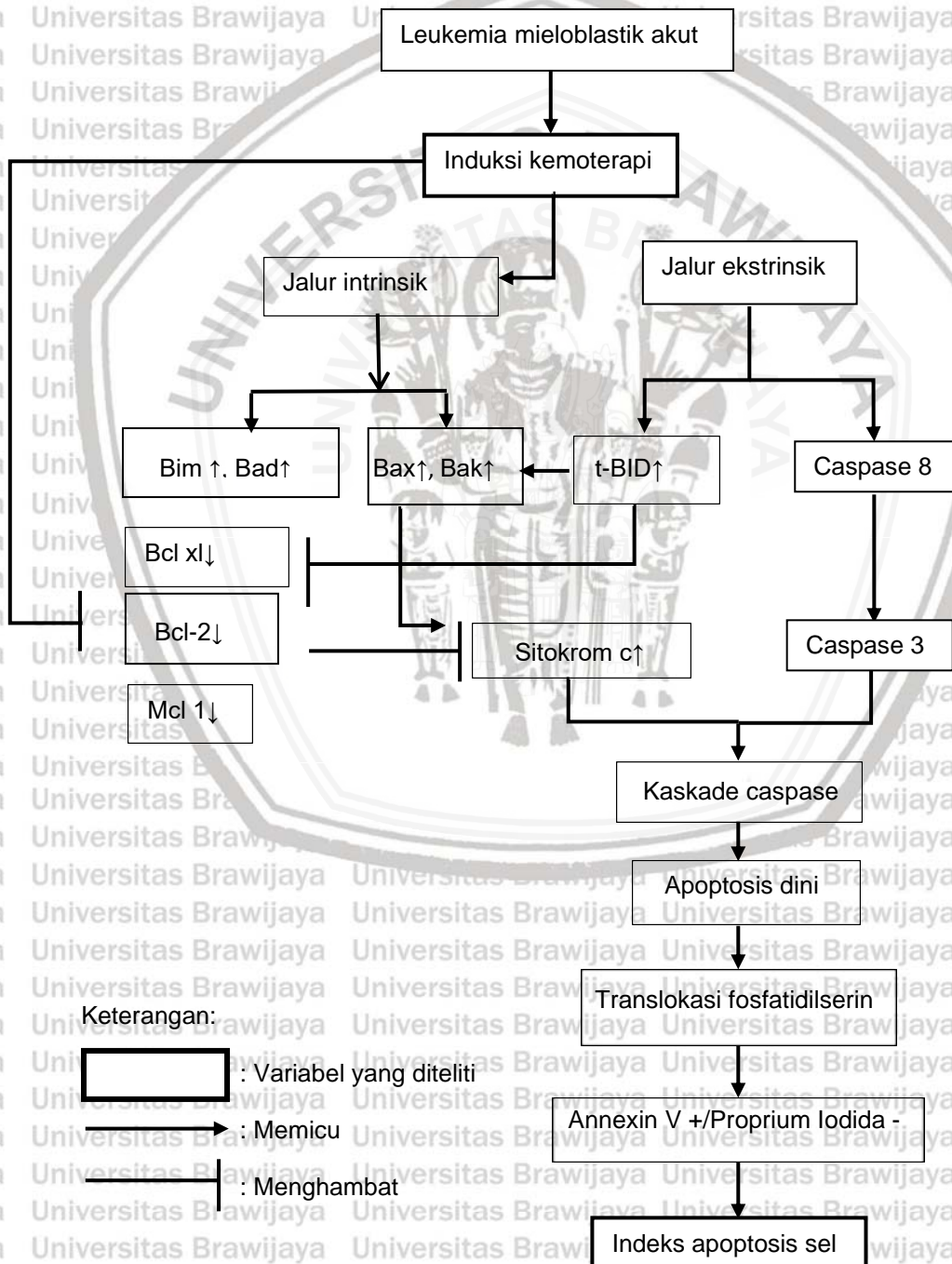
Singh *et al.* pada tahun 2018 melakukan penelitian pada anak-anak dengan leukemia limfoblastik akut mengenai hubungan indeks apoptosis sel terhadap luaran klinis pasien dengan mengambil sampel dari *peripheral blood mononuclear cell* (PBMC). Hasil penelitian tersebut menyatakan bahwa indeks apoptosis yang rendah pada hari ke-0 sebelum kemoterapi berhubungan dengan resistensi terhadap kemoterapi, kekambuhan dan kematian pada pasien (Singh *et al.*, 2018). Pada penelitian lain yang dilakukan oleh Stelmaszczyk-Emmel *et al.* dengan melihat indeks apoptosis sel menggunakan sel blas pasien leukemia akut dinyatakan bahwa indeks apoptosis sel yang rendah berhubungan dengan prognosis yang kurang baik (Stelmaszczyk-Emmel *et al.*, 2002).

Pada studi *cohort* yang dilakukan oleh Tyagi *et al.* pada pasien anak dengan leukemia mieloblastik akut, didapatkan hasil bahwa apoptosis sel yang dinilai dari sampel sumsum tulang berhubungan dengan fenotip risiko tinggi pada penyakit ini. Hal ini memberikan keuntungan terhadap kesintasan pasien LMA (Tyagi *et al.*, 2019).

BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3. 1. Bagan Kerangka Konseptual



Gambar 3.1. Bagan Kerangka Konseptual

3. 2. Keterangan Kerangka Konseptual

Apoptosis merupakan mekanisme alami kematian sel terprogram. Apoptosis memainkan peranan yang penting dalam perkembangan begitu pula dalam keseimbangan. Apoptosis berguna untuk mengeliminasi sel yang tidak penting atau tidak diharapkan dan merupakan suatu proses yang teratur. Jalur apoptosis diaktivasi baik melalui sinyal intraseluler maupun ekstraseluler. Terdapat dua jalur yang menyebabkan terjadinya apoptosis: jalur intrinsik dan jalur ekstrinsik yang berkorelasi dengan jenis sinyal. Jalur-jalur ini disebut juga dengan jalur mitokondria dan jalur reseptor kematian. Sinyal intraseluler meliputi kerusakan DNA, kehilangan faktor pertumbuhan, dan kehilangan sitokin, sedangkan sinyal ekstraseluler yang paling umum adalah sinyal penginduksi kematian yang diproduksi oleh sel T sitotoksik dari sistem imun sebagai respon terhadap sel yang rusak atau terinfeksi. Jalur-jalur ini akan menuju pada caspase pengeksekusi (Zaman *et al.*, 2014).

Ciri khas dari kanker yang ada pada sel kanker tanpa memperhatikan penyebab atau jenisnya meliputi pertumbuhan yang tidak terkontrol, angiogenesis dan penghindaran terhadap apoptosis. Pencegahan terhadap kanker merupakan salah satu fungsi utama dari apoptosis. Kehilangan kontrol terhadap apoptosis menyebabkan sel bertahan lebih lama dan memberikan lebih banyak waktu untuk akumulasi mutasi yang dapat meningkatkan progresifitas tumor, menstimulasi angiogenesis, dan menderegulasi proliferasi sel dan mengganggu proses diferensiasi (Arbiser *et al.*, 2017).

Salah satu cara untuk mengobati kanker adalah untuk mengontrol atau menghentikan pertumbuhan tidak terkontrol dari sel kanker, yaitu dengan kemoterapi. Kemoterapi dengan menggunakan mekanisme kematian sel itu sendiri merupakan metode yang sangat efektif. Selain itu menarget apoptosis merupakan pengobatan nonbedah yang paling berhasil dan efektif terhadap

semua jenis kanker. Keberhasilan kemoterapi selain dipengaruhi dari pemberian obat kemoterapi yang tepat juga ditentukan oleh faktor prognosis dari pasien dan respon terhadap kemoterapi itu sendiri. Banyak obat-obatan kemoterapi yang menarget berbagai tahapan baik itu jalur intrinsik maupun jalur ekstrinsik. Dua strategi utama untuk target terapi adalah stimulasi molekul proapoptosis dan penghambatan molekul antiapoptosis. Apoptosis dini dapat diketahui dari adanya translokasi fosfatidilserin dari bagian dalam membran plasma menuju permukaan luar adalah ciri khas perubahan awal dari apoptosis sel yang terjadi sebelum kehilangan integritas membran sel. Sedangkan kehilangan integritas membran sel dan ditemukannya propidium iodida merupakan penanda bagi apoptosis lanjut. Setelah membedakan antara sel yang mengalami apoptosis dini dan apoptosis lambat maka Indeks apoptosis dapat dihitung sebagai jumlah sel yang mengalami apoptosis dibagi dengan jumlah total sel yang diperiksa sebagai persentase selama interval waktu sebelum terapi (indeks apoptosis H-0) dan setelah terapi (indeks apoptosis H-14) (Hassan *et al.*, 2014).

3. 3. Hipotesis Penelitian

1. Terdapat peningkatan indeks apoptosis sel setelah induksi kemoterapi pada pasien leukemia mieloblastik akut anak.
2. Terdapat korelasi antara indeks apoptosis sel sebelum dan sesudah induksi kemoterapi terhadap hemoglobin pada pasien leukemia mieloblastik akut anak.
3. Terdapat korelasi antara indeks apoptosis sel sebelum dan sesudah induksi kemoterapi terhadap leukosit pada pasien leukemia mieloblastik akut anak.
4. Terdapat korelasi antara indeks apoptosis sel sebelum dan sesudah induksi kemoterapi terhadap trombosit pada pasien leukemia mieloblastik akut anak.

5. Terdapat korelasi antara indeks apoptosis sel sebelum dan sesudah induksi kemoterapi terhadap ANC pada pasien leukemia mieloblastik akut anak.



BAB 4**METODE PENELITIAN****4. 1. Desain Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian observasional dengan desain kohort.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adakah perbedaan antara indeks apoptosis sel sebelum dan sesudah induksi kemoterapi pada pasien leukemia mieloblastik akut anak di RSUD Dr. Saiful Anwar Malang.

4.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium/SMF Ilmu Kesehatan Anak RSUD dr. Saiful Anwar Malang dan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang dalam jangka waktu 6 bulan mulai bulan Mei 2020 hingga Oktober 2020.

4.3 Persetujuan Penelitian

Penelitian ini telah disetujui oleh Panitia Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya RSUD Dr. Saiful Anwar Malang.

4.4. Subjek Penelitian**4.4.1. Populasi dan Subjek Penelitian**

Populasi target pada penelitian ini adalah semua anak yang baru didiagnosis penyakit leukemia mieloblastik akut. Populasi terjangkau penelitian ini adalah pasien anak yang baru didiagnosis leukemia mieloblastik akut dan menjalani induksi kemoterapi di ruang rawat inap anak RSSA Malang selama periode penelitian. Subjek penelitian adalah pasien anak yang didiagnosis leukemia mieloblastik akut dengan kriteria diagnosis berdasarkan analisis

morfologi darah perifer, aspirasi *bone marrow* dan menjalani induksi kemoterapi di ruang rawat inap anak RSSA Malang selama periode penelitian yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi.

4.4.2. Pengambilan Sampel Penelitian

Berdasarkan angka prevalensi LMA di RSSA terdapat 20 pasien tiap tahun merupakan penderita baru maupun lama, sehingga jumlah prevalensi LMA 1,6% per tahun, maka besar sampel minimal penelitian ditentukan berdasarkan perhitungan dengan rumus sebagai berikut (Pratiknya *et al.*, 2001).

$$n = \frac{Z^2_{1-\alpha} P (1-P)}{d^2}$$

dimana n = besar sampel minimum

$Z_{1-\alpha/2}$ = nilai distribusi normal baku (tabel Z) pada α tertentu

P = harga proporsi di populasi = 0,016

d = kesalahan (absolut) yang dapat ditolelir = 0,1

untuk P=0,016 dengan $\alpha = 0,05$, maka $Z_{\alpha} = 1.64$

d=0,1, maka n = 4 orang

jumlah sampel minimum adalah 4 orang.

4.4.3. Metode Pemilihan Sampel

Pemilihan sampel dilakukan secara *consecutive sampling*, yaitu pengambilan sampel berdasarkan ditemukannya pasien yang baru terdiagnosis leukemia mieloblastik akut akan menjalani protokol kemoterapi leukemia mieloblastik akut di ruang rawat anak RSUD dr. Saiful Anwar sesuai dengan kriteria inklusi dan eksklusi, sampai besar sampel penelitian terpenuhi atau sampai waktu penelitian selesai.

4.5. Kriteria Inklusi dan Eksklusi Subjek Penelitian

4.5.1. Kriteria Inklusi

- a. Pasien telah terdiagnosis leukemia mieloblastik akut
- b. Sebelum kemoterapi fase induksi
- c. Usia antara 0 sampai 18 tahun
- d. Orang tua pasien mengizinkan anaknya diikutsertakan dalam penelitian setelah diberi penjelasan (*informed consent*)

4.5.2. Kriteria Eksklusi

- a. Pasien telah mendapatkan kemoterapi
- b. Didapatkan penyakit autoimun, seperti SLE, myasthenia gravis

4.6. Variabel Penelitian

4.6.1. Variabel Bebas

- Induksi kemoterapi

4.6.2. Variabel Tergantung

- Indeks apoptosis sel sebelum dan sesudah kemoterapi
- Hemoglobin
- Leukosit
- Trombosit
- ANC

4.7. Definisi Operasional

a. Leukemia Mieloblastik Akut

Leukemia mieloblastik akut adalah suatu keganasan yang berasal dari sumsum tulang. Diagnosis LMA ditegakkan dengan anamnesis, pemeriksaan fisis dan pemeriksaan aspirasi sumsum tulang (*bone marrow*) didapatkan komponen

sumsum tulang secara morfologi mieloblas dan positif dengan imunofenotipe LMA, serta mengandung sedikitnya 20% sel muda (blas) (Betz & Hess, 2010).

b. Kemoterapi Fase Induksi

Kemoterapi fase induksi yang dilaksanakan berdasarkan protokol kemoterapi leukemia mieloblastik akut Indonesia revisi tahun 2015.

c. Indeks Apoptosis Sel

Indeks apoptosis sel dinyatakan dalam persen melalui perhitungan jumlah sel yang mengalami apoptosis dibagi dengan jumlah total sel yang diperiksa dinyatakan dan dikalikan 100. Pemeriksaan dilakukan dengan menggunakan pemeriksaan *flow cytometry* dengan menggunakan petanda annexin V.

e. Hemoglobin

Kadar hemoglobin yang diukur dengan teknik *flow cytometry* menggunakan mesin Sysmex XN 1000. Satuan g/dL. Skala data numerik.

f. Leukosit

Jumlah leukosit yang diukur dengan teknik *flow cytometry* menggunakan mesin Sysmex XN 1000. Satuan $10^3/uL$. Skala data numerik.

g. Trombosit

Jumlah trombosit yang diukur dengan teknik *flow cytometry* menggunakan mesin Sysmex XN 1000. Satuan $10^3/uL$. Skala data numerik.

h. Absolute neutrophil count (ANC)

Ukuran jumlah granulosit neutrofil (juga dikenal sebagai sel polimorfonuklear) yang terdapat di dalam darah yang dihitung dari jumlah total sel darah putih dikalikan dengan neutrophil total dan dibagi dengan 100.

4.8. Prosedur Penelitian

4.8.1. Alat dan Bahan

1. Alat dan bahan untuk pengambilan darah
 - a. Tabung darah dengan EDTA
 - b. Tourniquet
 - c. Spuit 5 ml
 - d. Kapas alkohol 70%
 - e. *Ice pack* dalam *cool box*
2. Alat dan bahan untuk isolasi PBMC
 - a. Darah segar dengan EDTA
 - b. *Phosphate Buffer Saline* (PBS)
 - c. *Ficoll-Hypaque solution* (densitas 1.077 g/mL)
 - d. 15 atau 50 ml *conical centrifuge tubes*
 - e. Pipet
 - f. Mistral 1000
 - g. Hettich 22R *centrifuge*
3. Alat dan bahan untuk pemeriksaan *Flow cytometry*
 - a. *Apoptosis detection kit* (FITC Annexin V, larutan propidium iodida, Annexin V binding buffer) (katalog number 640914, BioLegend)
 - b. *Cell staining buffer* (katalog number 420201, BioLegend)
 - c. Pipet steril
 - d. Tabung reaksi 5 ml
 - e. Mistral 1000
 - f. Hettich 22 R *centrifuge refrigerated*
 - f. *Flow cytometry*

4.8.2 Pengambilan Sampel Darah

Semua sampel penelitian sebelum memulai kemoterapi dan setelah menjalani kemoterapi hari ke-14 diambil sampel darahnya sebanyak 3 ml, disimpan dalam tabung EDTA, dan dipertahankan suhunya 4°C dalam *cool box* dikirim segera ke laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

4.8.3 Cara Isolasi PBMC

Isolasi *peripheral blood mononuclear cells* (PBMC) menggunakan Ficoll-Hypaque *density gradient centrifugation*, metode yang mudah dan cepat untuk memperoleh PBMC murni dengan cara didapatkan perbedaan densitas antara PBMC dengan komponen darah lainnya. Darah tepi merupakan sumber sel limfosit untuk penelitian sistem imun pada manusia. Sel mononuklear dan trombosit akan terkumpul di lapisan atas pada Ficoll-Hypaque densitas karena densitasnya yang rendah, sedangkan eritrosit dan granulosit dengan densitasnya yang tinggi akan terkumpul di lapisan bawah.

Cara Kerja:

1. Mengambil 3 ml darah segar (*whole blood*) yang tersimpan vacutainer berisi EDTA dan meletakkannya pada tabung sentrifuse. Ditambahkan PBS dalam suhu ruangan dengan menggunakan pipet steril, dengan perbandingan jumlah darah dan PBS 1:1 kemudian dicampur rata.
2. Memasukkan 3 ml Ficoll-Hypaque kedalam tabung sentrifuse 15 ml.
3. Secara hati-hati disalutkan campuran darah dan PBS diatas Ficoll-Hypaque.
4. Dilakukan sentrifuse selama 30 menit dengan kecepatan 700 xg (1600 rpm).
5. Pada posisi *break off (swing)*, akan terbentuk 4 lapisan :

Lapisan atas (berisi plasma dan sebagian besar trombosit) dipindahkan dengan menggunakan pipet steril. Dengan menggunakan pipet yang lain lapisan yang terdapat sel mononuklear (cincin *buffy coat*) dipindahkan secara hati-hati ke tabung sentrifuse yang lain. Sel yang akan diperiksa dicuci dengan menambahkan PBS (3x dari volume lapisan sel mononuklear) dan disentrifuse selama 10 menit dengan kecepatan 400 xg (1200 rpm). Supernatan dibuang dan pellet dicuci sekali lagi seperti prosedur diatas.

6. Terhadap pellet yang terbentuk, dilakukan pemeriksaan *flow cytometry* untuk mengukur indeks apoptosis sel.

4.8.4 Pemeriksaan *Flow Cytometry*

1. Cuci pellet dua kali dengan *cell staining buffer* dan resuspensi kembali dalam *Annexin V binding buffer* pada konsentrasi $0,25-1,0 \times 10^7$ sel/ml.
2. Masukkan 100 ul suspense sel dalam 5 ml tabung reaksi.
3. Tambahkan 5 ul FITC Annexin V.
4. Tambahkan 10 ul larutan propidium iodide.
5. Inkubasi selama 15-20 menit pada suhu ruangan (25°C) dalam ruang gelap.
6. Tambahkan 400 ul *Annexin V binding buffer* pada masing-masing tabung. Analisa dengan *flow cytometry* sesuai pengaturan mesin yang diinginkan.

4. 9. Analisis Statistik

Proses analisis data pada penelitian ini dilakukan dalam tahapan perhitungan berturut-turut: (1) Uji normalitas data sampel untuk menentukan jenis analisis yang tepat digunakan selanjutnya, (2) uji komparasi, (3) uji korelasi. Uji normalitas data dengan Shapiro-Wilk digunakan pada besar sampel kurang dari 50 (Dahlan, 2014). Uji normalitas data diketahui dengan melihat nilai p, jika nilai p

> 0,05, maka kesimpulannya data berdistribusi normal, sedangkan bila $p < 0,05$, maka data tidak berdistribusi normal.

Perbedaan indeks apoptosis sel sebelum dan sesudah induksi kemoterapi menggunakan uji parametrik melalui uji komparasi t berpasangan/*wilcoxon sign*

test. Jika data tidak berdistribusi normal atau varians data tidak sama, maka dilakukan transformasi data terlebih dahulu dengan logaritma atau cara lain

sebelum dapat dilakukan uji hipotesis. Jika setelah transformasi, data masih tidak berdistribusi normal, maka dilakukan analisis statistik non parametrik dengan uji

Wilcoxon. Uji korelasi Pearson digunakan untuk mengetahui korelasi antara indeks apoptosis sel dan hemoglobin, leukosit, trombosit, dan ANC bila distribusi data

normal atau menggunakan uji korelasi Spearman bila distribusi data tidak normal.

Keputusan berdasarkan nilai p jika kurang dari 0,05, maka disimpulkan terdapat korelasi yang bermakna antara 2 variabel. Selanjutnya tingkat keeratan hubungan

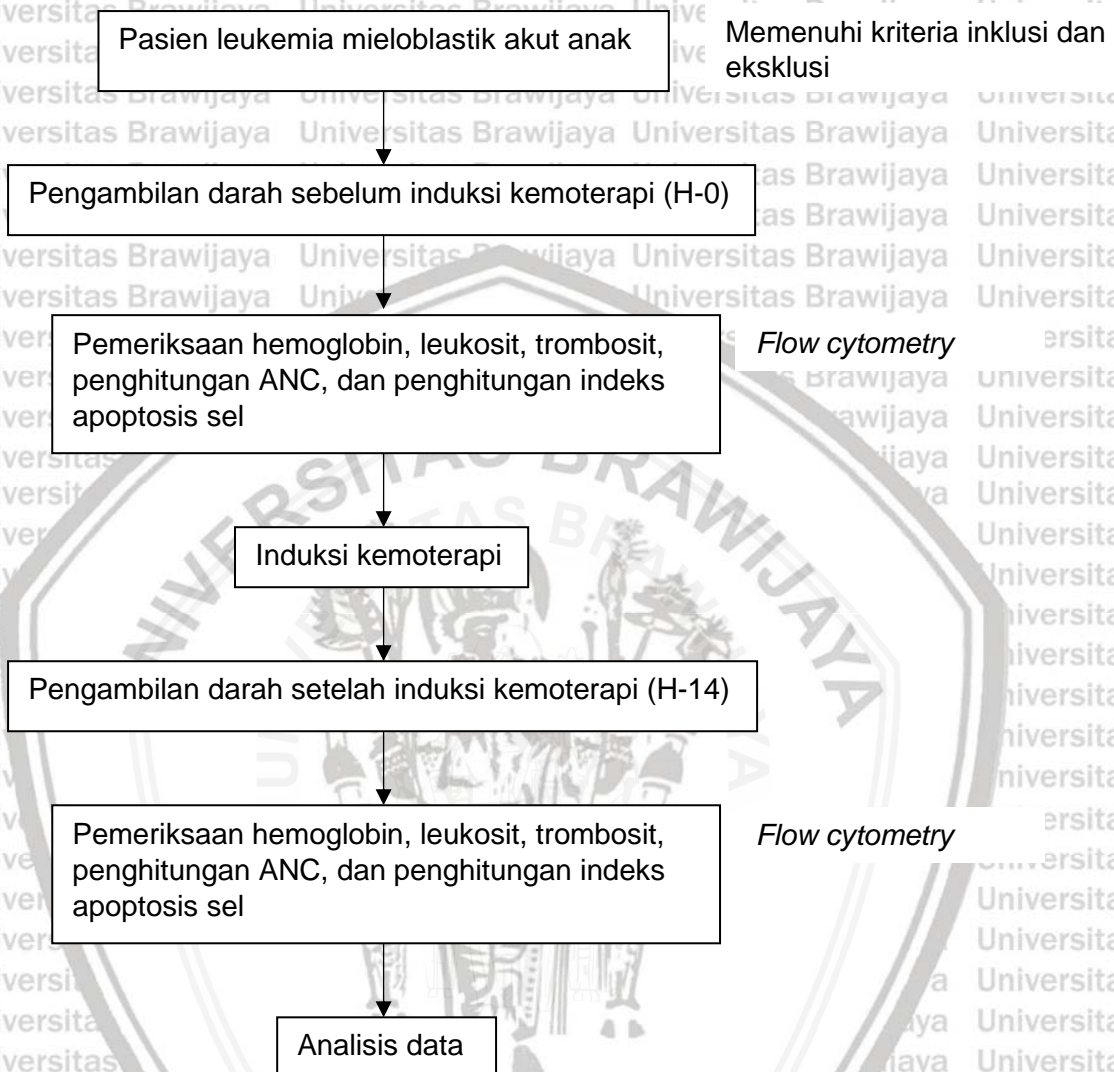
(koefisien korelasi) dapat diartikan ke dalam lima tingkatan (Arikunto, 2002),

sebagai berikut:

- a. Nilai korelasi > 0-0,25 : sangat lemah
- b. Nilai korelasi > 0,25-0,5 : cukup
- c. Nilai korelasi > 0,5-0,75 : kuat
- d. Nilai korelasi > 0,75-0,99 : sangat kuat
- e. Nilai korelasi = 1 : sempurna

Semua penghitungan dilakukan dengan program *SPSS for Windows* 25.

4. 10. Bagan Alur Penelitian



Gambar 4.1. Bagan Alur Penelitian

BAB 5

HASIL PENELITIAN

5. 1. Karakteristik Subjek Penelitian

Penelitian dilaksanakan di SMF Ilmu Kesehatan Anak Rumah Sakit Saiful Anwar Malang. Penelitian ini merupakan penelitian observasional dengan desain kohort dengan metode pengambilan sampel penelitian dengan *consecutive sampling*. Subjek penelitian ini adalah pasien anak yang didiagnosis leukemia mieloblastik akut dengan kriteria diagnosis berdasarkan analisis morfologi darah perifer, aspirasi *bone marrow* dan menjalani induksi kemoterapi sesuai dengan protokol. Pasien memenuhi kriteria yaitu usia 0 sampai 18 tahun, belum menjalani kemoterapi fase induksi, dan orang tua pasien mengizinkan anaknya diikutsertakan dalam penelitian setelah diberikan penjelasan (*informed consent*).

Penelitian dilakukan pada bulan Mei 2020 hingga Oktober 2020.

Seluruh subjek penelitian mempunyai data hasil aspirasi *bone marrow*, kemudian dilakukan pengambilan darah perifer sebelum dan sesudah induksi kemoterapi untuk melihat indeks apoptosis sel, hemoglobin, leukosit, trombosit, dan ANC yang dilakukan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

Tabel 5. 1. Karakteristik Subjek Penelitian

Karakteristik	Total Subjek (n=5)
Jenis Kelamin	
Laki-laki	1
Perempuan	4
Usia (Tahun)	13,6 ± 1,81
Tipe LMA	
LMA M1	1
LMA M2	2
LMA M4	1
LMA M5	1

Berdasarkan data karakteristik subjek penelitian 2/5 (40%) merupakan jenis LMA M2, sebanyak 1/5 (20%) LMA M1, sebanyak 1/5 (20%) LMA M4, sebanyak 1/5 (20%) merupakan LMA M5. Seluruh subjek penelitian menggunakan kemoterapi protokol nasional leukemia mieloblastik akut (LMA) revisi 2015. Subjek diperiksa indeks apoptosis sel, hemoglobin, leukosit, trombosit, dan ANC sebelum induksi kemoterapi dan 14 hari setelah induksi kemoterapi. Jenis kelamin perempuan lebih banyak daripada laki-laki dengan subjek berjenis kelamin perempuan sebanyak 4 orang dan laki-laki sebanyak 1 orang. Usia rata-rata 13,6 ± 1,81 tahun dengan subjek termuda 11 tahun dan subjek tertua 16 tahun. Semua subjek penelitian menjalani kemoterapi fase induksi pertama kali dengan menggunakan protokol nasional leukemia mieloblastik akut (LMA) revisi 2015.

5. 2. Perbedaan Indeks Apoptosis Sel Sebelum dan Sesudah Induksi Kemoterapi

Sebelum dilakukan uji beda dilakukan uji normalitas data dengan Saphiro-Wilk. Dari uji normalitas didapatkan data berdistribusi normal dengan indeks apoptosis sel $p=0,35$, hemoglobin $p=0,53$, leukosit $p=0,23$, trombosit $p=0,16$, dan ANC $p=0,6$ sehingga uji beda dilakukan dengan uji t berpasangan.

Berdasarkan hasil analisa uji t berpasangan terdapat perbedaan yang signifikan antara indeks apoptosis sel sebelum dan sesudah induksi kemoterapi ($p=0,014$) dan hemoglobin sebelum dan sesudah induksi kemoterapi ($p=0,031$). Sebaliknya tidak didapatkan perbedaan yang signifikan pada leukosit ($p=0,12$), trombosit ($p=0,09$), dan ANC ($p=0,05$) sebelum dan sesudah induksi kemoterapi.

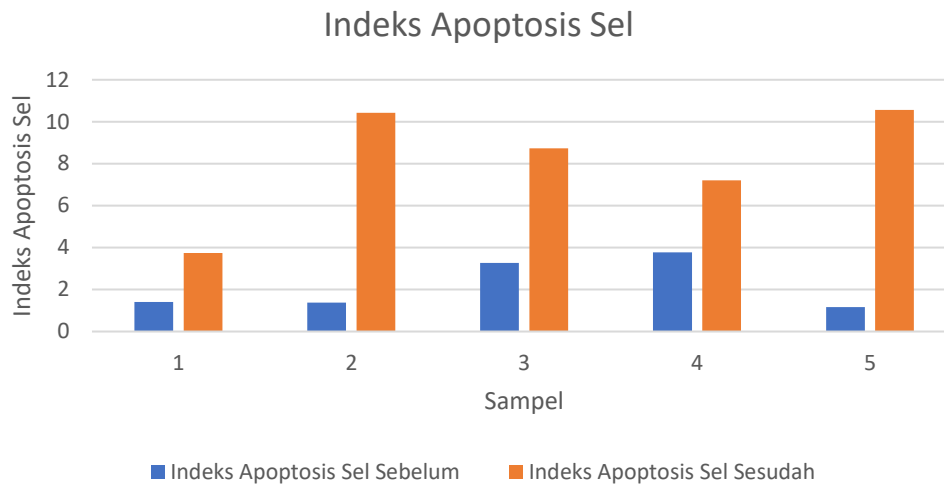
Tabel 5. 2. Indeks Apoptosis Sel, Hemoglobin, Leukosit, Trombosit, dan ANC Pada Anak dengan LMA Sebelum dan Sesudah Kemoterapi Fase Induksi

Variabel	Sebelum Kemoterapi n=5	Sesudah Kemoterapi n=5	P value
Indeks Apoptosis Sel	2,2 ± 1,22	8,13 ± 2,81	0,014
Hemoglobin	12,32 ± 1,74	8,3 ± 1,18	0,031
Leukosit	5756 ± 3514,97	3464 ± 2835,88	0,12
Trombosit	239200 ± 114062,26	106200 ± 25262,62	0,09
ANC	3754 ± 1296,81	1680 ± 832,7	0,05

Keterangan: Terdapat perbedaan signifikan pada indeks apoptosis sel sebelum dan sesudah induksi kemoterapi serta hemoglobin sebelum dan sesudah induksi kemoterapi, namun pada leukosit, trombosit, dan ANC tidak didapatkan perbedaan yang signifikan.

P value signifikan jika $p < 0,05$

Berdasarkan pemeriksaan *flow cytometry* pada penelitian ini, kemudian dianalisis indeks apoptosis sel. Terdapat perubahan indeks apoptosis sel sebelum dan sesudah menjalani induksi kemoterapi. Peningkatan didapatkan pada seluruh subjek penelitian. Hasil data indeks apoptosis sel yang telah diperoleh selanjutnya dilakukan analisis. Sebelum dilakukan analisis data, dilakukan uji normalitas data terlebih dahulu dengan menggunakan uji Shapiro-Wilk. Dari uji normalitas data didapatkan hasil data berdistribusi normal sehingga uji komparasi (uji beda) yang digunakan adalah uji t berpasangan.



Gambar 5. 1. Indeks Apoptosis Sel Sebelum dan Sesudah Induksi Kemoterapi

Indeks apoptosis sel mengalami peningkatan pada kelima subjek penelitian, pemeriksaan menggunakan *flow cytometry* dengan menggunakan petanda Annexin V. Pemberian kemoterapi bertujuan untuk merangsang terjadinya apoptosis sel.

Berdasarkan hasil penelitian didapatkan perbedaan indeks apoptosis sel sebelum dan sesudah induksi kemoterapi pada semua subjek penelitian. Setelah dilakukan analisis data dengan uji t berpasangan maka didapatkan hasil *p value* 0,014 (<0,05) sehingga dapat disimpulkan terdapat perbedaan yang signifikan antara kadar indeks apoptosis sel sebelum dan sesudah pemberian induksi kemoterapi.

5. 3. Korelasi Indeks Apoptosis Sel Sebelum dan Sesudah Induksi Kemoterapi Terhadap Kadar Hemoglobin

Pada penelitian ini parameter laboratorium hemoglobin dilihat korelasinya dengan indeks apoptosis sel sebelum dan sesudah induksi kemoterapi. Uji normalitas dilakukan menggunakan uji Shapiro-Wilk. Hasil uji normalitas didapatkan bahwa data indeks apoptosis sel yang didapat dari *flow cytometry* dan data kadar hemoglobin yang diperoleh dari pemeriksaan darah lengkap berdistribusi normal sehingga uji korelasi dilakukan dengan uji Pearson.

Tabel 5. 3. Korelasi Indeks Apoptosis Sel dan Hemoglobin

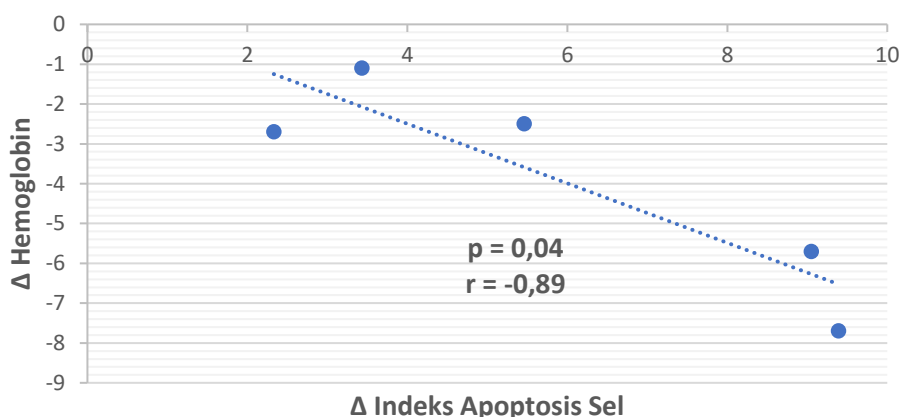
Kelompok	Korelasi Indeks Apoptosis Sel dan Hemoglobin	
	Koefisien korelasi (r)	P value
Sebelum kemoterapi	-0,9	0,03
Sesudah kemoterapi	-0,92	0,02
Selisih sebelum dan sesudah kemoterapi	-0,89	0,04

p-value signifikan bila $p < 0,05$

Setelah dilakukan analisis didapatkan bahwa korelasi antara indeks apoptosis sel dengan hemoglobin sebelum diberikan kemoterapi fase induksi dengan arah hubungan yang negatif dan signifikan. Oleh karena didapatkan dengan hubungan yang negatif dapat dikatakan bahwa semakin tinggi indeks apoptosis sel maka semakin rendah kadar hemoglobin. Kekuatan korelasi antara indeks apoptosis sel dengan hemoglobin sebelum diberikan induksi kemoterapi mempunyai kekuatan hubungan yang sangat kuat. Sesudah diberikan induksi kemoterapi hubungan antara indeks apoptosis sel dengan hemoglobin mempunyai korelasi yang negatif yang signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi indeks apoptosis sel maka semakin rendah kadar hemoglobin. Kekuatan korelasi didapatkan dengan kekuatan hubungan yang sangat kuat.

Pada data korelasi antara selisih indeks apoptosis sel dan hemoglobin sebelum dan sesudah induksi kemoterapi didapatkan arah hubungan yang negatif dan signifikan dengan kekuatan korelasi sangat kuat. Dapat dikatakan bahwa semakin tinggi indeks apoptosis sel maka semakin rendah kadar hemoglobin.

Korelasi Indeks Apoptosis Sel Terhadap Hemoglobin



Gambar 5. 2. Diagram Scatter Korelasi Indeks Apoptosis Sel Terhadap Hemoglobin Sebelum dan Sesudah Induksi Kemoterapi

Terdapat korelasi negatif yang bermakna dengan kekuatan korelasi sangat kuat antara indeks apoptosis sel dan hemoglobin sebelum induksi kemoterapi, sesudah induksi kemoterapi, serta pada selisih indeks apoptosis sel dan hemoglobin sebelum dan sesudah induksi kemoterapi.

5. 4. Korelasi Indeks Apoptosis Sel Sebelum dan Sesudah Induksi Kemoterapi Terhadap Leukosit

Data indeks apoptosis sel yang didapat dari *flow cytometry* dan data leukosit yang diperoleh dari pemeriksaan darah lengkap dilakukan uji normalitas dengan uji Shapiro-Wilk. Hasil uji normalitas didapatkan data berdistribusi normal sehingga uji korelasi dilakukan dengan uji Pearson.

Tabel 5. 4. Korelasi Indeks Apoptosis Sel dan Leukosit

Kelompok	Korelasi Indeks Apoptosis Sel dan Leukosit	
	Koefisien korelasi (r)	P value
Sebelum kemoterapi	-0,8	0,09
Sesudah kemoterapi	-0,51	0,38
Selisih sebelum dan sesudah kemoterapi	-0,93	0,018

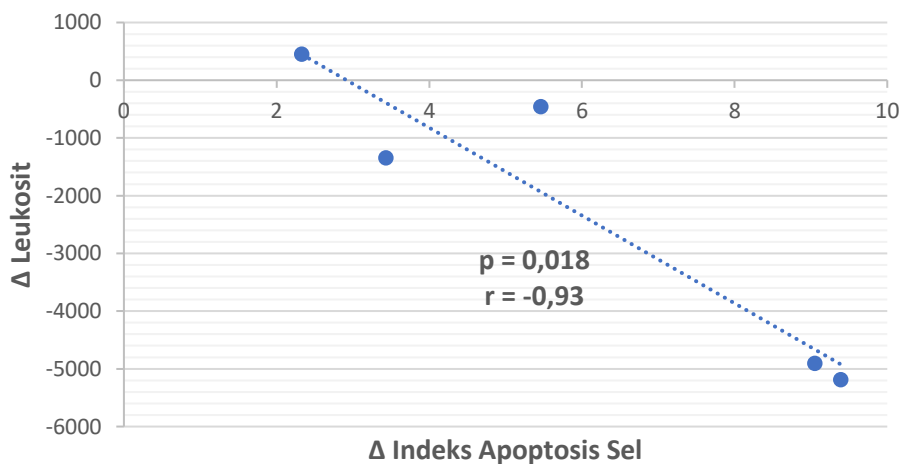
p-value signifikan bila $p < 0,05$



Setelah dilakukan analisis didapatkan bahwa hubungan antara indeks apoptosis sel dengan leukosit sebelum diberikan kemoterapi fase induksi dengan arah hubungan yang negatif tetapi tidak signifikan. Oleh karena didapatkan hubungan yang negatif sehingga dapat dikatakan semakin tinggi indeks apoptosis sel maka semakin rendah jumlah leukosit. Kekuatan korelasi hubungan indeks apoptosis sel dengan jumlah leukosit sebelum diberikan induksi kemoterapi mempunyai kekuatan yang sangat kuat. Hal yang sama terlihat pada hubungan indeks apoptosis sel dengan jumlah leukosit sesudah kemoterapi didapatkan arah hubungan yang negatif dan tidak signifikan dengan kekuatan hubungan yang kuat.

Sebaliknya korelasi selisih indeks apoptosis sel dan leukosit sebelum dan sesudah induksi kemoterapi didapatkan arah hubungan negatif yang signifikan dengan kekuatan hubungan yang sangat kuat.

Korelasi Indeks Apoptosis Sel Terhadap Leukosit



Gambar 5. 3 Diagram Scatter Korelasi Indeks Apoptosis Sel Terhadap Leukosit Sebelum Dan Sesudah Induksi Kemoterapi

Terdapat korelasi negatif yang tidak bermakna pada indeks apoptosis sel dan leukosit sebelum induksi kemoterapi serta pada indeks apoptosis sel dan leukosit sesudah induksi kemoterapi dengan kekuatan korelasi masing-masing sangat kuat dan kuat. Sedangkan untuk data selisih indeks apoptosis sel dan leukosit sebelum dan sesudah induksi kemoterapi didapatkan korelasi negatif yang bermakna dengan kekuatan korelasi sangat kuat.

5. 5. Korelasi Indeks Apoptosis Sel Sebelum dan Sesudah Induksi

Kemoterapi Terhadap Trombosit

Setelah didapatkan data indeks apoptosis sel dari pemeriksaan *flow cytometry* dan data trombosit dari pemeriksaan darah lengkap maka dilakukan uji normalitas data dengan uji Shapiro-Wilk. Hasil uji normalitas data dengan uji Shapiro-Wilk didapatkan data berdistribusi normal sehingga uji komparasi dilakukan dengan uji korelasi Pearson.

Tabel 5. 5. Korelasi Indeks Apoptosis Sel dan Trombosit

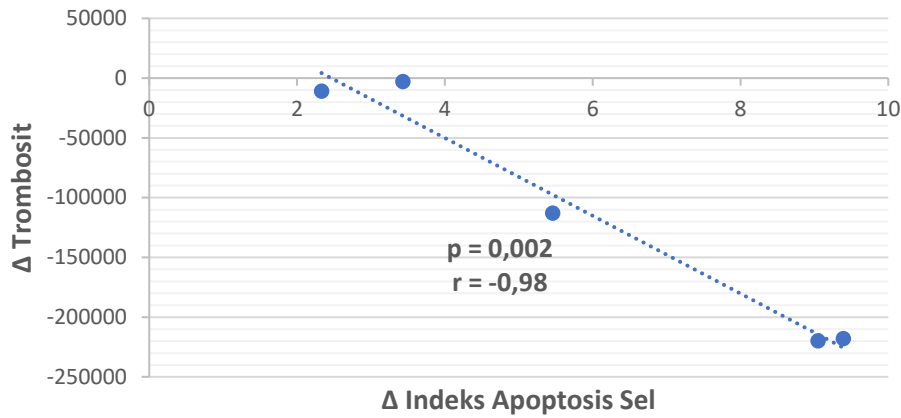
Kelompok	Korelasi Indeks Apoptosis Sel dan Trombosit	
	Koefisien korelasi (r)	P value
Sebelum kemoterapi	-0,66	0,22
Sesudah kemoterapi	-0,91	0,02
Selisih sebelum dan sesudah kemoterapi	-0,98	0,002

p-value signifikan bila $p < 0,05$

Hasil penelitian didapatkan hubungan yang tidak signifikan antara indeks apoptosis sel terhadap jumlah trombosit sebelum dilakukan induksi kemoterapi, dengan arah hubungan yang negatif dan dapat diartikan semakin tinggi indeks apoptosis sel maka semakin rendah jumlah trombosit, dengan kekuatan korelasi kuat. Kemudian pada hubungan antara jumlah trombosit terhadap indeks apoptosis sel sesudah induksi kemoterapi serta hubungan antara selisih jumlah trombosit dan selisih indeks apoptosis sel sebelum dan sesudah kemoterapi didapatkan hubungan negatif yang signifikan dan dapat diartikan semakin tinggi indeks apoptosis sel maka semakin rendah jumlah trombosit dengan kekuatan korelasi yang sangat kuat.



Korelasi Indeks Apoptosis Sel Terhadap Trombosit



Gambar 5. 4. Diagram Scatter Korelasi Indeks Apoptosis Sel Terhadap Trombosit Sebelum Dan Sesudah Induksi Kemoterapi

Terdapat korelasi negatif yang tidak bermakna pada indeks apoptosis sel dan trombosit sebelum induksi kemoterapi dengan kekuatan korelasi kuat. Sedangkan untuk data indeks apoptosis sel dan trombosit sesudah induksi kemoterapi serta selisih indeks apoptosis sel dan trombosit sebelum dan sesudah induksi kemoterapi didapatkan korelasi negatif yang bermakna dengan kekuatan korelasi sangat kuat.

5. 6. Korelasi Indeks Apoptosis Sel Sebelum dan Sesudah Induksi Kemoterapi Terhadap ANC

Setelah diperoleh data indeks apoptosis sel dan data jumlah ANC kemudian dilakukan uji normalitas dengan uji Shapiro Wilk. Hasil uji normalitas didapatkan bahwa data berdistribusi normal sehingga uji komparasi dilakukan dengan uji Pearson.

Tabel 5. 6. Korelasi Indeks Apoptosis Sel dan ANC

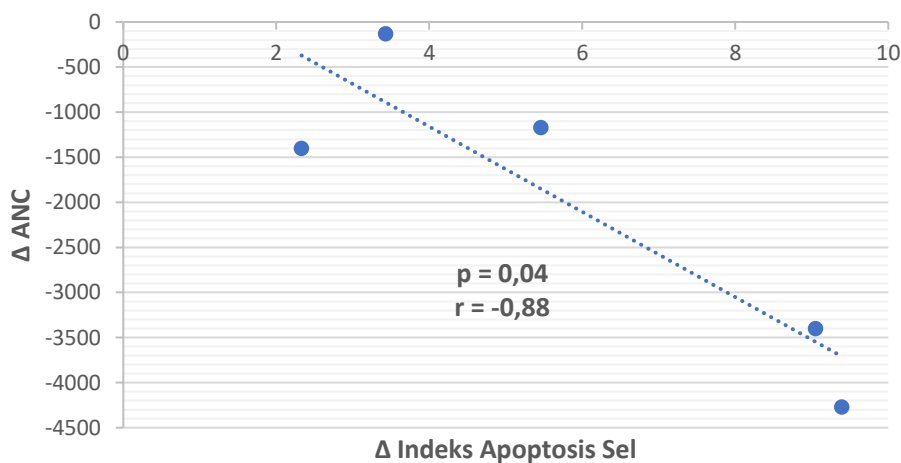
Kelompok	Korelasi Indeks Apoptosis Sel dan ANC	
	Koefisien korelasi (r)	P value
Sebelum kemoterapi	-0,98	0,002
Sesudah kemoterapi	-0,99	0,001
Selisih sebelum dan sesudah kemoterapi	-0,88	0,04

p-value signifikan bila $p < 0,05$



Hasil analisis data didapatkan bahwa terdapat hubungan yang signifikan antara indeks apoptosis sel dengan ANC sebelum diberikan kemoterapi fase induksi dengan arah hubungan yang negatif. Oleh karena didapatkan dengan hubungan yang negatif menunjukkan bahwa semakin tinggi indeks apoptosis sel maka semakin rendah jumlah ANC. Kekuatan korelasi hubungan indeks apoptosis sel dan jumlah ANC sebelum diberikan kemoterapi mempunyai kekuatan yang sangat kuat. Sesudah diberikan induksi kemoterapi hubungan indeks apoptosis sel dengan jumlah ANC mempunyai korelasi yang negatif dan signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi indeks apoptosis sel maka semakin rendah jumlah ANC. Untuk kekuatan korelasi didapatkan dengan kekuatan hubungan yang sangat kuat. Kemudian pada hubungan antara selisih indeks apoptosis sel dan ANC sebelum dan sesudah induksi kemoterapi juga didapatkan korelasi negatif dengan kekuatan hubungan sangat kuat dan signifikan.

Korelasi Indeks Apoptosis Sel Terhadap ANC



Gambar 5. 5 Diagram Scatter Korelasi Indeks Apoptosis Sel Terhadap ANC Sebelum Dan Sesudah Induksi Kemoterapi

Terdapat korelasi negatif yang bermakna dengan kekuatan korelasi sangat kuat pada indeks apoptosis sel dan ANC sebelum induksi kemoterapi, indeks apoptosis sel dan ANC sesudah induksi kemoterapi, serta selisih indeks apoptosis sel dan ANC sebelum dan sesudah induksi kemoterapi.

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1. Karakteristik Subjek Penelitian

Leukemia mieloblastik akut lebih sulit diobati dibandingkan dengan leukemia limfoblastik akut. Keberhasilan pengobatan bukan hanya karena pemberian kemoterapi saja, akan tetapi juga dipengaruhi oleh membaiknya *supportive care* dan klasifikasi LMA yang didasarkan pada pemeriksaan sitogenetik dan respon awal terhadap pengobatan. Respon awal ini diukur dengan respon sumsum tulang setelah pemberian kemoterapi tahap awal dan atau dengan mengukur *minimal residual disease* (MRD) yang bisa dilakukan dengan teknik *polymerase chain reaction* (PCR) maupun *flow cytometry* (Kaspers & Creutzig, 2005). Pada penelitian ini respon awal kemoterapi dinilai dengan melihat indeks apoptosis sel yang diperiksa dengan pemeriksaan *flow cytometry* pada saat sebelum induksi kemoterapi dan hari ke-14 setelah induksi kemoterapi.

Penelitian ini merupakan penelitian observasional dengan desain kohort. Berdasarkan *consecutive* sampling didapatkan 5 sampel yang diberikan kemoterapi. Usia rerata pasien leukemia mieloblastik akut yang baru terdiagnosis di RSSA selama bulan Mei 2020 hingga Oktober 2020 adalah 13 tahun dengan usia termuda 11 tahun dan usia tertua 16 tahun. Data ini sesuai dengan data suatu penelitian di Amerika angka rata-rata usia penderita LMA dibawah 15 tahun dengan insiden 7/1000000 anak (Creutzig *et al.*, 2012). Pada penelitian yang dilakukan oleh Williams *et al.* pada tahun 2019 didapatkan bahwa anak laki-laki memiliki *incidence rate ratio* (IRR) 1,18 untuk terjadinya leukemia mieloblastik akut. Hal ini dapat diartikan bahwa anak laki-laki memiliki kemungkinan 1,18 kali untuk menderita leukemia mieloblastik akut dibandingkan anak perempuan. Pada penelitian ini didapatkan 4 subjek berjenis kelamin perempuan dan 1 subjek

berjenis kelamin laki-laki. Hal ini dapat terjadi karena jumlah sampel penelitian yang sedikit yaitu 5 orang, selain itu proses pengambilan sampel dilakukan dengan cara *consecutive* sampling sehingga pengambilan sampel dilakukan berurutan tergantung dari pasien dengan jenis kelamin apa yang datang lebih dahulu (Williams *et al.*, 2019).

Stratifikasi risiko pada LMA anak didasarkan pada gambaran sitogenetik dan molekuler, meliputi gambaran genomik, dan respon terhadap terapi induksi.

Pada sejumlah pasien yang tidak bisa diklasifikasikan pada kelompok prognostik berdasarkan abnormalitas molekuler dan sitogenetik maka diklasifikasikan dalam risiko intermediet. Faktor prognostik yang paling penting dari kelompok ini adalah respon penyakit terhadap induksi kemoterapi, meliputi penilaian *measurable residual disease* (MRD atau dengan nama lain *minimal residual disease*) yang dinilai dengan morfologi atau *flow cytometry* (Buldini *et al.*, 2017). Pasien dengan MRD negatif 65% akan mengalami kondisi bebas relaps, sedangkan pada pasien MRD positif memiliki prognosis yang lebih buruk dengan risiko relaps sebesar 60% (Loken *et al.*, 2012). Pada penelitian ini tidak dilakukan pemeriksaan gambaran sitogenetik dan molekuler karena keterbatasan sarana, namun stratifikasi risiko didasarkan atas faktor penjamu dan karakteristik klinis seperti usia, ras, berat badan saat terdiagnosis, dan jumlah leukosit (Elgarten & Aplenc, 2020). Selain itu dilakukan evaluasi induksi kemoterapi dengan pemeriksaan BMP evaluasi. Pada pemeriksaan BMP evaluasi pertama didapatkan remisi komplit pada dua pasien masing-masing berusia 14 tahun dan 16 tahun, sedangkan pada dua pasien lainnya didapatkan remisi parsial, dan satu pasien meninggal dunia sebelum dilakukan BMP evaluasi pertama.

6. 2. Peningkatan Indeks Apoptosis Sel Sesudah Induksi Kemoterapi

Pada penelitian ini didapatkan rata-rata indeks apoptosis sel sebelum kemoterapi $2,2 \pm 1,2$ dan rata-rata indeks apoptosis sel sesudah kemoterapi $8,13 \pm 2,81$. Rata-rata peningkatan indeks apoptosis sel pada penelitian ini sebesar $5,9 \pm 3,2$. Pada uji t berpasangan didapatkan perbedaan yang signifikan antara indeks apoptosis sel sebelum kemoterapi dan indeks apoptosis sel sesudah kemoterapi dengan nilai $p=0,014$.

Hal ini dapat dijelaskan karena apoptosis merupakan salah satu mekanisme pengaturan kematian sel dan telah menjadi fokus penelitian intensif selama beberapa abad terakhir. Apoptosis dapat dicapai melalui dua jalur berbeda yang saling berhubungan yaitu jalur intrinsik yang tertuju pada mitokondria dan menuju pada pembentukan apoptosome dan aktivasi caspase-9, dan jalur ekstrinsik yang mentransdusi sinyal dari rangsangan apoptosis eksternal.

Penghindaran dari apoptosis merupakan cara yang dilakukan oleh tumor ganas untuk berkembang. Pemberian kemoterapi merupakan salah satu strategi untuk menginduksi atau mengembalikan proses apoptosis sel yang terganggu sehingga menjadi prioritas untuk terapi kanker saat ini (Hanahan & Weinberg, 2011).

Pada penelitian ini digunakan regimen daunorubicin dan cytarabine pada induksi kemoterapi. Daunorubicin merupakan antibiotik sitotoksik antrasiklin yang diproduksi oleh *Streptomyces cerulorubidus* dan *Streptomyces peucetius*.

Daunorubicin memiliki aktivitas antimitosis dan sitotoksik melalui sejumlah mekanisme aksi. Daunorubicin membentuk kompleks dengan DNA dengan cara menyisip di antara pasangan basa dan mencegah aktivitas topoisomerase II dengan menstabilkan kompleks DNA topoisomerase II, dengan demikian mencegah relegasi oleh topoisomerase II dan menyebabkan kerusakan rantai tunggal dan ganda dari DNA. Daunorubicin dapat juga mencegah aktivitas polymerase, mempengaruhi regulasi dari ekspresi gen, dan memproduksi

kerusakan radikal bebas pada DNA. Mekanisme-mekanisme tersebut pada akhirnya akan berperan pada jalur apoptosis intrinsik. Sedangkan cytarabine adalah obat sitotoksik spesifik fase sel, terutama selama fase S ketika sel mengalami sintesis DNA. Pada beberapa kondisi cytarabine dapat memblokir progresi sel dari fase G1 menuju fase S. Mekanisme aksinya tidak sepenuhnya dipahami, namun kemungkinan bekerja dengan mencegah polimerase DNA yang berperan pada jalur apoptosis intrinsik (Murphy & Yee, 2017). Pada penelitian yang dilakukan oleh Lin *et al.* pada tahun 2004 yang meneliti luaran kemoterapi pada pasien dengan karsinoma gaster didapatkan bahwa indeks apoptosis sel meningkat setelah pemberian kemoterapi. Pada penelitian tersebut juga dikatakan bahwa indeks apoptosis sel berkorelasi positif dengan konsentrasi obat kemoterapi dan lama kemoterapi (Lin *et al.*, 2004). Ciobotaro *et al.* melakukan penelitian terhadap indeks apoptosis sel pada leukosit darah perifer pada pasien penderita kanker payudara setelah pemberian kemoterapi doxorubicin. Hasil penelitian didapatkan bahwa terjadi peningkatan yang signifikan indeks apoptosis sel pada leukosit darah perifer (Ciobotaro *et al.*, 2003).

6. 3. Korelasi Indeks Apoptosis Sel Sebelum dan Sesudah Induksi Kemoterapi Terhadap Kadar Hemoglobin, Leukosit, Trombosit, dan ANC

Dari hasil penelitian didapatkan bahwa korelasi antara indeks apoptosis sel dengan kadar hemoglobin sebelum diberikan kemoterapi fase induksi didapatkan korelasi negatif yang signifikan ($r = -0,9$; $p = 0,03$) sehingga dapat dikatakan bahwa semakin tinggi indeks apoptosis sel maka semakin rendah hemoglobin. Kemudian pada korelasi indeks apoptosis sel dengan kadar hemoglobin sesudah diberikan induksi kemoterapi mempunyai korelasi negatif yang signifikan ($r = -0,92$; $p = 0,02$) yang menunjukkan bahwa semakin tinggi indeks apoptosis sel maka semakin rendah hemoglobin. Selain itu pada korelasi antara selisih indeks apoptosis sel

dan selisih hemoglobin sebelum dan sesudah kemoterapi juga didapatkan korelasi negatif yang signifikan ($r = -0,89$; $p = 0,04$) yang dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi indeks apoptosis sel maka semakin rendah kadar hemoglobin.

Pada korelasi antara indeks apoptosis sel dengan leukosit sebelum induksi kemoterapi, sesudah induksi kemoterapi, dan korelasi antara selisih indeks apoptosis sel sebelum dan sesudah induksi kemoterapi dengan selisih leukosit sebelum dan sesudah induksi kemoterapi didapatkan masing-masing dengan korelasi negatif yang tidak signifikan, tidak signifikan, dan signifikan dengan koefisien korelasi dan nilai p masing-masing $r = -0,8$; $p = 0,09$, $r = -0,51$; $p = 0,38$, $r = -0,93$; $p = 0,018$. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa semakin tinggi indeks apoptosis sel maka akan semakin rendah jumlah leukosit.

Kemudian untuk korelasi antara indeks apoptosis sel dan trombosit sebelum induksi kemoterapi, sesudah induksi kemoterapi serta korelasi antara selisih indeks apoptosis sel dan selisih trombosit sebelum dan setelah induksi kemoterapi didapatkan korelasi negatif yang tidak signifikan, signifikan, dan signifikan dengan koefisien korelasi dan nilai p masing-masing $r = -0,66$; $p = 0,22$, $r = -0,91$; $p = 0,02$, $r = -0,98$; $p = 0,002$. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi jumlah indeks apoptosis sel maka semakin rendah jumlah trombosit.

Hubungan antara indeks apoptosis sel dan ANC sebelum induksi kemoterapi, sesudah induksi kemoterapi, serta selisih antara indeks apoptosis sel dan selisih ANC sebelum dan sesudah induksi kemoterapi didapatkan korelasi negatif yang signifikan dengan koefisien korelasi dan nilai p masing-masing $r = -0,98$; $p = 0,002$, $r = -0,99$; $p = 0,001$, dan $r = -0,88$; $p = 0,04$. Dengan demikian dapat diartikan bahwa semakin tinggi indeks apoptosis sel maka semakin rendah nilai ANC.

Proses apoptosis sel memainkan peranan utama dalam pengaturan mekanisme *on/off* dari proses pembaharuan diri (*self-renewal*). Defek pada tiap-

tiap jalur dalam lingkungan mikro, meliputi apoptosis, memainkan peranan penting dalam patobiologi dari keganasan hematologi dan berkontribusi terhadap kerentanan akan terjadinya sitopenia, kapasitas pengembalian hematopoiesis, dan temuan yang abnormal pada sumsum tulang atau darah perifer (Carlesso & Cardoso, 2010). Kondisi ini tidak terlepas dari faktor-faktor risiko yang menyebabkan mielotoksisitas. Faktor risiko untuk mielotoksisitas secara umum dapat dikelompokkan menjadi 3: faktor penyakit, faktor penjamu, dan faktor terapi (Kurtin, 2012).

Pada faktor penyakit yaitu penyakit keganasan hematologi, insidensi, keparahan, dan durasi dari sitopenia mieloid sangat tinggi. Sitopenia dapat terjadi pada awal diagnosis sebagai akibat dari perkembangan seluler yang abnormal atau infiltrasi sumsum tulang. Dengan demikian, evaluasi beban tumor saat awal diagnosis pada pasien dengan keganasan hematologi merupakan langkah awal yang penting dalam mengestimasi risiko untuk sitopenia dengan inisiasi terapi. Tidak jarang didapatkan sitopenia sedang hingga berat pada fase awal terapi keganasan hematologi, karena target awal untuk terapi berada pada sumsum tulang, dan baik sel normal atau pun abnormal akan terpengaruh (Kurtin, 2012).

Selain faktor penyakit, kondisi tertentu pada masing-masing pasien dapat meningkatkan terjadinya sitopenia yang berhubungan dengan terapi. Proses penuaan hematopoiesis sering terjadi pada pasien dengan usia yang lebih tua yang disebabkan penurunan fungsi normal dari sumsum tulang dengan semakin meningkatnya usia. Sumsum tulang pada orang yang lebih tua secara umum kurang seluler (diestimasi sebagai % seluleritas sumsum tulang = $100 - \text{usia pasien dalam tahun}$) dengan kandungan lemak yang lebih tinggi, meningkatkan kerentanan terhadap terjadinya sitopenia. Pasien yang lebih tua sering mengalami gangguan fungsi ginjal dan hati yang dapat berkontribusi terhadap sitopenia yang disebabkan terganggunya metabolisme oleh agen-agen kemoterapi. Kondisi

komorbid dan obat-obatan yang berhubungan dapat berkontribusi terhadap penurunan fungsi sumsum tulang atau meningkatkan risiko dari interaksi obat-obatan dan efek samping yang berhubungan dengan terapi. Beberapa obat-obatan diketahui berhubungan dengan sitopenia yang tidak tergantung pada fungsi sumsum tulang, meliputi agen immunosupresif, obat-obatan antiinflamasi, dan antibiotik. Tinjauan yang baik terhadap obat-obatan yang dapat berkontribusi terhadap sitopenia penting dilakukan untuk membatasi keparahan dari efek samping dan menghindari modifikasi dosis yang tidak perlu dari terapi antineoplastik. Selain itu pada kondisi seorang pasien dengan malnutrisi juga dapat mempengaruhi banyak proses seluler termasuk hematopoiesis (Scripture & Figg, 2006; Kurtin, 2010).

Faktor selanjutnya yang berperan dalam mielotoksisitas yaitu faktor terapi. Mielosupresi yang diinduksi oleh kemoterapi merupakan efek samping bergantung dosis yang paling sering dialami pasien yang menerima terapi kanker. Insidensi, keparahan, dan durasi dari mielosupresi bervariasi pada masing-masing obat, bergantung pada variabel farmakokinetik dari dosis, frekuensi, rute pemberian, absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi (Undevia *et al.*, 2005). Masing-masing agen antineoplastik bervariasi dalam hal terjadinya onset dan durasi dari sitopenia. Secara umum sitopenia bergantung pada dosis sehingga pengurangan dosis atau penundaan dapat efektif dalam meminimalisasi keparahan dari sitopenia tetapi dapat juga membatasi potensi terapeutik dari terapi. Intensitas dosis dan terapi kombinasi merupakan pendekatan yang paling umum digunakan pada regimen terapi kanker dengan maksud untuk mendayagunakan mekanisme-mekanisme aksi yang berbeda dan kerentanan tumor dan menyeimbangkan kemampuan toksisitas. Namun demikian, peningkatan dosis dan kombinasi terapi sering meningkatkan potensi terjadinya sitopenia (Crawford *et al.*, 2011).

Pada kombinasi kemoterapi dan radiasi dapat pula mengenai regio yang memproduksi sumsum tulang pada area radiasi, yang akan meningkatkan potensi terjadinya sitopenia yang berat dan berkelanjutan. Hal ini dapat mengganggu pemberian terapi sistemik selama dan setelah kemoradioterapi. Pada pasien-pasien yang menerima terapi melebihi periode waktu tertentu, seperti pada kondisi penyakit yang telah bermetastasis, dapat terjadi mielotoksistas kumulatif dan berisiko terjadinya keganasan sekunder seperti LMA dan MDS (Sekeres, 2011; Chan *et al.*, 2012).

Dinilai dari sisi toksisitas, sitotoksitas yang diinduksi kemoterapi pada sistem hematopoiesis berakibat pada terjadinya anemia, neutropenia, dan trombositopenia. Mekanisme yang bertanggung jawab untuk deplesi sel eritroid mulai dapat dijelaskan, namun penjelasan biologi terjadinya neutropenia yang diinduksi kemoterapi dan trombositopenia masih belum dieksplorasi lebih jauh. Eritroblas menunjukkan kerentanan yang maksimal terhadap terjadinya apoptosis yang diinduksi oleh obat pada tahapan diferensiasi prebasofilik-basofilik dan apoptosis eritroblas yang diinduksi oleh kemoterapi dimediasi oleh aktivasi caspase dan hambatan peningkatan ekspresi dari Bcl-2 atau Bcl-XL (Iannolo *et al.*, 2008).

Anemia merupakan kondisi yang sering terjadi pada pasien dengan kanker, dengan insidensi 90%. Penyebab anemia pada pasien kanker bermacam-macam, meliputi penyebab metabolik dan nutrisi, penyakit kronis, insufisiensi ginjal, kehilangan darah, produksi yang inadkuat yang disebabkan penyakit sumsum tulang, kerusakan perifer yang disebabkan gangguan autoimun, aplasia sel darah merah yang induksi obat, dan anemia yang diinduksi oleh kemoterapi. Anemia disebabkan oleh multifaktor pada kebanyakan pasien kanker yang disebabkan oleh usia yang lebih tua, adanya komorbiditas dengan penggunaan obat-obatan tertentu, dan efek dari keganasan dan terapinya (Rodgers *et al.*, 2012). Anemia

yang diinduksi oleh kemoterapi lebih jarang dibandingkan neutropenia yang diinduksi kemoterapi. Hal ini disebabkan perbedaan dari siklus hidup sel darah merah, namun demikian, obat kemoterapi dapat berkontribusi terhadap anemia melalui gangguan hematopoiesis normal dan hambatan lingkungan sitokin (Crawford *et al.*, 2012).

Trombositopenia dan risiko perdarahan menghadirkan tantangan tersendiri pada pasien kanker yang menjalani terapi kanker. Seperti anemia, penyebabnya dapat multifaktor, meliputi penyakit yang mendasari, komorbiditas, obat-obatan yang dikonsumsi, kerusakan yang berhubungan dengan penyakit, atau sebagai efek langsung dari terapi pada makrofag pada *pool* mitosis. Jangka hidup dari keping darah matur dalam *pool* pasca mitosis mungkin hanya 24 jam, dengan demikian terdapat kebutuhan yang konstan untuk penggantian. Pasien dengan gangguan sumsum tulang, kerusakan perifer lanjut, atau peningkatan ambilan seperti pada kondisi splenomegali adalah risiko terjadinya trombositopenia lanjut.

Risiko perdarahan merupakan fokus utama pada pasien-pasien ini (Triluzi *et al.*, 2012). Pada penelitian yang dilakukan oleh Baaten *et al.* tahun 2018 yang meneliti terjadinya trombositopenia pada pasien LMA, LLA. Limfoma maligna dan keganasan hematologi lainnya yang menjalani kemoterapi. Dikatakan bahwa induksi kemoterapi oleh golongan antrasiklin menginduksi terjadinya apoptosis yang pada akhirnya akan menyebabkan kerusakan dari mitokondria. Pada penelitian tersebut didapatkan bahwa jumlah trombosit sebelum dimulai kemoterapi hampir sama dengan jumlah trombosit pada kelompok kontrol, namun setelah dilakukan kemoterapi didapatkan jumlah trombosit yang lebih rendah (Baaten *et al.*, 2018).

Neutropenia yang diinduksi oleh kemoterapi merupakan toksisitas bergantung dosis yang paling sering dihubungkan dengan terapi sistemik untuk kanker yang disebabkan efek sitotoksik terhadap neutrofil yang membelah dengan

cepat, begitu pula dengan kerusakan terhadap elemen stroma dan lingkungan sitokin. Granulosit matur, meliputi neutrofil, memiliki jangka hidup 1 hingga 3 hari, dengan demikian neutrofil akan memiliki kecepatan mitosis yang cepat dan kerentanan yang lebih besar terhadap kerusakan sitotoksik dibandingkan sel myeloid lainnya yang memiliki jangka hidup yang lebih panjang (trombosit 10-12 hari, eritrosit 120 hari). Permulaan dan durasi neutropenia bervariasi tergantung dari obat, dosis, frekuensi, dan faktor yang berhubungan dengan penjamu yang telah disebutkan sebelumnya. Prekursor neutrofil lebih banyak dibandingkan sel eritroid atau trombosit, terhitung lebih dari 50% sel hematopoiesis dalam sumsum tulang dan *pool*/pasca mitosis, dengan hanya 2% dalam sirkulasi dan 3% di dalam lien atau pembuluh darah (Crea *et al.*, 2009). Sel yang aktif membelah di dalam *pool* mitosis dan *pool* maturasi pasca mitosis adalah yang paling sensitif terhadap kemoterapi, sedangkan sel matur dan berdiferensiasi penuh pada darah perifer kurang sensitif. Derajat sensitifitas untuk sel yang berbeda-beda dalam proses maturasi, bersama dengan jangka hidup masing-masing sel, membantu menjelaskan waktu permulaan dan pemulihan dari sitopenia dan dasar pemberian faktor pertumbuhan sebagai terapi (Kurtin, 2012).

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan. Pertama, apoptosis dinilai tidak hanya dengan melihat indeks apoptosis sel tetapi juga dipengaruhi oleh marker proapoptosis (Bax, Bcl-10, Bak, Bid, Bad, Bim, Bik, NIK) dan antiapoptosis (Bcl-1, Bcl-x, Bcl-XL, Bcl-XS, Bcl-w, BAG, MCL-1) yang memerlukan penelitian lebih lanjut karena dapat mempengaruhi proses apoptosis sel dan respon kemoterapi. Kedua yaitu keterbatasan penegakan diagnosis seperti pemeriksaan sitogenetika (kariotipe konvensional, FISH, DNA sequencing), dan *immunophenotyping* (flow cytometry, imunohistokimia) yang dapat menentukan stratifikasi risiko dan besar pengaruhnya terhadap prognosis pasien juga tidak dapat dilakukan karena keterbatasan sarana diagnosis, ketidakberhasilan

kemoterapi selain dipengaruhi agen pro dan antiapoptosis juga dipengaruhi kelainan kromosom dan ada tidaknya leukemia *biphenotype*. Ketiga, pada penelitian ini belum didapatkan peningkatan dari hemoglobin, leukosit, trombosit, dan neutrophil pasca induksi kemoterapi. Hal ini dapat disebabkan karena peneliti melakukan pemeriksaan pada hari ke-14 pasca induksi kemoterapi, masih dapat disebabkan karena proses pembersihan sel blas dari sumsum tulang oleh kemoterapi belum maksimal. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Grunnan dan Rosthøj pada tahun 2019 menyatakan bahwa proses pembersihan sel blas biasanya dicapai setelah empat minggu pemberian kemoterapi. Setelah itu akan terjadi regenerasi sel eritrosit, leukosit, trombosit, dan neutrophil (Grunnan & Rosthøj, 2019). Selain itu jumlah sampel yang sedikit dapat mempengaruhi juga beberapa hasil korelasi antara indeks apoptosis sel terhadap hemoglobin, leukosit, trombosit, dan ANC yang tidak signifikan.

BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

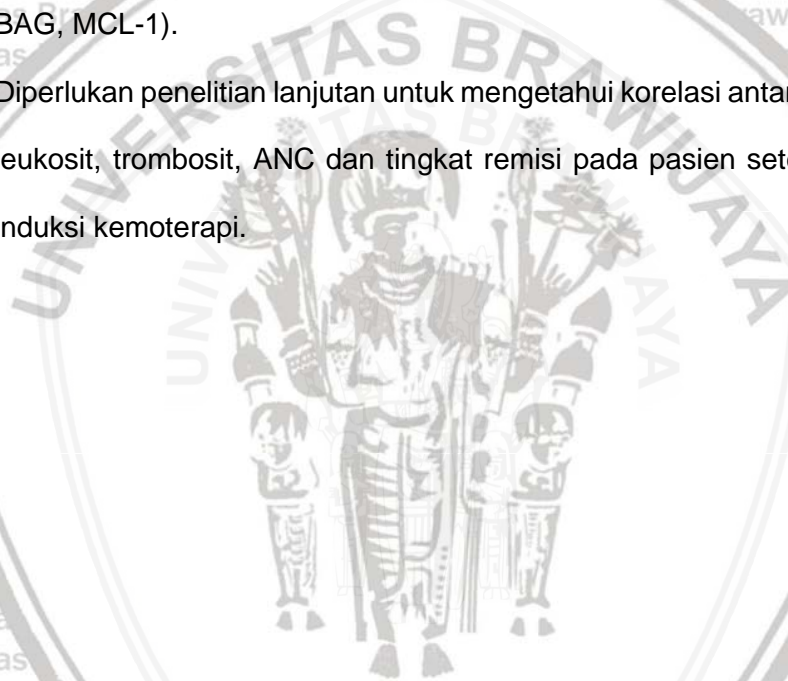
7. 1. Kesimpulan

Dari penelitian ini dapat diambil beberapa kesimpulan sebagai berikut:

1. Terdapat peningkatan yang bermakna pada indeks apoptosis sel sesudah induksi kemoterapi.
2. Terdapat korelasi negatif yang bermakna antara indeks apoptosis sel dan hemoglobin sebelum dan sesudah induksi kemoterapi, serta antara selisih indeks apoptosis sel sebelum dan sesudah induksi kemoterapi dan selisih kadar hemoglobin sebelum dan sesudah induksi kemoterapi.
3. Terdapat korelasi negatif yang tidak bermakna antara indeks apoptosis sel dan leukosit sebelum dan sesudah induksi kemoterapi dan didapatkan korelasi negatif yang bermakna antara selisih indeks apoptosis sel sebelum dan sesudah induksi kemoterapi dan selisih leukosit sebelum dan sesudah induksi kemoterapi.
4. Terdapat korelasi negatif yang tidak bermakna antara indeks apoptosis sel dan trombosit sebelum induksi kemoterapi, dan didapatkan korelasi negatif yang bermakna antara indeks apoptosis sel dan trombosit sesudah induksi kemoterapi dan antara selisih indeks apoptosis sel sebelum dan sesudah induksi kemoterapi dan selisih trombosit sebelum dan sesudah induksi kemoterapi.
5. Terdapat korelasi negatif yang bermakna antara indeks apoptosis sel dan ANC sebelum dan sesudah induksi kemoterapi, serta antara selisih indeks apoptosis sel sebelum dan sesudah induksi kemoterapi dan selisih ANC sebelum dan sesudah induksi kemoterapi.

7. 2. Saran

1. Diperlukan penelitian lanjutan dengan durasi yang lebih lama hingga pasien selesai menjalani protokol kemoterapi untuk menilai perbedaan indeks apoptosis sel sebelum dan sesudah kemoterapi.
2. Diperlukan penelitian lanjutan untuk mengetahui hubungan antara indeks apoptosis sel dengan marker-marker proapoptosis (Bax, Bcl-10, Bak, Bid, Bad, Bim, Bik, NIK) dan antiapoptosis (Bcl-1, Bcl-x, Bcl-XL, Bcl-XS, Bcl-w, BAG, MCL-1).
3. Diperlukan penelitian lanjutan untuk mengetahui korelasi antara hemoglobin, leukosit, trombosit, ANC dan tingkat remisi pada pasien setelah dilakukan induksi kemoterapi.



DAFTAR PUSTAKA

Aplenc R., Alonzo T.A., Gerbing R.B., Smith F.O., Meshinchi S., Ross J.A., Perentesis J., Woods W.G., Lange B.J. and Davies S.M. 2006. Ethnicity and Survival in Childhood Acute Myeloid Leukemia: A Report from the Children's Oncology Group. *Blood*, 108(1): 74-80.

Arbiser J.L., Bonner M.Y. and Gilbert L.C. 2017. Targeting the Duality of Cancer. *NPJ Precision Oncology*, 1(1): 1-7.

Arikunto, S. 2002 *Prosedur Penelitian Suatu Pendekatan Praktik*, Rineka Cipta, Jakarta.

Baaten C.C., Moenen F.C., Henskens Y.M., Swieringa F., Wetzels R.J., Van Oerle R., Heijnen H.F., Ten Cate H., Holloway G.P., Beckers E.A. and Heemskerk J.W. 2018. Impaired Mitochondrial Activity Explains Platelet Dysfunction in Thrombocytopenic Cancer Patients undergoing Chemotherapy. *Haematologica*, 103(9): 1557-1567.

Betz, B.L. and Hess, J.L. 2010. Acute myeloid leukemia diagnosis in the 21st century. *Archives of pathology & laboratory medicine*, 134(10): 1427-1433.

Boersma H.H., Kietselaer B.L., Stolk L.M., Bennaghmouch A., Hofstra L., Narula J., Heidendal G.A. and Reutelingsperger C.P. Past, Present, and Future of Annexin A5: from Protein Discovery to Clinical Applications. *Journal of Nuclear Medicine*, 2005, 46(12): 2035-2050.

Buldini B., Rizzati F., Masetti R., Fagioli F., Menna G., Micalizzi C., Putti M.C., Rizzari C., Santoro N., Zecca M. and Disarò S. 2017. Prognostic Significance of Flow-Cytometry Evaluation of Minimal Residual Disease in Children with Acute Myeloid Leukaemia Treated according to the AIEOP-AML 2002/01 Study Protocol. *British Journal of Haematology*, 177(1): 116-126.

Burg E.D., Remillard C.V. and Yuan J.J. 2006. K+ Channels in Apoptosis. *The Journal of Membrane Biology*, 209(1): 3.

Carlesso N. and Cardoso A.A. 2010. Stem Cell Regulatory Niches and Their Role in Normal and Malignant Hematopoiesis. *Current Opinion in Hematology*, 17(4): 281-286.

Ceppi F., Brown A., Betts D.R., Niggli F. and Popovic M.B. 2009. Cytogenetic Characterization of Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia in Nicaragua. *Pediatric Blood & Cancer*, 53(7): 1238-1241.

Chan A., Verma S., Loibl S., Crawford J., Choi M.R., Dreiling L. and Vandenberg T. 2012. Reporting of Myelotoxicity associated with Emerging Regimens for the Treatment of Selected Solid Tumors. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 81(2): 136-150.

Chang F., Shamsi T.S. and Waryah A.M. 2016. Clinical and Hematological Profile of Acute Myeloid Leukemia (AML) Patients of Sindh. *Journal of Hematology & Thromboembolic Diseases*.

Chessells J.M., Harrison C.J., Kempski H., Webb D.K.H., Wheatley K., Hann I.M., Stevens R.F., Harrison G. and Gibson B.E. 2002. Clinical Features, Cytogenetics and Outcome in Acute Lymphoblastic and Myeloid Leukaemia of Infancy: Report from the MRC Childhood Leukaemia Working Party. *Leukemia*, 16(5): 776-784.

Chilmi S., Gebyarani I., Monica L.I., Pavliando J.R., Nugroho S. and Widjajanto E. 2014. Protein terkait Apoptosis pada Leukemia Limfoblastik Akut. *Clinical Pathology and Medical Laboratory*, 210.

Chow E.J., Liu W., Srivastava K., Leisenring W.M., Hayashi R.J., Sklar C.A., Stovall M., Robison L.L. and Baker K.S. 2013. Differential Effects of Radiotherapy on Growth and Endocrine Function among Acute Leukemia Survivors: A Childhood Cancer Survivor Study Report. *Pediatric Blood & Cancer*, 60(1): 110-115.

Ciobotaro P., Drucker L., Neumann A., Shapiro H., Shapira J., Radnay J. and Lishner M. 2003. The Effects of Doxorubicin on Apoptosis and Adhesion Molecules of Normal Peripheral Blood Leukocytes—An Ex Vivo Study. *Anti-Cancer Drugs*, 14(5): 383-389.

Clavel J., Goubin A., Auclerc M.F., Auvrignon A., Waterkeyn C., Patte C., Baruchel A., Leverger G., Nelken B., Philippe N. and Sommelet D. 2004. Incidence of Childhood Leukaemia and Non-Hodgkin's Lymphoma in France: National Registry of Childhood Leukaemia and Lymphoma, 1990–1999. *European Journal of Cancer Prevention*, 13(2): 97-103.

Crawford J., Allen J., Armitage J., Blayney D.W., Cataland S.R., Heaney M.L., Htoy S., Hudock S., Kloth D.D., Kuter D.J. and Lyman G.H. 2011. Myeloid



Growth Factors. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network*, 9(8): 914-932.

Crea F., Giovannetti E., Zinzani P.L. and Danesi R. 2009. Pharmacologic Rationale for Early G-CSF Prophylaxis in Cancer Patients and Role of Pharmacogenetics in Treatment Optimization. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 72(1): 21-44.

Creutzig U., van den Heuvel-Eibrink M.M., Gibson B., Dworzak M.N., Adachi S., de Bont E., Harbott J., Hasle H., Johnston D., Kinoshita A. and Lehrnbecher T. 2012. Diagnosis and Management of Acute Myeloid Leukemia in Children and Adolescents: Recommendations from an International Expert Panel. *Blood*, 120(16): 3187-3205.

Dahlan M.S. 2014. *Statistik Untuk Kedokteran dan Kesehatan*, Edisi Keenam, Epidemiologi Indonesia, Jakarta, hal. 7.

Damm F., Heuser M., Morgan M., Yun H., Großhennig A., Göhring G., Schlegelberger B., Döhner K., Ottmann O., Lübbert M. and Heit W. 2010. Single Nucleotide Polymorphism in the Mutational Hotspot of WT1 Predicts A Favorable Outcome in Patients with Cytogenetically Normal Acute Myeloid Leukemia. *Journal of Clinical Oncology*, 28(4): 578-585.

Elgarten, C.W. and Aplenc, R., 2020. Pediatric acute myeloid leukemia: updates on biology, risk stratification, and therapy. *Current Opinion in Pediatrics*, 32(1), 57-66.

Fadok V.A. and Henson P.M. 2003. Apoptosis: Giving Phosphatidylserine Recognition an Assist—with a Twist. *Current Biology*, 13(16): R655-R657.

Ferhat M, 2017. "Measuring Apoptosis in Real Time by Linking Luciferase Fragments to Annexin V" [power point presentation], (Online). Melalui <https://www.slideshare.net/MouradFERHATPhD/measuring-apoptosis-in-real-time-by-linking-luciferase-fragments-to-annexin-v-mourad-ferhat-omega-france-hamamatsu-european-drug-screening-symposium> [07/14/2019].

Gamis A.S., Alonzo T.A., Perentesis J.P., Meshinchi S. and COG Acute Myeloid Leukemia Committee. 2013. Children's Oncology Group's 2013 Blueprint for Research: Acute Myeloid Leukemia. *Pediatric Blood & Cancer*, 60(6): 964-971.

Grimwade D. and Hills R.K. 2009. Independent Prognostic Factors for AML Outcome. *ASH Education Program Book*, 2009(1): 385-395.

Grunnan, J.D. and Rosthøj, S., 2019. Time course of peripheral blood count recovery during induction chemotherapy for childhood acute lymphoblastic leukemia. *Hematology*, 24(1), 467-472.

Hanahan D. and Weinberg R.A. 2011. Hallmarks of Cancer: the Next Generation. *Cell*, 144(5): 646-674.

Hann I.M., Blanchette V.S. and Lilleyman J.S. 2000. (eds.). *Pediatric Hematology*, 2nd Ed., Churchill Livingstone, London.

Hassan M., Watari H., AbuAlmaaty A., Ohba Y. and Sakuragi N. 2014. Apoptosis and Molecular Targeting Therapy in Cancer. *BioMed Research International*.

Hjalgrim L.L., Rostgaard K., Schmiegelow K., Söderhäll S., Kolmannskog S., Vettenranta K., Kristinsson J., Clausen N., Melbye M., Hjalgrim H. and Gustafsson G. 2003. Age- and Sex-Specific Incidence of Childhood Leukemia by Immunophenotype in the Nordic Countries. *Journal of the National Cancer Institute*, 95(20): 1539-1544.

Iannolo G., Conticello C., Memeo L. and De Maria R. 2008. Apoptosis in Normal and Cancer Stem Cells. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 66(1): 42-51.

Ikatan Dokter Anak Indonesia. 2018. *Buku Ajar Hematologi Onkologi Anak*, Badan Penerbit Ikatan Dokter Anak Indonesia, Jakarta, hal. 276-287.

Inaba H., Greaves M. and Mullighan C.G. 2013. Acute Lymphoblastic Leukaemia. *The Lancet*, 381(9881): 1943-1955.

Johnston D.L., Alonzo T.A., Gerbing R.B., Lange B.J. and Woods W.G. 2012. Superior Outcome of Pediatric Acute Myeloid Leukemia Patients with Orbital and CNS Myeloid Sarcoma: a Report from the Children's Oncology Group. *Pediatric Blood & Cancer*, 58(4): 519-524.

Kaparou M., Choumerianou D., Perdikogianni C., Martimianaki G., Kalmanti M. and Stiakaki E. 2013. Enhanced Levels of the Apoptotic BAX/BCL-2 Ratio in Children with Acute Lymphoblastic Leukemia and High-Risk Features. *Genetics and Molecular Biology*, 36(1): 7-11.

Kaspers G.J.L. and Creutzig U. 2005. Pediatric Acute Myeloid Leukemia: International Progress and Future Directions. *Leukemia*, 19(12): 2025-2029.

Kenis H., Hofstra L. and Reutelingsperger C.P.M. 2007. Annexin A5: Shifting from a Diagnostic towards a Therapeutic Realm. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 64(22): 2859-2862.

Kenis H., van Genderen H., Bennaghmouch A., Rinia H.A., Frederik P., Narula J., Hofstra L. and Reutelingsperger C.P. 2004. Cell Surface-Expressed Phosphatidylserine and Annexin A5 Open a Novel Portal of Cell Entry. *Journal of Biological Chemistry*, 279(50): 52623-52629.

Kurtin S. 2010. Risk Analysis in the Treatment of Hematological Malignancies in the Elderly. *Journal of the Advanced Practitioner in Oncology*, 1: 119-129.

Kurtin S. 2012. Myeloid Toxicity of Cancer Treatment. *Journal of the Advanced Practitioner in Oncology*, 3(4): 209.

Lange B.J., Gerbing R.B., Feusner J., Skolnik J., Sacks N., Smith F.O. and Alonzo T.A. 2005. Mortality in Overweight and Underweight Children with Acute Myeloid Leukemia. *JAMA*, 293(2): 203-211.

Lange B.J., Smith F.O., Dinndorf P.A., Arndt C.A., Barnard D.R., Dusenbery K., Feig S.A., Feusner J.H., Luna-Fineman S., Neglia J. and Seibel N.L. 2005. Outcomes in CCG-2961, a Children's Cancer Group Phase III Trial for Untreated Acute Myeloid Leukemia (AML).

Lin W.L., Li D.G., Chen Q. and Lu H.M. 2004. Clinical and Experimental Study of Oxaliplatin in Treating Human Gastric Carcinoma. *World Journal of Gastroenterology: WJG*, 10(19): 2911.

Llambi F. and Green D.R. 2011. Apoptosis and Oncogenesis: Give and Take in the BCL-2 Family. *Current Opinion in Genetics & Development*, 21(1): 12-20.

Loken M.R., Alonzo T.A., Pardo L., Gerbing R.B., Raimondi S.C., Hirsch B.A., Ho P.A., Franklin J., Cooper T.M., Gamis A.S. and Meshinchi S. 2012. Residual Disease Detected by Multidimensional Flow Cytometry Signifies High Relapse Risk in Patients with De Novo Acute Myeloid Leukemia: a Report from Children's Oncology Group. *Blood*, 120(8): 1581-1588.

Lüthi A.U. and Martin S.J. 2007. The CASBAH: A Searchable Database of Caspase Substrates. *Cell Death and Differentiation*, 14(4): 641.

Mandegar M., Fung Y.C.B., Huang W., Remillard C.V., Rubin L.J. and Yuan J.X.J. 2004. Cellular and Molecular Mechanisms of Pulmonary Vascular Remodeling: Role in the Development of Pulmonary Hypertension. *Microvascular Research*, 68(2): 75-103.

- McNeil M.J., Parisi M.T., Hijiya N., Meshinchi S., Cooper T. and Tarlock K. 2019. Clinical and Radiographic Response of Extramedullary Leukemia in Patients Treated with Gemtuzumab Ozogamicin. *Journal of Pediatric Hematology/Oncology*, 41(3): e174-e176.
- Menendez P., Vargas A., Bueno C., Barrera S., Almeida J., De Santiago M., Lopez A., Roa S., San Miguel J.F. and Orfao A. 2004. Quantitative Analysis of Bcl-2 Expression in Normal and Leukemic Human B-Cell Differentiation. *Leukemia*, 18(3): 491.
- Murphy T. and Yee K.W. 2017. Cytarabine and Daunorubicin for the Treatment of Acute Myeloid Leukemia. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 18(16): 1765-1780.
- Oliansky D.M., Rizzo J.D., Aplan P.D., Arceci R.J., Leone L., Ravindranath Y., Sanders J.E., Smith III F.O., Wilmot F., McCarthy Jr P.L. and Hahn T. 2007. The Role of Cytotoxic Therapy with Hematopoietic Stem Cell Transplantation in the Therapy of Acute Myeloid Leukemia in Children: An Evidence-Based Review. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, 13(1): 1-25.
- Pepper C, Hoy T, dan Bentley DP. 1997. Bcl-2/Bax Ratios in Chronic Lymphocytic Leukaemia and Their Correlation with in Vitro Apoptosis and Clinical Resistance. *British Journal of Cancer*, 76(7): 935–938.
- Perdani R.R.W. and Sudarmanto B. 2018. Hematological Parameters and Remission Induction of Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. *Paediatrica Indonesiana*, 58(2): 71-4.
- Petridou E., Dalamaga M., Mentis A., Skalkidou A., Moustaki M., Karpathios T. and Trichopoulos D. 2001. Evidence on the Infectious Etiology of Childhood Leukemia: the Role of Low Herd Immunity (Greece). *Cancer Causes & Control*, 12(7), 645-652.
- Pizzo P.A. and Poplack D.G. 2015. *Principles and Practice of Pediatric Oncology*, 7th Ed., Wolters Kluwer, Philadelphia.
- Pratiknya A.W. 2001. *Dasar-Dasar Metodologi Penelitian dan Kesehatan*. Grafindo Persada, Jakarta.
- Pui C.H. 2011. *Acute Lymphoblastic Leukemia*, Springer, Berlin Heidelberg, 23-26.

Pui C.H., Schrappe M., Ribeiro R.C. and Niemeyer C.M. 2004. Childhood and Adolescent Lymphoid and Myeloid Leukemia. *ASH Education Program Book*, 2004(1): 118-145.

Radhi M., Meshinchi S. and Gamis A. 2010. Prognostic Factors in Pediatric Acute Myeloid Leukemia. *Current Hematologic Malignancy Reports*, 5(4): 200-206.

Richter R.P., Him J.L.K., Tessier B., Tessier C. and Brisson A.R.. 2005. On the kinetics of adsorption and two-dimensional self-assembly of annexin A5 on supported lipid bilayers. *Biophysical Journal*, 89(5): 3372-3385.

Rihani R., Bazzeh F., Faqih N. and Sultan I. 2010. Secondary Hematopoietic Malignancies in Survivors of Childhood Cancer: An Analysis of 111 Cases from the Surveillance, Epidemiology, and End Result-9 Registry. *Cancer*, 116(18): 4385-4394.

Rodgers G.M., Becker P.S., Blinder M., Cella D., Chanan-Khan A., Cleeland C., Coccia P.F., Djulbegovic B., Gilreath J.A., Kraut E.H. and Matulonis U.A. 2012. Cancer- and Chemotherapy-Induced Anemia. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network*, 10(5): 628-653.

Rubnitz J.E., Lensing S., Razzouk B.I., Pounds S., Pui C.H. and Ribeiro R.C. 2007. Effect of Race on Outcome of White and Black Children with Acute Myeloid Leukemia: the St. Jude Experience. *Pediatric Blood & Cancer*, 48(1): 10-15.

Sarvothaman S., Undi R.B., Pasupuleti S.R., Gutti U. and Gutti R.K. 2015. Apoptosis: Role in Myeloid Cell Development. *Blood Research*, 50(2): 73-79.

Schmiegelow K., Nersting J., Nielsen S.N., Heyman M., Wesenberg F., Kristinsson J., Vetteranta K., Schrøder H., Weinshilboum R., Jensen K.L. and Grell K. 2016. Maintenance Therapy of Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia Revisited—Should Drug Doses be Adjusted by White Blood Cell, Neutrophil, or Lymphocyte Counts?. *Pediatric Blood & Cancer*, 63(12): 2104-2111.

Scripture C.D. and Figg W.D. 2006. Drug Interactions in Cancer Therapy. *Nature Reviews Cancer*, 6(7): 546-558.

Sekeres M.A. 2011. Epidemiology, Natural History, and Practice Patterns of Patients with Myelodysplastic Syndromes in 2010. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network*, 9(1): 57-63.

Seth R., Pathak N., Singh A., Chopra A., Kumar R. and Kalaivani M. 2017. Pediatric Acute Myeloid Leukemia: Improved Survival Rates in India. *The Indian Journal of Pediatrics*, 84(2): 166-167.

Singh A., Bhatia P., Trehan A., Bansal D., Singh A. and Bhatia A. 2018. Low Spontaneous Apoptosis Index at Diagnosis Predicts a High-Risk Phenotype in Paediatric Acute Lymphoblastic Leukaemia. *The Indian Journal of Medical Research*, 147(3): 248.

Smith C., Gibson D.F. and Tait J.F. 2009. Transmembrane Voltage Regulates Binding of Annexin V and Lactadherin to Cells with Exposed Phosphatidylserine. *BMC biochemistry*, 10(1): 5.

Stelmaszczyk-Emmel A., Malinowska I., Wasik M. and Rokicka-Milewska R. 2002. Apoptosis and Ph of Blasts in Acute Childhood Leukemia. *Medical Science Monitor*, 8(6): CR441-CR447.

Supriyadi E., Widjajanto P.H., Purwanto I., Cloos J., Veerman A.J. and Sutaryo S. 2011. Incidence of Childhood Leukemia in Yogyakarta, Indonesia, 1998–2009. *Pediatric Blood & Cancer*, 57(4): 588-593.

Tanzilia M.F., Cahyadi A., Hermaningsih Y., Retnowati E. and Ugrasena I.D.G. 2017. CD4+ T-Cell, CD8+ T-Cell, CD4+/CD8+ Ratio, and Apoptosis As a Response to Induction Phase Chemotherapy in Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia. *Paediatrica Indonesiana*, 57(3): 138-44.

Tarlock K., Cooper T.M. 2019. "Acute Myeloid Leukemia in Children and Adolescents", *Up-to-Date*. Melalui https://www.uptodate.com/contents/acute-myeloid-leukemia-in-children-and-adolescents?search=acute%20myeloid%20leukemia&source=search_result&selectedTitle=1~150&usage_type=default&display_rank=1 [07/14/2019]

Taylor R.C., Cullen S.P. and Martin S.J. 2008. Apoptosis: Controlled Demolition at the Cellular Level. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 9(3): 231.

Teepen J.C. and van Dijck J.A. 2012. Impact of High Electromagnetic Field Levels on Childhood Leukemia Incidence. *International Journal of Cancer*, 131(4): 769-778.

Triulzi D.J., Assmann S.F., Strauss R.G., Ness P.M., Hess J.R., Kaufman R.M., Granger S. and Slichter S.J. 2012. The Impact of Platelet Transfusion Characteristics on Posttransfusion Platelet Increments and Clinical



Bleeding in Patients with Hypoproliferative Thrombocytopenia. *Blood*, 119(23): 5553-5562.

Tsukimoto I., Tawa A., Horibe K., Tabuchi K., Kigasawa H., Tsuchida M., Yabe H., Nakayama H., Kudo K., Kobayashi R. and Hamamoto K. 2009. Risk-Stratified Therapy and the Intensive Use of Cytarabine Improves the Outcome in Childhood Acute Myeloid Leukemia: The AML99 Trial from the Japanese Childhood AML Cooperative Study Group. *Journal of Clinical Oncology*, 27(24): 4007-4013.

Tyagi A., Pramanik R., Bakhshi R., Vishnubhatla S. and Bakhshi S. 2019. Apoptosis: A Biomarker of High-Risk Phenotype in Pediatric Acute Myeloid Leukemia?. *International Journal of Laboratory Hematology*, 41(1): 141-147.

Undevia S.D., Gomez-Abuin G. and Ratain M.J. 2005. Pharmacokinetic Variability of Anticancer Agents. *Nature Reviews Cancer*, 5(6): 447-458.

Urayama KY, Buffler PA, Gallagher ER, Ayoub JM, Ma X. 2010. A Meta-Analysis of the association between Day-Care Attendance and Childhood Acute Lymphoblastic Leukaemia. *International Journal of Epidemiology*, 39(3): 718-32.

Van der Velden V.H.J., Van der Sluijs-Geling A., Gibson B.E.S., Te Marvelde J.G., Hoogeveen P.G., Hop W.C.J., Wheatley K., Bierings M.B., Schuurhuis G.J., De Graaf S.S.N. and Van Wering E.R. 2010. Clinical Significance of Flowcytometric Minimal Residual Disease Detection in Pediatric Acute Myeloid Leukemia Patients Treated according to the DCOG ANLL97/MRC AML12 Protocol. *Leukemia*, 24(9), 1599.

Van Heerde W.L., Robert-Offerman S., Dumont E., Hofstra L., Doevendans P.A., Smits J.F., Daemen M.J. and Reutelingsperger C.P. 2000. Markers of Apoptosis in Cardiovascular Tissues: Focus on Annexin V. *Cardiovascular Research*, 45(3): 549-559.

Villela, L. and Bolanos-Meade, J. 2011. Acute Myeloid Leukaemia. *Drugs*, 71(12): 1537-1550.

Williams, L.A., Richardson, M., Marcotte, E.L., Poynter, J.N. and Spector, L.G. 2019. Sex ratio among childhood cancers by single year of age. *Pediatric blood & cancer*, 66(6), p.e27620.

Willems G.M., Janssen M.P., Comfurius P., Galli M., Zwaal R.F. and Bevers E.M. 2000. Competition of Annexin V and Anticardiolipin Antibodies for Binding


to Phosphatidylserine Containing Membranes. *Biochemistry*, 39(8): 1982-1989.

Zaman S, Wang R. and Gandhi V. 2014. Targeting the Apoptosis Pathway in Hematologic Malignancies. *Leukemia & Lymphoma*, 55(9): 1980-1992.



LAMPIRAN 1

SURAT KETERANGAN LAIK ETIK

 **RUMAH SAKIT UMUM DAERAH Dr. SAIFUL ANWAR MALANG**
Jl. Jaks Agung Suprpto No.2 Malang
KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN
TERAKREDITASI SNARS EDISI 1 INTERNASIONAL
☆☆☆☆☆☆
18 Februari 2018 s.d. 18 Februari 2021
Jl. Jaks Agung Suprpto No.2 MALANG 65111
Telp. (0341) 362101, Fax. (0341) 369384
E-mail : staf-rsu-drsaifulanwar@jatimprov.go.id
Website : www.rsusaifulanwar.jatimprov.go.id

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK
PELAKSANAAN PENELITIAN**

("ETHICAL CLEARANCE")

No: 400/126/K.3/302 /2020

**KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN RSUD Dr SAIFUL ANWAR MALANG,
SETELAH MEMPELAJARI DENGAN SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG
DIUSULKAN, DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN DENGAN**

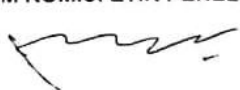
**JUDUL : INDEKS APOPTOSIS SEL UNTUK MENILAI RESPON KEMOTERAPI PADA
PASIEN LEUKIMIA MIELOBLASTIK AKUT ANAK**

PENELITI UTAMA : dr. ARIEF RAHMAN

UNIT / LEMBAGA / TEMPAT PENELITIAN

RSUD Dr. SAIFUL ANWAR MALANG

DINYATAKAN LAIK ETIK

MALANG, 6 MEI 2020
KETUA TIM KOMISI ETIK PENELITIAN

dr. HIDAYAT SUJUTI, PhD, Sp.M

LAMPIRAN 2

PENJELASAN UNTUK MENGIKUTI PENELITIAN

1. Saya adalah dr. Arief Rahman yang merupakan dokter PPDS Ilmu Kesehatan Anak FKUB/RS d. Saiful Anwar Malang dengan ini meminta Bapak/Ibu/Saudara untuk mengizinkan anak Bapak/Ibu/Saudara untuk berpartisipasi dengan sukarela dalam penelitian yang berjudul “Indeks Apoptosis Sel untuk Menilai Respon Kemoterapi pada Pasien Leukemia Mieloblastik Akut Anak.”
2. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui bagaimana indeks apoptosis sel untuk menilai respon setelah induksi kemoterapi pada pasien Leukemia Mieloblastik Akut Anak dan dapat memberi manfaat untuk mengetahui efektifitas protokol kemoterapi dan respon pemberian kemoterapi tersebut pada pasien. Penelitian ini akan berlangsung selama 6 bulan dan sampel berupa darah vena sebanyak 3 ml yang akan diambil dengan cara flebotomi.
3. Prosedur pengambilan sampel dengan cara memasukkan spuit ke dalam pembuluh darah vena dan dilakukan penarikan darah sebanyak 3 ml. Cara ini mungkin menyebabkan rasa nyeri dan tidak nyaman setelah pengambilan darah tetapi anda tidak perlu khawatir karena pengambilan sampel dilakukan oleh petugas professional dan bila terjadi perdarahan maka akan dilakukan tindakan bebat tekan atau kompres dan obat anti nyeri bila diperlukan. Semua biaya pengobatan yang dikarenakan sebagai akibat dari tindakan penelitian akan ditanggung oleh peneliti.
4. Keuntungan yang Bapak/Ibu/Saudara dan anak Bapak/Ibu/Saudara peroleh dalam keikutsertaan dalam penelitian ini adalah dapat menilai bagaimana respon tubuh anak Bapak/Ibu/Saudara setelah dilakukan induksi kemoterapi untuk menilai efektifitas dari obat kemoterapi.
5. Seandainya Bapak/Ibu/Saudara tidak menyetujui, Bapak/Ibu/Saudara boleh tidak mengikuti penelitian ini sama sekali, dan tidak akan mempengaruhi pelayanan rumah sakit terhadap anda.
6. Nama dan jati diri anak Bapak/Ibu/Saudara akan tetap dirahasiakan, sehingga diharapkan Bapak/Ibu/Saudara tidak merasa khawatir dan dapat

mengisi kuesioner sesuai kenyataan dan pengalaman Bapak/Ibu/Saudara yang sebenarnya.

7. Keputusan ini dibuat oleh orang tua/wali pasien setelah menerima penjelasan dari peneliti.

8. Peneliti akan memberikan tanda terima kasih kepada anak Bapak/Ibu/Saudara berupa alat tulis.

9. Biaya pemeriksaan tambahan akan ditanggung oleh peneliti.

Peneliti Utama

dr. Arief Rahman



**PERNYATAAN PERSETUJUAN UNTUK
BERPARTISIPASI DALAM PENELITIAN**

Saya yang bertanda tangan dibawah ini menyatakan bahwa:

1. Saya telah mengerti tentang apa yang tercantum dalam lembar penjelasan diatas dan telah dijelaskan oleh peneliti.
2. Dengan ini saya menyatakan bahwa secara sukarela mengijinkan anak saya untuk ikut serta menjadi salah satu subjek penelitian yang berjudul "Indeks Apoptosis Sel untuk Menilai Respon Kemoterapi pada Pasien Leukemia Mieloblastik Akut Anak."

Malang, 2020

Peneliti

Yang membuat pernyataan

dr. Arief Rahman

(.....)

Saksi 1

Saksi 2

(.....)

(.....)



LAMPIRAN 3

Data Deskriptif

Indeks Apoptosis Pre	Indeks Apoptosis Pos	Δ Indeks Apoptosis
1.41	3.74	2.33
1.38	10.43	9.05
3.27	8.73	5.46
3.78	7.21	3.43
1.17	10.56	9.39

Hb Pre	Hb Pos	Δ Hb	WBC Pre	WBC Pos	Δ WBC
12.50	9.80	-2.70	6660	7110	450
13.00	7.30	-5.70	5730	820	-4910
11.30	8.80	-2.50	1840	1380	-460
10.10	9.00	-1.10	3490	2140	-1350
14.70	7.00	-7.70	11060	5870	-5190

PLT Pre	PLT Pos	Δ PLT	ANC Pre	ANC Pos	Δ ANC
151000	140000	-11000	4360	2960	-1400
320000	100000	-220000	4460	1060	-3400
207000	94000	-113000	2650	1480	-1170
125000	122000	-3000	2130	2000	-130
393000	75000	-218000	5170	900	-4270



Normalitas

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Diff_Apo	.235	5	.200*	.889	5	.354
Diff_Hb	.278	5	.200*	.921	5	.534
Diff_Leu	.243	5	.200*	.861	5	.232
Diff_Trom	.239	5	.200*	.838	5	.161
Diff_Anc	.254	5	.200*	.931	5	.600

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Uji Beda (Ringkasan)

Uji	Variabel	Rata-rata	Nilai P
Uji T	Indeks Apoptosis Pre	2,2 ± 1,22	0,014
	Indeks Apoptosis Pos	8,13 ± 2,81	
Uji T	Hb Pre	12,32 ± 1,74	0,031
	Hb Pos	8,38 ± 1,18	
Uji T	WBC Pre	5756 ± 3514,97	0,12
	WBC Pos	3464 ± 2835,88	
Uji T	PLT Pre	239200 ± 114062,26	0,094
	PLT Pos	106200 ± 25262,62	
Uji T	ANC Pre	3754 ± 1296,81	0,053
	ANC Post	1680 ± 832,70	

Komparasi (Uji Beda)
Uji T Berpasangan

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	Df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	Indeks_Apoptosis_Sel_Pre - Indeks_Apoptosis_Sel_Post	-5.93200	3.20690	1.43417	-9.91389	-1.95011	-4.136	4	.014
Pair 2	Hb_Pre - Hb_Post	3.94000	2.68849	1.20233	.60179	7.27821	3.277	4	.031
Pair 3	Leukosit_Pre - Leukosit_Post	2292.00000	2598.77279	1162.20652	-934.80261	5518.80261	1.972	4	.120
Pair 4	Trombosit_Pre - Trombosit_Post	133000.00000	135994.48518	60818.58269	-35859.45621	301859.45621	2.187	4	.094
Pair 5	ANC_Pre - ANC_Post	2074.00000	1705.23605	762.60475	-43.33022	4191.33022	2.720	4	.053



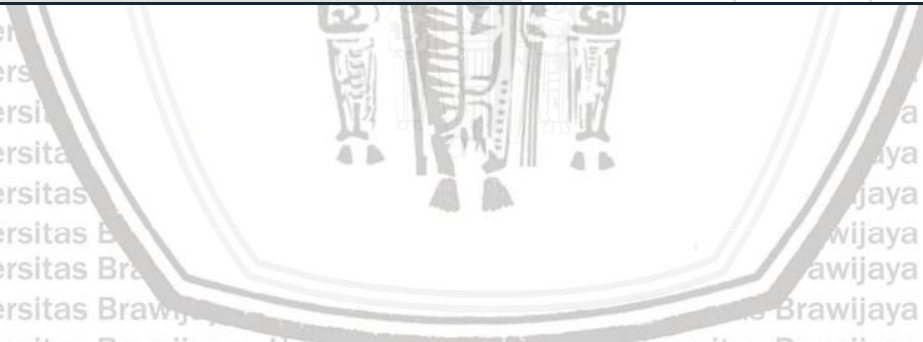
**Korelasi
Indeks Apoptosis Sel dengan Hemoglobin, Leukosit, Trombosit, dan ANC**
a. Sebelum Induksi Kemoterapi (Korelasi Pearson)

		Correlations				
		Indeks_Apoptosis_Sel_Pre				
		el_Pre	Hb_Pre	Leukosit_Pre	Trombosit_Pre	ANC_Pre
Indeks_Apoptosis_Sel_Pre	Pearson Correlation	1	-.909*	-.809	-.662	-.986**
	Sig. (2-tailed)		.033	.097	.224	.002
	N	5	5	5	5	5
Hb_Pre	Pearson Correlation	-.909*	1	.890*	.870	.962**
	Sig. (2-tailed)	.033		.043	.055	.009
	N	5	5	5	5	5
Leukosit_Pre	Pearson Correlation	-.809	.890*	1	.698	.880*
	Sig. (2-tailed)	.097	.043		.190	.049
	N	5	5	5	5	5
Trombosit_Pre	Pearson Correlation	-.662	.870	.698	1	.748
	Sig. (2-tailed)	.224	.055	.190		.146
	N	5	5	5	5	5
ANC_Pre	Pearson Correlation	-.986**	.962**	.880*	.748	1
	Sig. (2-tailed)	.002	.009	.049	.146	
	N	5	5	5	5	5

b. Sesudah Induksi Kemoterapi (Korelasi Pearson)

Correlations

		Indeks_Apoptosis_Sel_Post	Hb_Post	Leukosit_Post	Trombosit_Post	ANC_Post
Indeks_Apoptosis_Sel_Post	Pearson Correlation	1	-.926*	-.510	-.915*	-.998**
	Sig. (2-tailed)		.024	.380	.029	.000
	N	5	5	5	5	5
Hb_Post	Pearson Correlation	-.926*	1	.224	.853	.929*
	Sig. (2-tailed)	.024		.717	.066	.022
	N	5	5	5	5	5
Leukosit_Post	Pearson Correlation	-.510	.224	1	.241	.468
	Sig. (2-tailed)	.380	.717		.696	.426
	N	5	5	5	5	5
Trombosit_Post	Pearson Correlation	-.915*	.853	.241	1	.938*
	Sig. (2-tailed)	.029	.066	.696		.018
	N	5	5	5	5	5
ANC_Post	Pearson Correlation	-.998**	.929*	.468	.938*	1
	Sig. (2-tailed)	.000	.022	.426	.018	
	N	5	5	5	5	5



c. Selisih Sebelum dan Sesudah Induksi Kemoterapi (Korelasi Pearson)

Correlations

		Diff_Apo	Diff_Hb	Diff_Leu	Diff_Trom	Diff_Anc
Diff_Apo	Pearson Correlation	1	-.891*	-.938*	-.985**	-.889*
	Sig. (2-tailed)		.042	.018	.002	.044
	N	5	5	5	5	5
Diff_Hb	Pearson Correlation	-.891*	1	.867	.896*	.995**
	Sig. (2-tailed)	.042		.057	.040	.000
	N	5	5	5	5	5
Diff_Leu	Pearson Correlation	-.938*	.867	1	.878	.856
	Sig. (2-tailed)	.018	.057		.050	.064
	N	5	5	5	5	5
Diff_Trom	Pearson Correlation	-.985**	.896*	.878	1	.906*
	Sig. (2-tailed)	.002	.040	.050		.034
	N	5	5	5	5	5
Diff_Anc	Pearson Correlation	-.889*	.995**	.856	.906*	1
	Sig. (2-tailed)	.044	.000	.064	.034	
	N	5	5	5	5	5

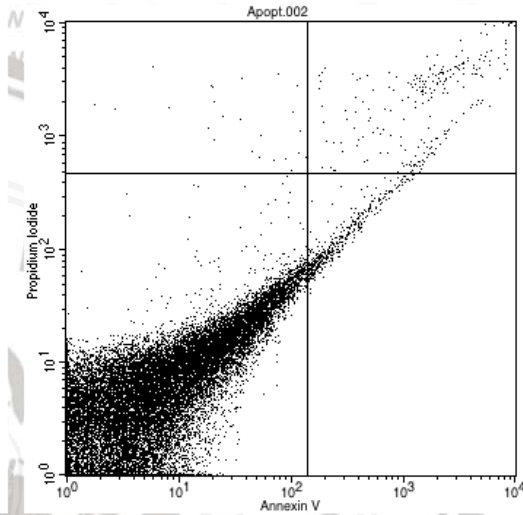
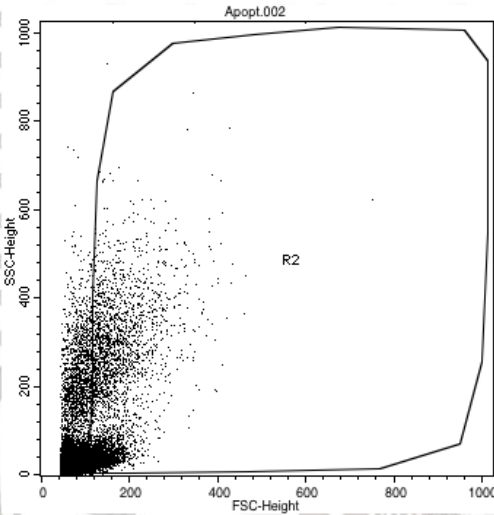


LAMPIRAN 4

Flow Cytometry

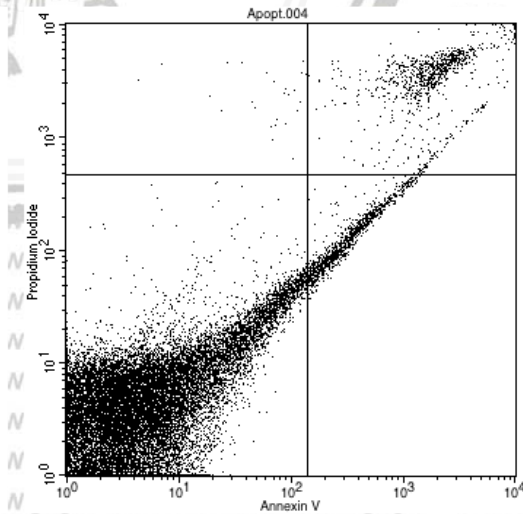
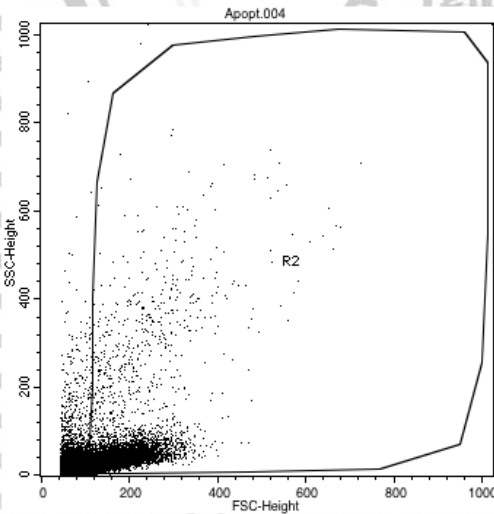
1. Sampel 1

a. Pre Kemoterapi



Quad	Events	% Gated	% Total
UL	25	0.08	0.08
UR	236	0.80	0.80
LL	28947	97.71	97.71
LR	417	1.41	1.41

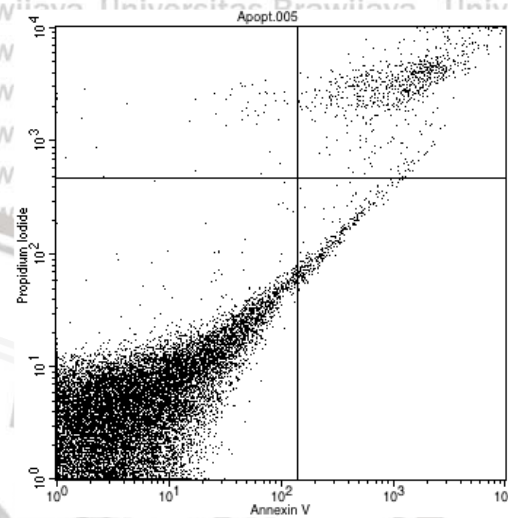
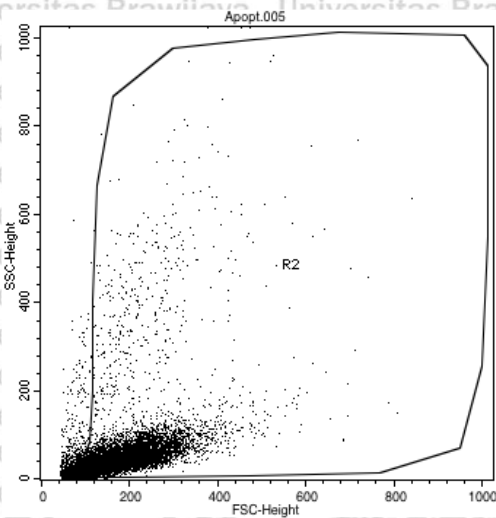
b. Pos Kemoterapi



Quad	Events	% Gated	% Total
UL	27	0.10	0.10
UR	930	3.28	3.28
LL	26375	92.89	92.89
LR	1061	3.74	3.74

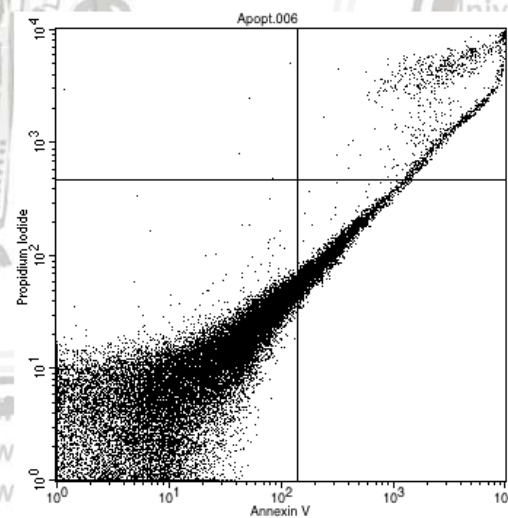
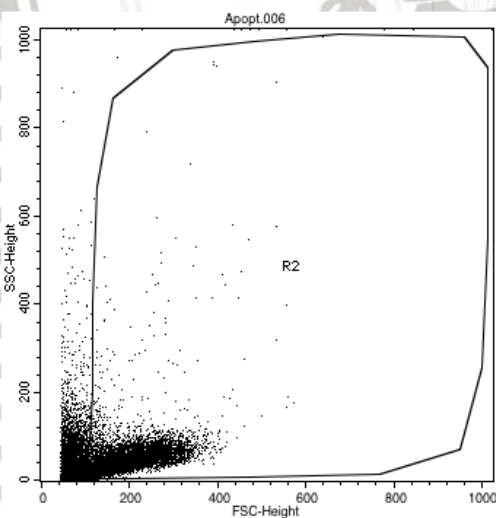
2. Sampel 2

a. Pre Kemoterapi



Quad	Events	% Gated	% Total
UL	46	0.21	0.21
UR	799	3.61	3.61
LL	20974	94.80	94.80
LR	306	1.38	1.38

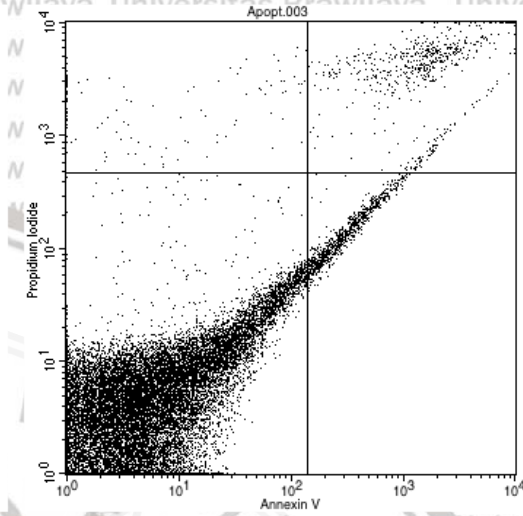
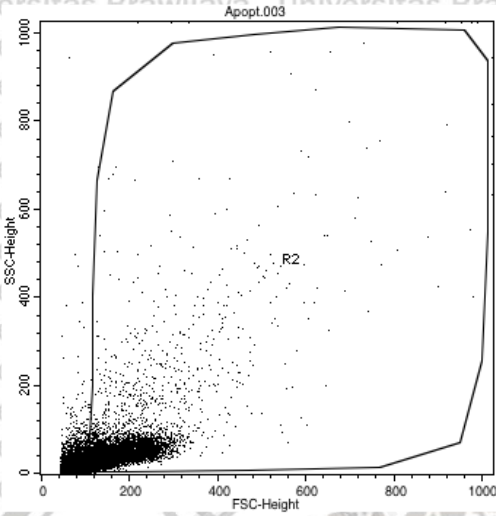
b. Pos Kemoterapi



Quad	Events	% Gated	% Total
UL	5	0.01	0.01
UR	1096	3.20	3.20
LL	29599	86.36	86.36
LR	3575	10.43	10.43

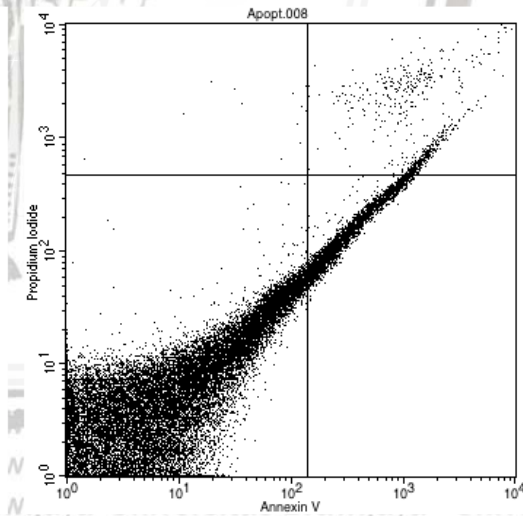
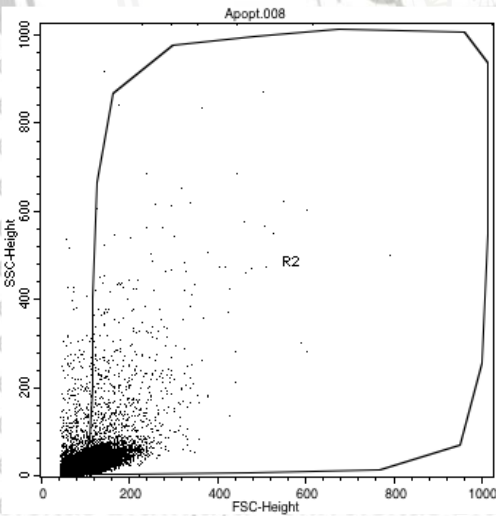


3. Sampel 3
a. Pre Kemoterapi



Quad	Events	% Gated	% Total
UL	123	0.47	0.47
UR	588	2.26	2.26
LL	24413	94.00	94.00
LR	848	3.27	3.27

b. Pos Kemoterapi

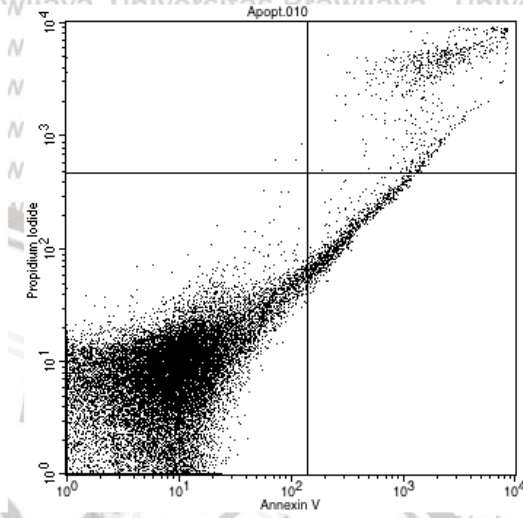
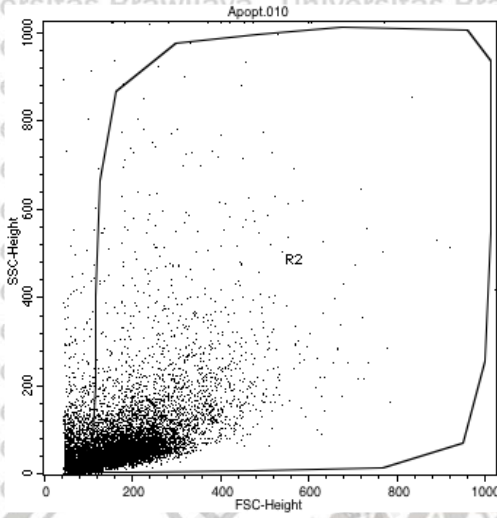


Quad	Events	% Gated	% Total
UL	12	0.04	0.04
UR	580	1.72	1.72
LL	30215	89.52	89.52
LR	2945	8.73	8.73



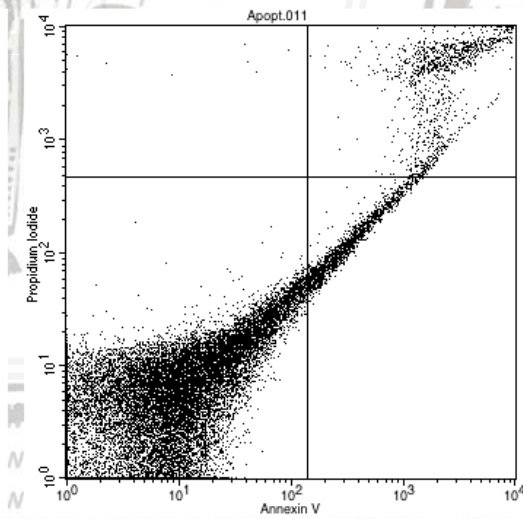
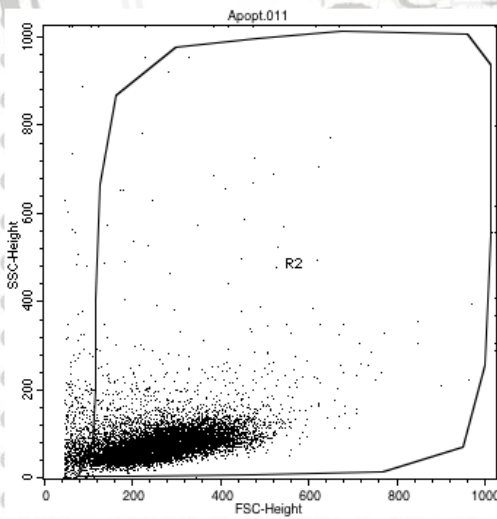
4. Sampel 4

a. Pre Kemoterapi



Quad	Events	% Gated	% Total
UL	6	0.03	0.03
UR	652	2.78	2.78
LL	21892	93.42	93.42
LR	885	3.78	3.78

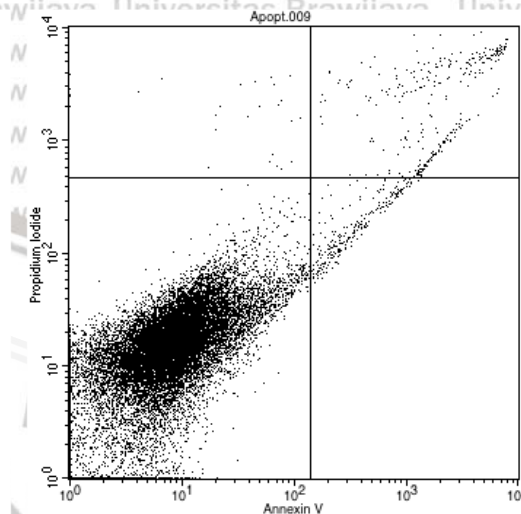
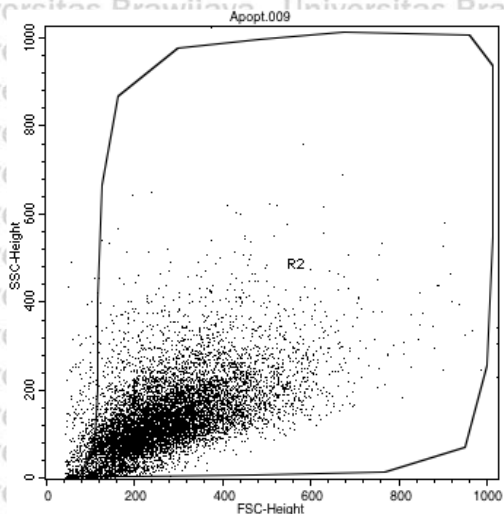
b. Pos Kemoterapi



Quad	Events	% Gated	% Total
UL	10	0.05	0.05
UR	1133	5.34	5.34
LL	18561	87.41	87.41
LR	1530	7.21	7.21

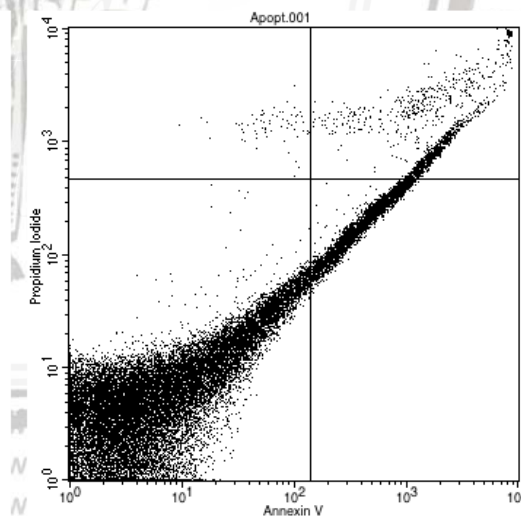
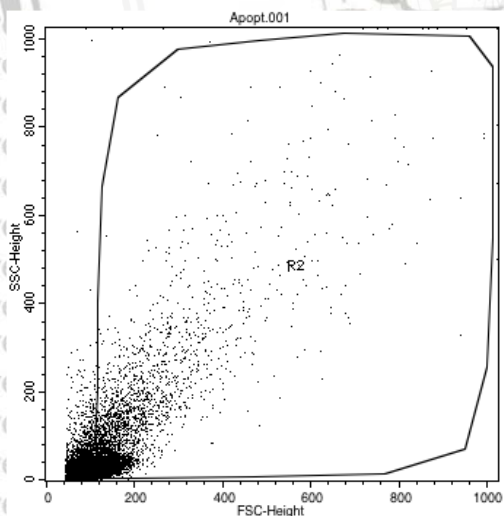
5. Sampel 5

a. Pre Kemoterapi



Quad	Events	% Gated	% Total
UL	29	0.14	0.14
UR	288	1.37	1.37
LL	20385	97.32	97.32
LR	245	1.17	1.17

b. Pos Kemoterapi



Quad	Events	% Gated	% Total
UL	67	0.21	0.21
UR	1309	4.08	4.08
LL	27289	85.15	85.15
LR	3384	10.56	10.56



