



Rhesus D weak variant detection in negative rhesus populations in DKI Jakarta Province

Deteksi varian rhesus D Weak pada populasi rhesus negatif di Provinsi DKI Jakarta

*¹Endang Pratiwi, ²Ni Ken Ritchie, ³Heri Wibowo

*¹Program Magister Ilmu Biomedik, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia, email endangpratiwi11@gmail.com

²UDD PMI Provinsi DKI Jakarta, Program Magister Ilmu Biomedik, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia, Diploma 3 Teknisi Bank Darah Akademi Bakti Kemuliaan PMI, email : ni.ken.ritchie@gmail.com

³Departemen Parasitologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia, email : bowoheri04@gmail.com

INFO ARTIKEL

ARTICLE HISTORY:

Artikel diterima: 30 Mei 2022

Artikel direvisi: 26 Juni 2022

Artikel disetujui: 14 Juli 2022

KORESPONDEN

Endang Pratiwi,

endangpratiwi11@gmail.com,

Orcid ID:

ORIGINAL ARTICLE

Halaman: 146-151

DOI:

<https://doi.org/10.30989/mik.v11i2.744>

Penerbit:

Universitas Jenderal Achmad Yani
Yogyakarta, Indonesia.

Artikel terbuka yang berlisensi CC-BY-SA



ABSTRACT

Background: The Rhesus blood group system is determined by the presence or absence of the D-antigen, and has clinical importance because it can cause Haemolytic Transfusion Reaction (HTR) and Haemolytic Disease of the Newborn (HDN). There are several variants of the D-antigen which are weak, so it will be detected as Rhesus Negative.

Objective: The purpose of this study was to determine the prevalence of the Rhesus D weak blood group variant in DKI Jakarta Province, so that it could determine the identity status of the blood group correctly.

Methods: The samples used in this study were whole blood samples with a maximum storage time of three days in the blood refrigerator. The examination used in this study is the Indirect Antiglobulin Test (IAT).

Results: Rhesus Dweak variant was detected in 103 samples examined using the IAT examination method.

Conclusion: Determination of the Rhesus variant in individuals is necessary to prevent clinical impact on the patient. Further examination is needed to ensure the D-antigen of the Rhesus blood group.

keywords: *Detection, rhesus, variant*

ABSTRAK

Latar Belakang: Golongan darah Rhesus ditentukan ada atau tidaknya antigen D dan memiliki kepentingan klinis karena dapat menyebabkan Haemolytic Transfusion Reaction (HTR) dan Haemolytic Disease of the Newborn (HDN). Terdapat beberapa varian Rhesus dengan antigen D yang lemah yang tidak terdeteksi dengan pemeriksaan rutin sehingga dianggap sebagai Rhesus negatif.

Tujuan: Untuk mengetahui prevalensi Rhesus varian Dweak pada populasi Rhesus negatif di Provinsi DKI Jakarta sehingga dapat menentukan status golongan darah yang tepat.

Metode: Sampel darah yang digunakan adalah whole blood disimpan di blood refrigerator maksimum 3 hari. Pemeriksaan yang dilakukan adalah Indirect Antiglobulin Test (IAT).

Hasil: Terdeteksi Rhesus varian Dweak dari 103 sampel dengan metode IAT.

Kesimpulan: Penentuan Rhesus varian Dweak pada individu diperlukan untuk mencegah dampak klinis pada pasien dengan melakukan pemeriksaan lanjutan untuk menentukan ada tidaknya antigen D.

Kata kunci: *Deteksi, rhesus, varian*

PENDAHULUAN

Sistem golongan darah rhesus merupakan salah satu golongan darah yang mempunyai arti secara klinis pada seorang individu karena antigen rhesus dapat menyebabkan reaksi transfusi hemolitik atau *Haemolytic Transfusion Reaction* (HTR), dan *Haemolytic Disease of the Newborn* (HDN). Jenis golongan darah ini wajib diperiksa pada pemeriksaan pre-transfusi.^{1,2,3} Berawal pada tahun 1939, ditemukan antibodi dalam serum seorang wanita yang telah melahirkan bayi yang lahir mati dan yang menderita reaksi hemolitik sebagai hasil dari transfusi dengan darah dari suaminya.⁴ Levine dan Stetson menemukan bahwa antibodi mengaglutinasi sel darah merah suaminya dan 80% donor dengan darah ABO yang kompatibel.^{3,4} Istilah Rhesus (Rh) pertama kali digunakan setahun kemudian, dimana pada saat itu kelinci diimunisasi dengan sel darah merah kera, *Macacus rhesus*, dan antiserum yang dihasilkan disebut anti-Rhesus.⁵ Pengujian dilanjutkan dengan pemberian antiserum tersebut pada sampel darah manusia dan ditemukan bahwa terjadi reaksi dengan 85% donor.⁶ Pada tahun 1941, Landsteiner dan Wiener menyatakan bahwa individu dengan anti-Rhesus tercatat sebagai penyebab utama HDN.^{1,2,3,4,7}

Golongan darah Rhesus ditentukan berdasarkan antigen Rhesus pada sel darah merahnya. Antigen rhesus ini berupa glikoprotein tertentu pada membran plasma sel darah merah dan membagi golongan darah manusia menjadi 2 kelompok

berdasarkan reaksi penggumpalan antara antigen eritrosit dengan antibodi Rhesus, yaitu positif dan negatif.^{8,9} Rhesus positif (Rh positif) adalah seseorang yang mempunyai antigen D, pada eritrositnya, sedangkan rhesus negatif (Rh negatif) adalah seseorang yang tidak mempunyai antigen D pada eritrositnya.^{8,9}

Jumlah pemilik darah rhesus negatif diseluruh dunia sekitar 15% untuk ras Kaukasia, Afrika sebanyak 5%-8% dan di Asia diperkirakan kurang dari 2%.¹⁰ Di Indonesia, populasi dengan rhesus negatif berdasarkan laporan dari Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI tahun 2016, diketahui bahwa persentase rhesus positif sebesar 99,9%, sedangkan persentase rhesus negatif hanya 0,1%.¹¹ Ada beberapa variasi Rh D antara lain *weak D*, *partial D* dan DEL berdasarkan struktur molekuler dan fenotipnya.¹² Pada individu Rhesus positif maka pada permukaan sel darah merahnya terekspresikan antigen D dengan jumlah sekitar 30.000 situs.^{12,13} Pada individu dengan *weak D*, maka jumlah situs antigen D sekitar 1.500 – 7.000. Sesuai definisi fenotip D *weak*, hal ini disebabkan karena pada tingkat molekuler terjadi substitusi asam amino yang terletak di domain transmembran atau protein intraseluler atau adanya perubahan protein region transmembran pada RhD, akibatnya akan mengurangi tingkat ekspresi RhD.^{12,13,14} Antigen D yang kurang memadai tersebut tidak disertai perubahan pada epitope D, maka akan tetap bisa dikenali.¹⁴ Sedangkan untuk varian D parsial terjadi kekurangan dari

epitop RhD.^{14,15} Varian DEL, seringkali dideteksi sebagai Rhesus negatif, hal tersebut karena sangat lemahnya ekspresi dari antigen D pada permukaan sel darah merah, yaitu kurang dari 22 situs.¹⁶

Fenotip D *weak* adalah fenotip Rh yang ditemukan kurang dari 1% pada orang Kaukasia dan sedikit lebih umum di Afrika dan Amerika. Sesuai definisi fenotip D *weak*, hal ini disebabkan karena pada tingkat molekuler terjadi substitusi asam amino yang terletak di domain transmembran atau protein intraseluler atau adanya perubahan protein region transmembran pada RhD, akibatnya akan mengurangi tingkat ekspresi RhD.^{4,17}

Sebagian besar data tentang alel RHD dan risiko aloimunisasi berhubungan dengan fenotipe D weak berasal dari studi observasi di Eropa. Studi ini menunjukkan transfusi darah dengan penerima D weak tipe 1, 2, atau 3, homozigot atau keadaan hemizigous, tidak berisiko membentuk aloanti-D bila terkena sel darah merah RhD positif. Individu dengan fenotipe D weak tipe 1, 2, atau 3 dapat dikelola dengan aman sebagai RhD-positif. Ketiadaan aloimunisasi pada individu dengan D weak tipe 1, 2, atau 3 karena terdapat kode alel RHD yang berbeda untuk semua epitop RhD, meskipun ada di permukaan yang lebih rendah strukturnya jika dibandingkan dengan sel darah merah tipe normal.¹⁴

Di Indonesia dalam pelayanan transfusi darah telah melakukan teknik pemeriksaan serologis yang merupakan metode utama dalam menentukan fenotip dari antigen eritrosit yang berfungsi untuk

menentukan golongan darah saat transfusi. Pendekatan dari metode serologis menggunakan reagen antibodi dengan spesifitas yang diketahui, yang akan diinkubasi dengan sel darah merah dari pasien.¹⁸ Adanya varian pada golongan darah Rhesus maka diperlukan pemeriksaan konfirmasi ulang golongan darah donor dengan lebih cermat, untuk memastikan antigen D pada sel darah merah donor. Metode yang dipakai adalah dengan menggunakan antibodi monoklonal IgG yang ditambahkan pada sel darah merah individu tersebut. Pembacaan hasil segera bisa diketahui setelah dilakukan IS (Immediate Spin), dengan melihat adanya aglutinasi atau tidak. Aglutinasi yang terlihat akan menunjukkan bahwa antigen yang sesuai dengan antibodi pereaksi akan muncul pada permukaan eritrosit. Pada golongan darah Rhesus, jika ada aglutinasi sempurna artinya adalah mempunyai antigen D atau Rhesus positif, sedangkan yang tidak ada reaksi aglutinasi disebut dengan Rhesus negatif.^{20,21}

Pemeriksaan dengan hasil Rhesus negatif akan dilanjutkan dengan pemeriksaan konfirmasi D weak menggunakan metode IAT (*Indirect Antiglobulin Test*) untuk melihat adanya ekspresi antigen D yang sedikit jumlahnya. Pada pemeriksaan antigen D, jika tidak ditemukan aglutinasi pada IS maka dilanjutkan dengan pemeriksaan D *weak*. Proses selanjutnya dilakukan inkubasi, pencucian dan penambahan AHG, kemudian dilakukan inkubasi dan sentrifugasi lalu

pembacaan hasil ada atau tidak aglutinasi atau disebut IAT.^{17,21}

BAHAN DAN CARA PENELITIAN

Bahan pemeriksaan IAT yang digunakan, tabung reaksi disposable, rak tabung, pipet 1mL, kertas parafilm, Inkubator suhu 37°C, Centrifuge 2000 rpm 2 menit, centrifuge 1500 rpm 2 menit, obyek glass, dan mikroskop binocular. Pada pemeriksaan IAT, langkah pertama yang perlu disiapkan adalah 4 tabung, yang masing-masing diberi identitas 1,2,3,4. Langkah kedua, pada tabung 1 ditambahkan 1 tetes reagen 1 yaitu Anti-D (RH1) Totem IVD, Diagast. Tabung 2 ditambahkan 1 tetes reagen 2 yaitu Rhofinal, Anti-D (Rho) (IgM+IgG) Monoclonal, Tulip Diagnostics (P) LTD. Kemudian pada tabung 3 ditambahkan 1 tetes reagen 3 yaitu Anti-D (IgG), Palang Merah Indonesia. Selanjutnya menambahkan 1 tetes reagen 4 yaitu Erybank, Bovine Serum Albumin, Tulip Diagnostics (P) LTD. Kemudian menambahkan 1 tetes suspensi sel darah merah 5%, pada masing-masing tabung 1, 2, 3, 4 dan setelah itu tabung dikocok. Langkah selanjutnya yaitu dilakukan inkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Setelah itu sel darah merah dicuci sebanyak 3 kali dengan larutan NaCl 0,9%. Berikutnya menambahkan 1 tetes AHG, lalu dikocok dan putar pada 1500 rpm selama 1 menit. Setelah itu langkah yang terakhir adalah membaca hasil reaksi dengan alat mikroskop, sehingga diperoleh data hasil IAT. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan *Crosstabulation* dan *Chi-*

Squares tes. Sampel yang diambil pada penelitian ini adalah individu dengan golongan darah Rhesus negatif baik yang sudah pernah donor maupun belum dengan rentang usia 3 tahun sampai 60 tahun yang telah menerima dan menyetujui *informed consent*. Sedangkan metode pemilihan sampel dengan *simple random probability sampling*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pemeriksaan ini menggunakan sampel sebanyak 103 yang berasal dari donor darah sukarela Rh-negatif dan dari komunitas Rhesus Negatif Indonesia (RNI) yang dilakukan pemeriksaan di laboratorium rujukan Unit Donor Darah Palang Merah Indonesia Provinsi Daerah Khusus Ibukota Jakarta. Responden tersebut dikelompokkan menjadi 6 etnis yaitu Jawa, Betawi, Sunda, Padang, Cina, dan etnis lainnya. Berdasarkan hasil pemeriksaan diperoleh varian Rhesus Dweak positif 2,9% dan negatif 97,1% (Tabel 1).

Tabel 1. Distribusi varian Rhesus Dweak Hasil Positif dan Negatif

Etnis	varian Rhesus Dweak (IAT)		P value
	Positif (n=3)	Negatif (n=100)	
Jawa	1 (33,3%)	24 (24%)	0,556 ¹
Betawi	0	5 (5%)	
Sunda	0	6 (6%)	
Padang	0	8 (8%)	
Cina	0	24 (24%)	
lainnya	2 (66,7%)	33 (33%)	

¹Chi-Square

Dari Tabel 1 diperoleh informasi bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan antara varian Rhesus Dweak dengan hasil

positif dan negatif antara etnis ($P>0,05$). Rhesus Dweak hasil positif didominasi oleh etnis Jawa sebesar 33,3% dan Betawi, Sunda, Padang, dan Cina masing-masing tidak ada varian Rhesus Dweak.

Kemudian analisis dilanjutkan dengan pengelompokan etnis menjadi Cina dan Non-Cina (hanya suku murni yang digunakan). Berdasarkan hasil pemeriksaan diperoleh varian Rhesus Dweak hasil positif 2,4% dan hasil negatif 97,6% (Tabel 1).

Tabel 2. Distribusi varian Rhesus Dweak Cina dan Non-Cina

Suku/ras	varian Rhesus Dweak (IAT)		P value
	Positif (n=2)	Negatif (n=82)	
Cina	0	24 (29,3%)	0,368 ¹
Non-Cina	2	58 (70,7%)	

¹Chi-Square

Dari Tabel 2 diperoleh informasi bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan antara varian Rhesus Dweak hasil positif dan hasil negatif antara Cina dan Non-Cina ($P>0,05$). Varian Rhesus Dweak didominasi oleh Non-Cina sebesar 29,3% dan Cina tidak ada varian Rhesus Dweak.

Hasil penelitian di atas sejalan dengan artikel yang menyatakan bahwa fenotip D weak adalah fenotip Rh yang ditemukan kurang dari 1% pada orang Kaukasia dan sedikit lebih umum di Afrika dan Amerika.²¹ Lebih dari 50 mutasi D weak telah dilaporkan (tipe 1-54), tipe yang paling sering ditemui

(tipe 1, 2, dan 3) dimana tipe ini tidak mengalami perubahan D-epitope dengan pemeriksaan menggunakan antibodi monoklonal spesifik epitope. Sebagian besar fenotipe D weak (> 95% di Eropa Utara) adalah ekspresi tipe D weak 1, 2, 3. Sampai saat ini, 147 tipe D weak telah terdaftar di database Rhesus.¹⁴

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil pemeriksaan IAT diperoleh bahwa terdapat individu dengan golongan darah Rhesus negatif yang memiliki varian Rhesus Dweak. Di Indonesia varian Rhesus Dweak positif hanya berkisar rata-rata 2,65%. Diperlukan penetapan prosedur pemeriksaan dalam menentukan identitas golongan darah Rhesus, untuk mendapatkan identitas yang pasti dan benar untuk mencegah aloimunisasi sehingga dapat menghindari terjadinya Haematology Transfusion Reaction (HTR) dan Haematology Disease of The Newborn (HDN). Jika didapatkan individu sebagai donor dengan varian Rhesus Dweak, maka ditetapkan sebagai individu golongan Rhesus positif, namun saat individu sebagai pasien yang akan menerima darah maka dikondisikan sebagai individu dengan golongan darah Rhesus negatif.

TERIMA KASIH

1. Laboratorium Rujukan Unit Donor Darah Palang Merah Indonesia Provinsi DKI Jakarta

KEPUSTAKAAN (reference manager)

1. Primer of Blood Administration, AABB, Chapter 1, page 3-7, Rev.2012.
2. Daniels G, Human Blood Groups, Second edition, Blackwell Science Ltd, Australia, 2002, Chapter 1
3. Castillo B, Dasgupta A, Klein K, Tint H, Wahed A, Transfusion Medicine for Pathologist : A Comprehensive Review for Board Preparation, Certification and Clinical Practise, First Edition, 2018, DOI : 10.1016/b978-0-12-814313-1.00005-8
4. Dean L, Blood Group And Red Cell, National Centre for Biotechnology Information (NCBI), USA, 2005, Chapter 7. The Rh Blood Group
5. Choate J.D, Clinical Principles of Transfusion Medicine : ABO and Rh Blood Groups, Elsevier, 2018, pp. 15–24. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-54458-0.00003-9>
6. Huang CH, Rh Factor and Rh System, Brenner's Encyclopedia of Genetics 2nd Edition, Vol 6, Elsevier, New York Blood Centre, New York, USA, 2013, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374984-0.01333-4>
7. Daniels G, Variants of RhD – Current testing and clinical consequences, British Journal of Haematology, UK, 2013, <https://doi:10.1111/bjh.12275>
8. Westhoff CM, The Structure and Function of The Rh Antigen Complex, Seminar in Hematology, Elsevier, 2007, American Red Cross and Department of Pathology and Laboratory Medicine, University of Pennsylvania, Philadelphia, PA, <https://doi.org/10.1053/j.seminhematol.2006.09.010>
9. Avent MD, Reid ME, The Rh Blood Group System : A Review, Blood, volume 95, number 2, New York, 2000, <https://doi.org/10.1182/blood.V95.2.375>
10. Sandler S.G, Flegel W.A, Westhoff C.M, Denomme G.A, Delaney M, Keller M.A, et.al, Transfusion Medicine and Hemostasis : Rh and RhAG Blood Group Systems, Elsevier, 2019, pp. 149–155. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813726-0.00026-X>
11. Infodatin : Pusat Data dan Informasi, Kementerian Kesehatan RI, Pelayanan Darah di Indonesia, 2016.
12. Harmening DM, Modern Blood Banking and Transfusion Practices, 5th ed, Philadelphia, PA: F.A, Davis Company, 2005.
13. Li, Q., Hou, L., Guo, Z.-H., Ye, L.-Y., Yue, D.-Q., & Zhu, Z.-Y. (2009). Molecular basis of the RHD gene in blood donors with DEL phenotypes in Shanghai. *Vox Sanguinis*, 97(2), 139–46. doi:10.1111/j.1423-0410.2009.01181.x
14. Sandler SG, Chen L, Flegel WA, Serological weak D phenotypes : A review and guidance for interpreting the RhD blood type using the RHD genotype, Br J Haematol, Department of Health and Human Services, USA, 2017, available in PMC 2018, doi : 10.1111/bjh.14757
15. Westhoff CM, Molecular DNA–Based Blood Group Typing, Transfusion Medicine and Hemostasis, Elsevier, 2019, <https://doi:10.1016/b978-0-12-813726-0.00024-6>
16. Körmöczi GF, Gassner C, Shao CP, Uchikawa M, Legler TJ, Immunohematology : A comprehensive of DEL types : partial DEL individuals are prone to anti-D alloimmunization, Transfusion, vol.45, October 2005
17. Rizzo C, Castiglia L, Arena E, Gangi S, Mazzola G, Carusso C, Vasto S, Weak D and partial D: our experience in daily activity, Blood Transfus, University Hospital, Palermo, Italy, 2012, <https://doi.org/10.2450/2012.0060-11>
18. Peraturan Menteri Kesehatan RI Nomor 91 tentang Standar Pelayanan Transfusi Darah, 2015.
19. Wah TS, Chi SN, Kyaing KK, Khin AA, Aung T, Serological Detection of Rh-DEL Phenotype Among Rh-Negative Blood Donors at National Blood Center, Yangon, Myanmar, Hindawi, 2020
20. Wagner T, Körmöczi GF, Buchta C, Vadon M, Lanzer G, Mayr WR, et al. Anti-D immunization by DEL red blood cells, Transfusion 2005; 45:520-6
21. Zarandona JM and Yazer MH, The role of the Coombs test in the evaluation of hemolysis in adults, Canadian Medical Association Journal, 2006, DOI: [10.1503/cmaj.051489](https://doi.org/10.1503/cmaj.051489)