

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Darah

Darah merupakan komponen essential makhluk hidup yang berperan dalam sistem transportasi. Darah berfungsi membawa oksigen (O₂) dari paru – paru menuju jaringan, membawa karbondioksida (CO₂) dari jaringan menuju paru – paru, membawa nutrisi dari saluran cerna menuju jaringan dan mengantarkan sisa metabolisme melalui organ sekresi (Desmawati, 2013).

Darah mengandung komponen seluler dan non seluler. Upaya mempertahankan kesehatan tubuh yang dideteksi dari darah biasanya dilakukan untuk menjaga kondisi non seluler. Beberapa contoh upaya menjaga komponen darah non seluler adalah mengatur diet rendah karbohidrat, membatasi konsumsi lemak, membatasi konsumsi protein dan mengurangi konsumsi garam berlebih. Akibat dari kelebihan elemen – elemen tersebut dapat terdeteksi dari peningkatannya dalam darah (Sofro, 2013).

Darah terdiri dari 50 – 60% cairan dan sel – sel darah. Komponen yang berupa cairan disebut plasma yang mengandung 90% air dan 10% bahan – bahan terlarut misalnya ion – ion, glukosa, asam amino, hormon dan berbagai macam protein. Protein dalam plasma terdiri dari serum albumin (alpha-1 globulin, alpha-2 globulin, beta globulin dan gamma globulin), fibrinogen,

prothrombin dan protein esensial untuk koagulasi (Desmawati, 2013). Perbedaan antara plasma dan serum adalah plasma mengandung fibrinogen sedangkan serum tidak mengandung fibrinogen. Fibrinogen yang dikonversi menjadi fibrin bersifat tidak larut dan bersama eritrosit membentuk bekuan darah (Riswanto, 2013). Sel – sel darah terdiri dari eritrosit (sel darah merah), leukosit (sel darah putih) dan trombosit (keping darah) (Kiswari, 2014).

2. Antikoagulan Sitrat

Antikoagulan adalah suatu zat yang mencegah pembekuan darah dengan cara menghambat pembentukan thrombin yang diperlukan untuk mengkonversi fibrinogen menjadi fibrin dalam proses pembekuan. Terdapat beberapa jenis antikoagulan, masing – masing digunakan untuk jenis pemeriksaan tertentu. Salah satu antikoagulan yang sering digunakan adalah natrium sitrat 3,2% (109 mmol/L) (Riswanto, 2013).

Natrium sitrat atau trisodium sitrat dihidrat ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) berbentuk cair sebagai trisodium sitrat dihidrat 3,2% (109 mmol/L). Antikoagulan ini biasanya digunakan untuk pemeriksaan sistem pembekuan darah karena diketahui paling baik dalam memelihara faktor – faktor pembekuan darah dan mengembalikan kalsium kedalam spesimen selama proses pemeriksaan serta dapat dengan mudah mengembalikan efek pengikatan (*binding*) (Riswanto, 2013).

Penggunaan antikoagulan natrium sitrat 3,2% dilakukan untuk pemeriksaan sistem pembekuan darah dengan perbandingan 1 bagian

antikoagulan dan 9 bagian darah. Secara komersial, tabung natrium sitrat 3,2% dapat dijumpai dalam bentuk tabung hampa udara (*vaccum*) dengan tutup berwarna biru muda (Riswanto, 2013).

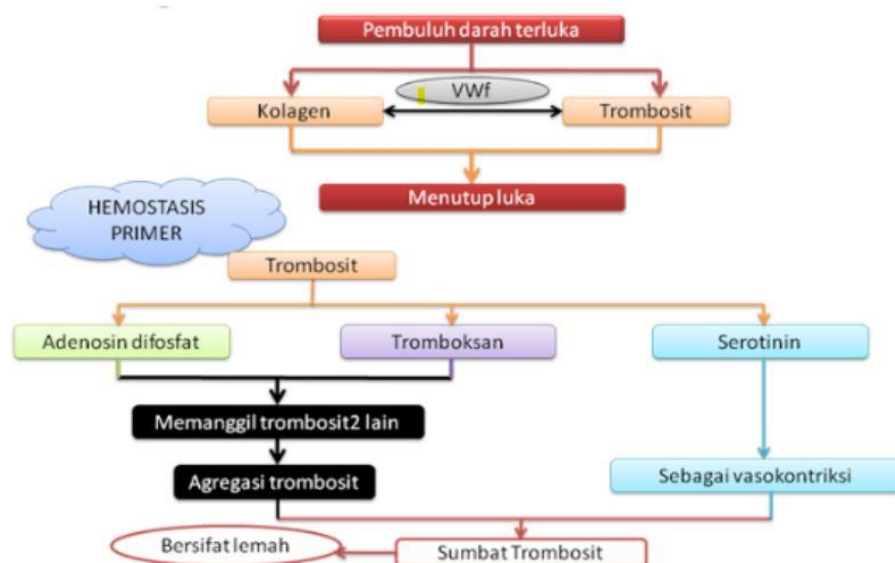
3. Mekanisme Hemostasis

Hemostasis adalah mekanisme tubuh untuk menghentikan perdarahan secara spontan (Setiabudy, 2009). Hemostasis bertujuan untuk mempertahankan keenceran darah dan menutup kerusakan dinding pembuluh darah sehingga mengurangi kehilangan darah pada saat terjadi kerusakan. Terdapat beberapa sistem yang mempengaruhi hemostasis yaitu sistem pembuluh darah (vaskuler), trombosit, pembekuan darah (koagulasi) dan sistem fibrinolisis (Bakta, 2006).

Sistem vaskuler, trombosit, koagulasi dan fibrinolisis harus bekerja sama dalam suatu proses yang berkeselimbangan dan saling mengontrol untuk mendapatkan faal hemostasis yang baik. Kekurangan atau kelebihan satu komponen akan menyebabkan kelainan. Kekurangan fungsi hemostasis akan menyebabkan terjadinya perdarahan (*hemorrhagic diathesis*), sedangkan kelebihan fungsi hemostasis akan menyebabkan thrombosis (Bakta, 2006).

Proses hemostasis dibedakan menjadi tiga, yaitu hemostasis primer, sekunder dan tersier. Hemostasis primer terdiri dari pembuluh darah dan trombosit, dikatakan sebagai hemostasis primer karena proses pertama yang terlibat dalam proses penghentian darah apabila terjadi perdarahan (Astuti dan Durachim, 2018). Hemostasis primer diawali dengan rusaknya pembuluh

darah yang menyebabkan terjadinya tonjolan kolagen pada pembuluh darah. Terjadi ikatan antara *Von Willebrand Factor* (VWF) dan trombosit yang menempel pada tonjolan kolagen. *Von Willebrand Factor* yang menempel pada tonjolan kolagen akan memfasilitasi lebih banyak trombosit lain untuk terikat. Selama proses pengikatan, trombosit yang teraktivasi akan mengeluarkan adenosine difosfat (ADP), tromboksan A2 dan VWF sehingga trombosit lain dapat tertangkap dan teraktivasi. Hasil akhirnya adalah terbentuk sumbat trombosit primer yang akan menghentikan perdarahan (Bain, 2012).

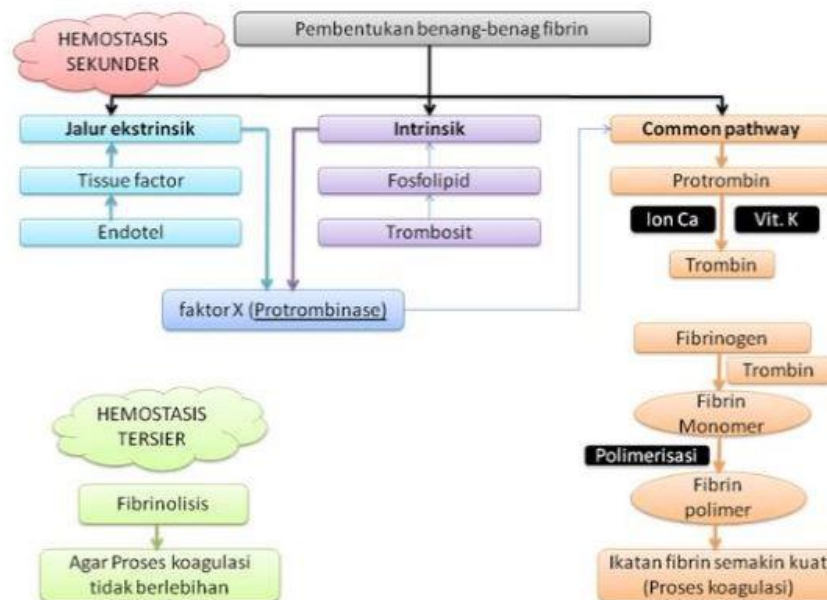


Gambar 1. Mekanisme Hemostasis Primer

Sumber : Astuti dan Durachim, 2018

Hemostasis sekunder merupakan sekumpulan mekanisme sistemik, kompleks dan saling berhubungan. Hemostasis sekunder berfungsi untuk

mempertahankan keseimbangan antara koagulasi dan antikoagulasi. Hemostasis sekunder terdiri dari faktor koagulasi dan antikoagulasi. Apabila terjadi kerusakan pembuluh darah yang cukup besar, vasokonstriksi dan sumbat trombosit yang terjadi pada hemostasis primer belum cukup untuk mengatasi kerusakan ini. Oleh karena itu, terjadilah hemostasis sekunder yang melibatkan trombosit dan faktor koagulasi. Hasil akhirnya adalah terbentuknya benang – benang fibrin. Jikalau proses ini sudah cukup untuk menutup luka, maka proses akan berlanjut ke hemostasis tersier (Astuti dan Durachim, 2018).

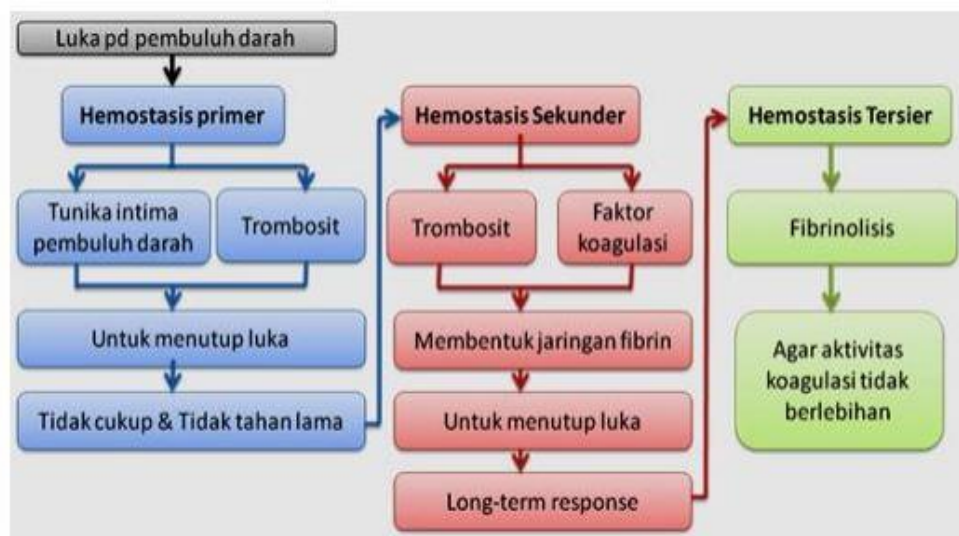


Gambar 2. Mekanisme Hemostasis Sekunder dan Tersier

Sumber : Astuti dan Durachim, 2018

Hemostasis tersier merupakan mekanisme hemostasis lanjut, dimana sumbat trombosit dan benang – benang fibrin yang sudah terbentuk akan

dihancurkan oleh sistem fibrinolisis. Sistem fibrinolisis diaktifkan untuk menghancurkan fibrin yang sudah terbentuk agar tidak menyumbat aliran darah dan menyebabkan fibrin lisis sehingga lapisan endotel pembuluh darah utuh kembali. Hemostasis tersier bertujuan untuk mengontrol agar aktivitas koagulasi tidak berlebihan (Astuti dan Durachim, 2018).



Gambar 3. Mekanisme Hemostasis Primer, Sekunder dan Tersier

Sumber : Astuti dan Durachim, 2018

Terdapat beberapa sistem yang memiliki peran penting dalam proses hemostasis yaitu sebagai berikut :

a. Sistem pembuluh darah (vaskuler)

Sistem pembuluh darah atau vaskuler merupakan bagian dari sistem sirkulasi yang membawa darah dari jantung ke seluruh tubuh. Terdapat beberapa jenis pembuluh darah yaitu pembuluh darah arteri, kapiler dan vena. Pembuluh darah arteri adalah pembuluh darah yang berfungsi

membawa darah dari jantung. Pembuluh darah kapiler berfungsi sebagai tempat pertukaran air dan bahan kimia antara darah dan jaringan, sedangkan pembuluh darah vena berfungsi membawa darah dari kapiler kembali ke jantung (Astuti dan Durachim, 2018).

Sistem vaskuler berperan dalam mencegah perdarahan meliputi proses kontraksi pembuluh darah (vasokonstriksi) serta aktivasi trombosit dan pembekuan darah. Apabila pembuluh darah mengalami kerusakan atau luka, akan terjadi vasokonstriksi yang mula mula secara reflektoris dan kemudian akan dipertahankan oleh faktor lokal seperti 5-hidroksitriptamin (5-HT, serotonin) dan epinefrin. Vasokonstriksi dapat menyebabkan pengurangan aliran darah pada area pembuluh darah yang luka atau rusak. Vasokonstriksi dapat menghentikan perdarahan pada pembuluh darah kecil, sedangkan pada pembuluh darah besar diperlukan sistem lain seperti trombosit dan pembekuan darah untuk menghentikan perdarahan (Setiabudy, 2009).

Pembuluh darah dilapisi oleh sel endotel. Terdapat beberapa jaringan ikat dibawah endotel seperti serat kolagen, serat elastin dan membran basalis. Apabila lapisan endotel rusak atau luka maka jaringan – jaringan tersebut akan terbuka sehingga trombosit teraktivasi yang akan menyebabkan terjadinya adhesi trombosit dan pembentukan sumbat trombosit. Terjadi aktivasi faktor pembekuan darah baik jalur intrinsik maupun jalur ekstrinsik yang menyebabkan pembentukan fibrin selama

proses adhesi trombosit dan pembentukan sumbat trombosit terjadi (Setiabudy, 2009).

b. Sistem trombosit

Trombosit atau platelet adalah salah satu sel darah yang berfungsi pada proses pembekuan darah. Trombosit berasal dari megakariosit yang terdapat dalam sumsum tulang. Jumlah trombosit normal pada orang dewasa adalah 150.000 – 400.000 trombosit per mikro-liter darah. Keadaan dimana seseorang memiliki jumlah trombosit kurang dari normal disebut trombositopenia, sedangkan jika jumlah trombosit melebihi normal disebut trombositosis. Masa hidup trombosit berlangsung sekitar 5 – 9 hari dalam sistem sirkulasi. Trombosit tua dan rusak akan dikeluarkan dari sistem sirkulasi dengan bantuan limpa kemudian digantikan oleh trombosit baru (Astuti dan Durachim, 2018).

Trombosit mempunyai peran penting dalam hemostasis yaitu pembentukan dan stabilisasi sumbat trombosit. Pembentukan sumbat trombosit terjadi melalui beberapa tahap yaitu adhesi trombosit, agregasi trombosit dan reaksi pelepasan (Setiabudy, 2009).

Sel endotel akan mengalami kerusakan apabila terjadi luka pada pembuluh darah. Sel endotel yang rusak mengakibatkan jaringan ikat dibawah endotel terutama serat kolagen akan terbuka. Serat kolagen yang terbuka akan menonjol dan menjadi perangsang untuk proses menempelnya trombosit yang disebut dengan fungsi adhesi (Astuti dan

Durachim, 2018). Adhesi trombosit sangat bergantung pada protein plasma yang disebut faktor *von Willebrand's* (vWF) yang disintesis oleh sel endotel dan megakariosit. Faktor ini berfungsi sebagai jembatan antara trombosit dan jaringan sub endotel (tonjolan serat kolagen) (Setiabudy, 2009).

Trombosit aktif yang menempel pada jaringan sub endotel akan mengeluarkan adenosin difosfat (ADP) yang berfungsi merangsang trombosit lain untuk menempel pada trombosit aktif yang dikenal dengan istilah agregasi. Agregasi yang terbentuk disebut agregasi primer dan bersifat reversible. Trombosit pada agregasi primer akan mengeluarkan ADP sehingga terjadi agregasi trombosit sekunder yang bersifat irreversible (Setiabudy, 2009).

Agregasi trombosit juga memerlukan ion kalsium dan fibrinogen selain ADP. Adenosine difosfat (ADP) akan terikat pada reseptornya di permukaan trombosit dan menyebabkan reseptor untuk fibrinogen terbuka sehingga terjadi ikatan fibrinogen dengan reseptor tersebut. Ion kalsium berfungsi untuk menghubungkan fibrinogen – fibrinogen tersebut sehingga terjadi agregasi trombosit. ADP yang terikat pada reseptornya di permukaan trombosit akan mengaktifkan enzim fosfolipase A2 yang akan memecah fosfolipid pada dinding trombosit dan melepaskan asam arakhidonat. Asam arakhidonat akan diubah menjadi prostaglandin G2 (PGG2) oleh enzim siklo-oksigenase, PGG2 akan diubah menjadi

prostaglandin H₂ (PGH₂) oleh enzim peroksidase, PGH₂ akan diubah menjadi tromboksan A₂ (TxA₂) oleh enzim tromboksan kinase. TxA₂ akan merangsang terjadinya agregasi trombosit. TxA₂ segera diubah menjadi bentuk tidak aktif TxB₂. Terjadi proses yang sama dalam sel endotel, tetapi PGH₂ akan diubah menjadi prostasiklin (PGI₂) oleh enzim prostasiklin kinase. PGI₂ mempunyai efek berlawanan dengan TxA₂ (Setiabudy, 2009).

Selama proses agregasi, terjadi perubahan bentuk trombosit dari bentuk cakram menjadi bulat disertai dengan pembentukan pseudopodi. Akibat perubahan bentuk ini maka granula trombosit akan terkumpul ditengah dan melepaskan isinya. Proses ini disebut sebagai reaksi pelepasan (Setiabudy, 2009).

c. Sistem pembekuan darah (koagulasi)

Proses pembekuan darah terdiri dari rangkaian reaksi enzimatik yang melibatkan faktor pembekuan darah. Faktor pembekuan darah terdiri dari faktor I hingga XII, faktor fletcher dan faktor fitzgerald. Semua faktor pembekuan diproduksi di hati kecuali faktor VII, XI dan XIII. Vitamin K yang disintesis dalam usus besar diperlukan untuk mempertahankan kadar normal dari faktor – faktor tersebut. Semua faktor pembekuan tersebut merupakan protein plasma kecuali faktor III dan IV. Faktor – faktor ini bersirkulasi dalam darah sebagai molekul – molekul yang tidak aktif (Ganong, 2008). Faktor pembekuan darah sebagai prekursor yang apabila

diaktifkan akan berubah menjadi enzim. Enzim tersebut kemudian akan mengubah prekursor selanjutnya menjadi enzim, sehingga awalnya faktor pembekuan darah merupakan suatu substrat kemudian menjadi enzim (Setiabudy, 2009). Faktor – faktor pembekuan darah ditunjukkan pada tabel 1.

Tabel 1. Faktor – faktor koagulasi

| Faktor | Nama deskriptif | Bentuk aktif |
|---------------|--------------------------------|---------------------|
| I | Fibrinogen | Subunit fibrin |
| II | Protrombin | Protease serin |
| III | Faktor jaringan | Reseptor/kofaktor |
| V | Faktor labil | Kofaktor |
| VII | Prokonvertin | Protease serin |
| VIII | Faktor antihemofilik | Kofaktor |
| IX | Faktor christmas | Protease serin |
| X | Faktor stuart-prower | Protease serin |
| XI | Prekursor tromboplastin plasma | Protease serin |
| XII | Faktor (kontak) hageman | Protease serin |
| XIII | Faktor penstabil fibrin | Transglutaminase |
| | Prekalikerin (faktor fletcher) | Protease serin |
| | HMWK (faktor fitzgerald) | Kofaktor |

Sumber : Ganong, 2008

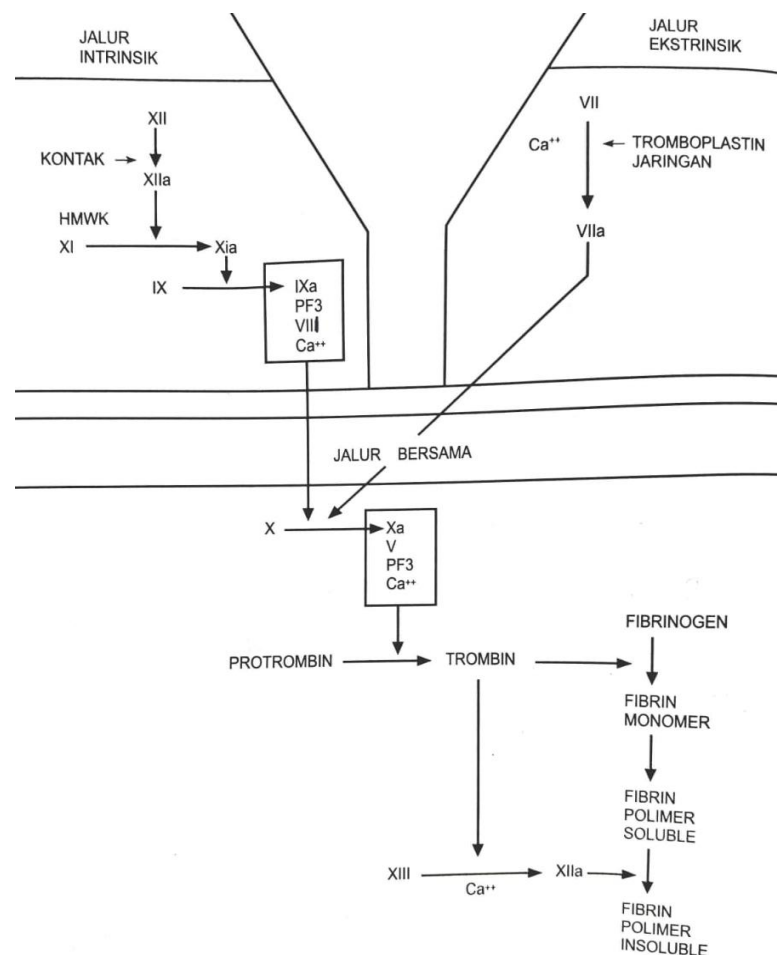
Proses pembekuan darah terjadi melalui dua jalur yaitu jalur intrinsik dan ekstrinsik, kemudian jalur ini akan bergabung menjadi jalur bersama. Jalur intrinsik meliputi fase kontak dan pembentukan kompleks aktivator

Faktor X. Faktor XII yang kontak dengan serat kolagen akan teraktivasi menjadi Faktor XIIa. Faktor XIIa dengan bantuan kofaktor HMWK (faktor fitzgerald) akan mengaktivasi faktor XI menjadi faktor XIa. Faktor XIa dengan bantuan ion kalsium akan mengaktivasi faktor IX menjadi faktor IXa. Reaksi terakhir pada jalur intrinsik adalah interaksi non enzimatis yang membentuk kompleks antara faktor IXa, *Platelet Factor 3* (PF3), faktor VIII dan ion kalsium. Faktor IXa dapat mengaktivasi faktor X, dengan bantuan PF3, faktor VIII dan ion kalsium akan mempercepat jalannya reaksi (Setiabudy, 2009).

Jalur ekstrinsik meliputi reaksi tunggal. Ion kalsium dan tromboplastin jaringan yang dikeluarkan oleh pembuluh darah yang luka akan mengaktifkan faktor VII menjadi VIIa. Faktor VIIa yang terbentuk akan mengaktifkan faktor X menjadi faktor Xa (Setiabudy, 2009).

Jalur bersama meliputi pembentukan protrombinase, aktivasi protrombin dan pembentukan fibrin. Reaksi pertama pada jalur bersama adalah kompleks yang terbentuk dari jalur intrinsik dan ekstrinsik akan mengaktivasi faktor X menjadi faktor Xa. Faktor Xa bersama dengan faktor V, PF3 dan ion kalsium membentuk protrombinase yang akan mengaktivasi protrombin menjadi trombin. Trombin yang terbentuk akan mengaktivasi fibrinogen menjadi fibrin monomer, kemudian mengalami polimerisasi membentuk fibrin polimer. Fibrin polimer yang terbentuk bersifat tidak stabil karena mudah larut oleh zat tertentu seperti urea

sehingga disebut fibrin polimer soluble. Faktor XIII yang diaktivasi menjadi faktor XIIIa oleh trombin dengan bantuan ion kalsium akan mengubah fibrin polimer soluble menjadi fibrin polimer insoluble yang bersifat stabil (Setiabudy, 2009).



Gambar 4. Skema Pembekuan Darah

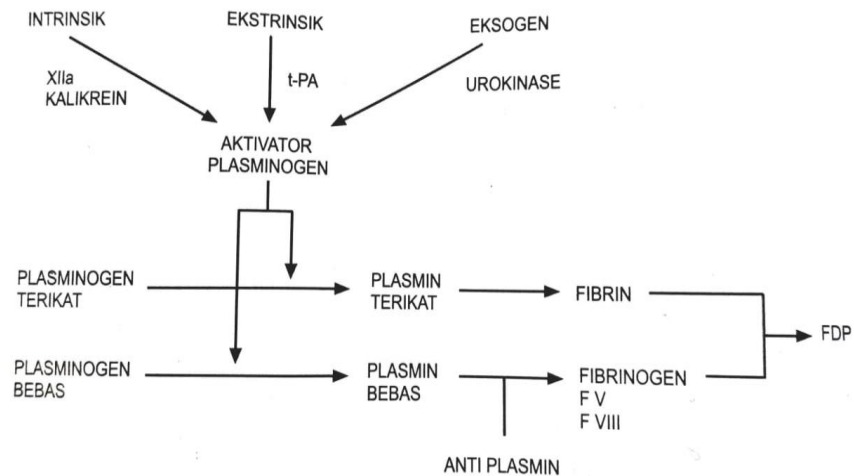
Sumber : Setiabudy, 2009

d. Sistem fibrinolisis

Fibrinolisis merupakan proses penghancuran deposit fibrin oleh sistem fibrinolitik. Sistem fibrinolitik mempunyai tiga komponen utama yaitu

plasminogen, aktivator plasminogen dan inhibitor plasmin. Plasminogen akan diaktivasi menjadi plasmin oleh aktivator plasminogen, sedangkan inhibitor plasmin atau sering disebut antiplasmin adalah substansi yang dapat menetralkan plasmin (Setiabudy, 2009).

Aktivasi plasminogen menjadi plasmin oleh aktivator plasminogen terjadi melalui tiga jalur yaitu jalur intrinsik, ekstrinsik dan eksogen. Sebagian besar plasminogen terikat pada fibrin dan sebagian yang lain terdapat bebas dalam plasma. Kedua plasminogen tersebut apabila diaktifkan akan menjadi plasmin terikat dan plasmin bebas. Plasmin bebas akan segera dinetralkan oleh antiplasmin apabila jumlahnya berlebihan. Plasmin bebas yang berlebihan akan menghancurkan fibrinogen, faktor V dan faktor VIII. Plasmin merupakan enzim proteolitik yang akan memecah fibrin menjadi *Fibrin Degradation Products* (FDP) yang berbentuk fragmen – fragmen. Proses selanjutnya FDP akan dibersihkan oleh hati dan RES dari sirkulasi darah (Setiabudy, 2009).



Gambar 5. Skema Fibrinolisis

Sumber : Seiabudy, 2009

4. Pemeriksaan *Plasma Prothrombin Time* (PPT)

Masa prothrombin plasma (*Plasma Prothrombin Time*) atau PPT merupakan tes koagulasi yang sering dilakukan. PPT adalah pemeriksaan dengan menilai kemampuan faktor koagulasi ekstrinsik yaitu faktor I (fibrinogen), faktor II (prothrombin), faktor V (proakselerin), faktor VII (prokonvertin), faktor X (faktor stuart) dan dapat juga untuk memantau pemberian antikoagulan oral. Prinsip pemeriksaan PPT adalah mengukur lamanya waktu yang dibutuhkan dalam detik untuk pembentukan fibrin dari plasma sitrat setelah penambahan tromboplastin jaringan dan ion kalsium dalam jumlah optimal. Reagen yang digunakan untuk pemeriksaan PPT adalah tromboplastin jaringan dan kalsium terionisasi. Reagen – reagen tersebut apabila ditambahkan pada plasma sitrat akan menggantikan

tromboplastin jaringan untuk mengaktifkan faktor X dengan keberadaan faktor VII tanpa melibatkan trombosit atau prokoagulan jalur intrinsik (Riswanto, 2013). Plasma sitrat harus mengandung sedikitnya 100 mg/dl fibrinogen dan kadar faktor X, VII, V dan protrombin untuk mendapatkan hasil yang normal (Kiswari, 2014).

Bahan pemeriksaan PPT adalah plasma sitrat. Pembuatan plasma sitrat yaitu menggunakan sampel darah vena dengan antikoagulan natrium sitrat 3,2% dengan perbandingan darah dan antikoagulan adalah 9 : 1, kemudian dipusingkan selama 10 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Pemeriksaan PPT dapat dilakukan dengan metode manual dan elektronik. Metode manual dikerjakan dengan teknik *tilt tube* sedangkan metode elektronik dikerjakan menggunakan koagulometer yang bersifat semi otomatis atau *full* otomatis (Riswanto, 2013).

Waktu normal pembekuan jalur ekstrinsik adalah 11 – 14 detik. Masa pembekuan memanjang pada PPT terjadi karena defisiensi faktor koagulasi ekstrinsik dan bersama apabila kadarnya <30%. Terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi hasil pemeriksaan PPT yaitu pengambilan spesimen, adanya bekuan, transport spesimen, ketepatan pemipetan, adanya kontaminasi dan salah menuliskan hasil (Riswanto, 2013).

5. Penyimpanan bahan pemeriksaan

Terdapat beberapa faktor koagulasi yang bersifat labil sehingga bahan pemeriksaan koagulasi harus segera dikerjakan. Faktor – faktor tersebut

diantaranya adalah faktor V dan faktor VIII (Setiabudy, 2009). Sampel darah sitrat yang disimpan pada suhu kamar harus dikerjakan (disentrifus) dalam waktu 30 menit untuk pemeriksaan hemostasis. Bahan pemeriksaan yang berupa plasma sitrat dapat disimpan pada suhu $20 \pm 5^{\circ}\text{C}$ hingga 4 jam, bahkan untuk pemeriksaan *Plasma Prothrombin Time* (PPT) dapat bertahan hingga 8 jam apabila pemeriksaan hemostasis ditunda (Riswanto, 2013).

Menurut *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) plasma sitrat dapat disimpan pada suhu -20°C dan stabil selama 2 minggu, apabila plasma sitrat tersebut akan digunakan perlu dilakukan *thawing* atau proses pencairan pada suhu 37°C dan stabil selama 2 jam pada suhu 4°C . Penyimpanan plasma sitrat pada suhu $2 - 8^{\circ}\text{C}$ untuk pemeriksaan PPT dapat menstabilkan faktor V tetapi dapat menyebabkan teraktivasinya faktor VII oleh sistem kalikerin.

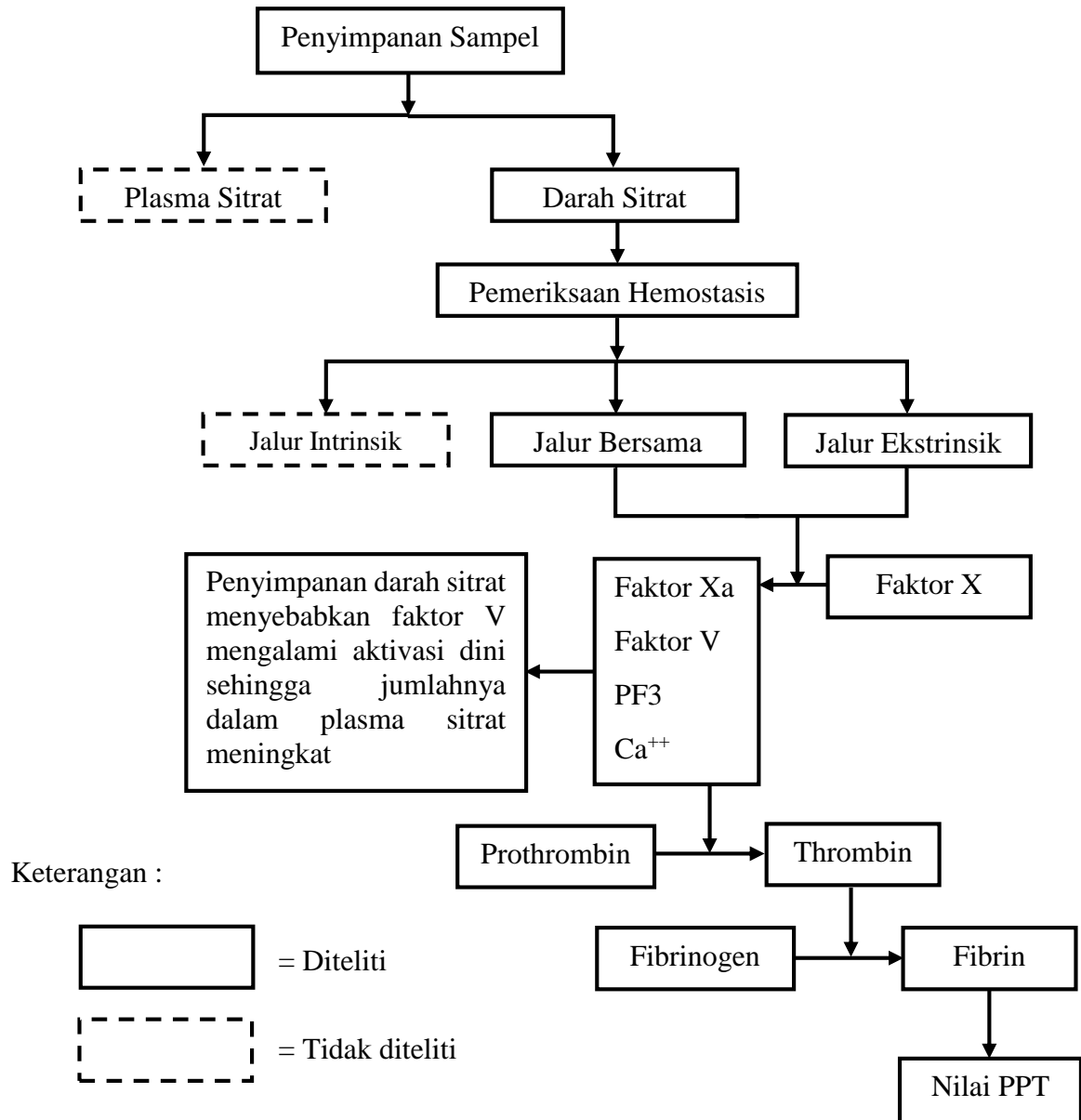
6. Koagulometer

Coagulation analyzer atau *blood coagulation analyzer* atau koagulometer merupakan alat yang digunakan untuk mengukur kuantitas faktor – faktor yang berperan dalam proses hemostasis. Koagulometer digunakan untuk mendeteksi kelainan pada proses pembekuan darah, selain itu digunakan untuk mengamati efek terapi obat serta mengamati efek terapi komponen darah (Mengko, 2013).

Deteksi mekanik koagulometer menggunakan metode elektromekanis. Prinsip pengukurannya adalah peningkatan viskositas plasma saat terbentuk

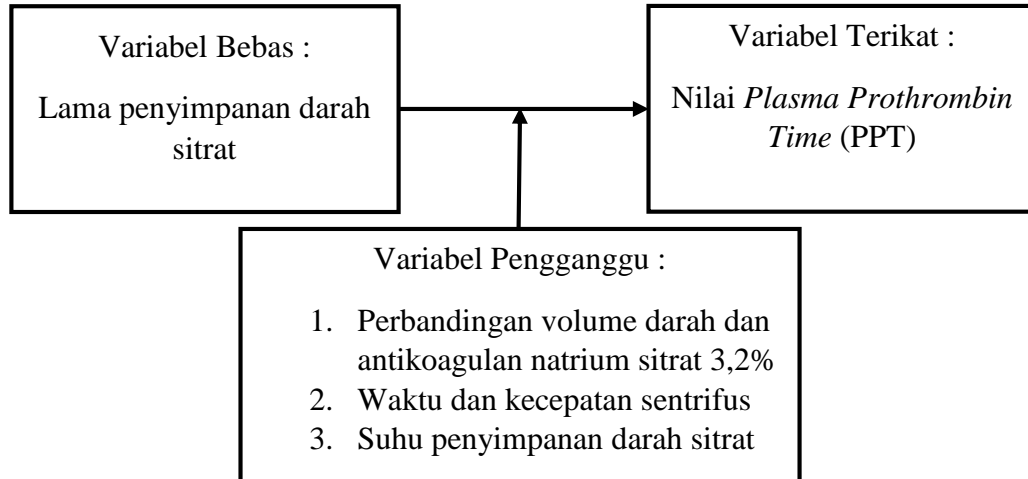
fibrin. Deteksi optik terdiri dari metode fotooptis yang prinsip pengukurannya didasarkan pada fenomena cahaya yang terhambur oleh formasi serat fibrin dan metode fotometrik yang prinsip pengukurannya berdasarkan absorbansi cahaya monokromatik yang melewati kuvet saat reaksi terjadi (Mengko, 2013).

B. Kerangka Teori



Gambar 6. Kerangka Teori

C. Hubungan Antar Variabel



Gambar 7. Hubungan Antar Variabel

D. Hipotesis

Ada pengaruh lama penyimpanan darah sitrat terhadap nilai *Plasma Prothrombin Time* (PPT).