

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Hemostasis

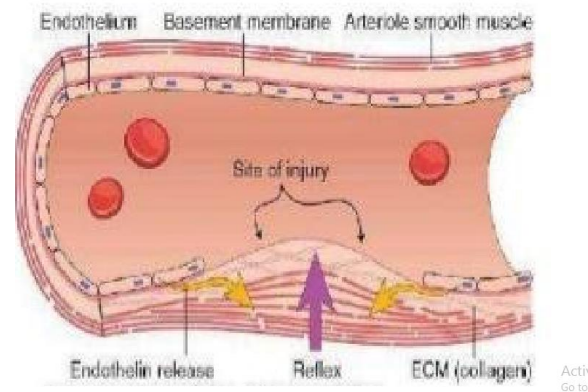
Hemostasis merupakan proses penghentian perdarahan secara spontan dari pembuluh darah yang mengalami kerusakan atau akibat putusnya atau robeknya pembuluh darah. Apabila terjadi kerusakan pembuluh darah, maka faal hemostasis secara fisiologi memberikan respon terhadap kerusakan tersebut yang melibatkan beberapa komponen yaitu sistem vaskuler, sistem trombosit, sistem koagulasi, dan sistem fibrinolisis. (Durachim dan Astuti, 2018).

Ada beberapa sistem yang berperan dalam hemostasis :

a. Sistem Vaskuler

Apabila pembuluh darah mengalami luka, maka akan terjadi vasokonstriksi yang mula-mula secara reflektoris yang selanjutnya dipertahankan oleh faktor lokal seperti 5-hidroksitriptamin (5-HT, serotonin dan epinefrin) (Setiabudy, 2009). Vasokonstriksi yaitu proses penyempitan diameter pembuluh darah pada daerah yang mengalami kerusakan atau luka. Kerusakan jaringan atau luka akan mengeluarkan zat serotonin, epinefrin yang mengakibatkan pembuluh darah menjadi mengerut atau menyempit dengan tujuan untuk

mengurangi aliran darah yang menuju ke daerah luka (Durachim dan Astuti, 2018).

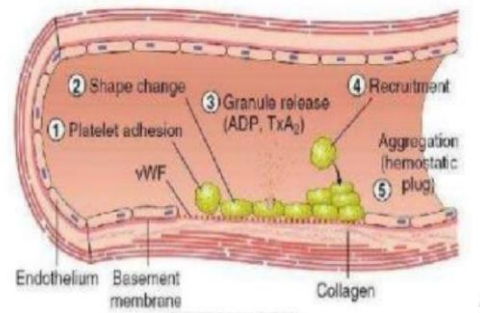


Gambar 1. Pengkerutan Pembuluh Darah
Sumber : Durachim dan Astuti, 2018

b. Sistem Trombosit

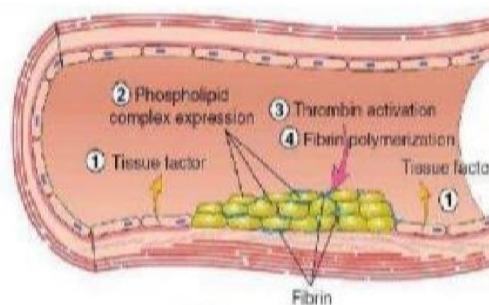
Trombosit berperan penting dalam hemostasis yaitu pembentukan dan stabilisasi sumbat trombosit. Pembentukan sumbat trombosit terjadi melalui beberapa tahap yaitu adesi trombosit, agregasi trombosit dan reaksi pelepasan (Setiabudy, 2009).

Ketika lapisan pembuluh darah berupa sel endotel rusak maka jaringan ikat di bawah endotel seperti serat kolagen, serat elastin dan membrana asalin terbuka sehingga terjadi aktivasi trombosit yang menyebabkan adesi trombosit yaitu proses dimana trombosit melekat pada permukaan asing terutama serat kolagen. Adesi trombosit sangat tergantung 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 subendotel (Setiabudy, 2009).



Gambar 2. Adesi
Sumber : Durachim dan Astuti, 2018

Pada bagian yang luka, trombosit aktif akan mengeluarkan bagian isi seperti ADP (*Adenosine Diphosphate*) yang dikeluarkan oleh trombosit yang melekat pada serat subendotel, yang akan merangsang trombosit lain untuk menempel pada trombosit yang dikenal dengan istilah agregasi trombosit primer dan bersifat reversibel. Trombosit pada agregasi primer akan mengeluarkan ADP sehingga terjadi agregasi trombosit sekunder yang bersifat irreversibel. Selain ADP, agregasi trombosit terjadi karena adanya pembentukan ikatan diantara fibrinogen yang melekat pada dinding trombosit dengan perantara penghubung ion kalsium (Setiabudy, 2009).



Gambar 3. Agregasi
Sumber : Durachim dan Astuti, 2018

Selama proses agregasi, terjadi perubahan bentuk trombosit dari cakram menjadi bulat disertai dengan pembentukan pseudopodi. Akibat perubahan bentuk ini maka granula trombosit akan terkumpul di tengah dan akhirnya melepaskan isinya. Proses ini disebut reaksi pelepasan dan memerlukan adanya enersi. Zat agregator lain seperti trombin, kolagen, epinefrin dan TxA2 dapat menyebabkan reaksi pelepasan. Trombin dan kolagen menyebabkan pelepasan isi granula padat, alfa dan lisosom. Granula padat melepaskan ADP, ATP (*Adenosine Triphosphate*), ion kalsium, serotonin, epinefrin dan nor-epinefrin. Granula alfa melepaskan fibrinogen, vWF, FV, *platelet factor 4* (PF4), beta tromboglobulin (β TG). Sedangkan lisosom melepaskan enzim hidrolase asam (Setiabudy, 2009)

c. Sistem Pembekuan Darah

Proses pembekuan darah terdiri dari rangkaian reaksi enzimatik yang melibatkan protein plasma yang disebut sebagai faktor pembekuan darah, fosfolipid dan ion kalsium. Faktor pembekuan terdiri dari tiga kelompok yaitu kelompok fibrinogen yang terdiri dari faktor I, V, VIII dan XIII, kelompok prothrombin terdiri dari faktor II, VII, IX dan X, serta kelompok kontak terdiri dari faktor XI dan XII (Kiswari, 2014). Proses pembekuan darah dimulai melalui dua jalur yaitu jalur intrinsik dan ekstrinsik yang kemudian akan bergabung menjadi jalur bersama yang melibatkan F X, F V, PF 3, protrombin dan fibrinogen (Setiabudy, 2009).

Tabel 1. Faktor Pembekuan

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 anti hemofilik	Kofaktor
IX	Faktor Christmas	Protease serin
X	Faktor Stuart-Power	Protease serin
XI	Precursor tromboplastin plasma	Protease serin
XII	Faktor (kontak) Hageman	Protease serin
XIII	Faktor penstabil fibrin	Transglutaminase
	Prekalikrein (faktor Fletcher)	Protease serin
	HMWK (faktor Fitzgerald)	Kofaktor

Sumber : Hoffbrand, 2005

1) Jalur ekstrinsik koagulasi

Jalur ekstrinsik diawali oleh masuknya tromboplastin jaringan ke dalam sirkulasi darah yang berasal dari fosfolipoprotein dan membran organel dari sel-sel jaringan yang terganggu. Faktor VII akan mengikat fosfolipid dalam membran sel dan jaringan membentuk faktor VIIa yang merupakan enzim kuat yang mampu mengaktifkan faktor X menjadi Xa bersama dengan kalsium terionisasi. Faktor VII hanya berperan dalam jalur ekstrinsik dan langkah terakhir konversi fibrinogen menjadi fibrin oleh trombin (Kiswari, 2014).

Jalur ekstrinsik terdiri dari reaksi tunggal dimana F.VII akan diaktifkan menjadi F.VIIa dengan adanya ion kalsium dan tromboplastin jaringan yang dikeluarkan oleh pembuluh darah yang luka. Kalikrein dapat mengaktivasi F.VII menjadi F.VIIa, hal ini membuktikan adanya hubungan antara jalur intrinsik dan ekstrinsik.

Selanjutnya, F.VIIa yang terbentuk akan mengaktifkan F.X menjadi F.Xa (Setiabudy, 2009).

2) Jalur intrinsik koagulasi

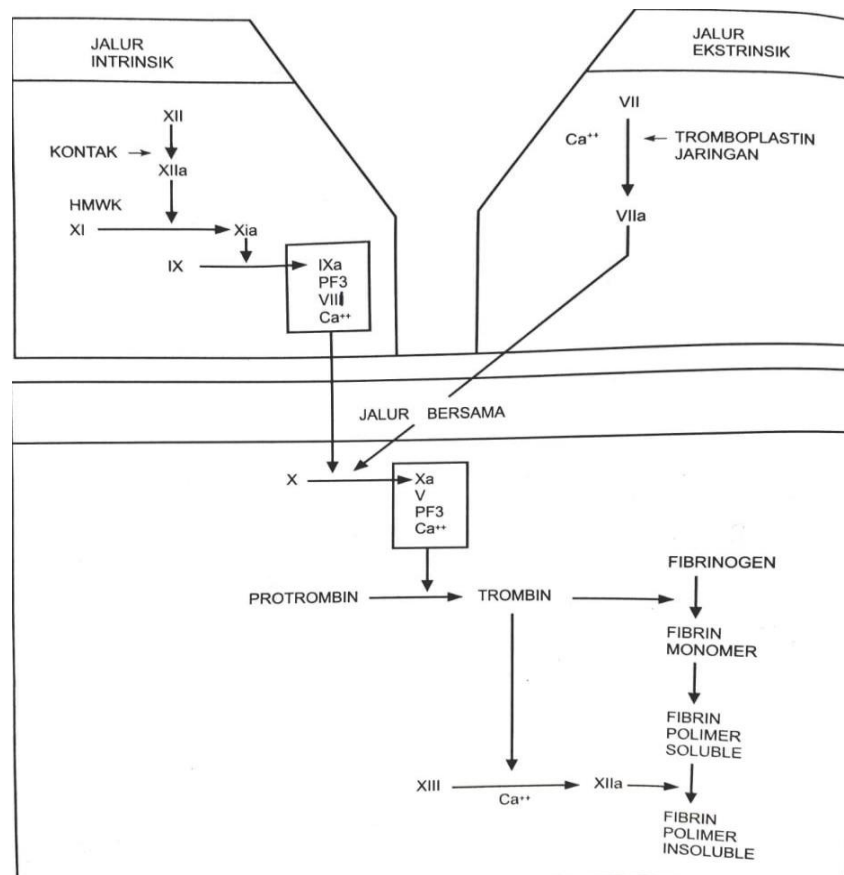
Jalur intrinsik meliputi fase kontak dan pembentukan kompleks aktivator F X. Kontak antara F.XII dengan permukaan asing seperti serat kolagen akan menyebabkan aktivasi F.XII menjadi F.XIIa. F.XIIa dengan kofaktor HMWK akan mengubah prekalikrein menjadi kalikrein, yang akan meningkatkan aktivasi F.XII. Disamping itu, kalikrein akan mengaktifkan F.VII menjadi F.VIIa pada jalur ekstrinsik, mengaktifkan plasminogen menjadi plasmin pada sistem fibrinolitik, serta mengubah kininogen menjadi kinin yang berperan dalam reaksi inflamasi. Jadi, aktivasi F.XII disamping mencetuskan pembekuan darah baik jalur intrinsik maupun jalur ekstrinsik, juga mencetuskan sistem fibrinolitik dan kinin. Reaksi selanjutnya pada jalur intrinsik adalah aktivasi F.XI menjadi F.XIa oleh F.XIIa dengan HMWK sebagai kofaktor. F. XIa dengan adanya ion kalsium akan mengubah F.IX menjadi IXa. Reaksi terakhir pada jalur intrinsik adalah interaksi nonenzimatik antara F.IXa, PF3, F.VIII dan ion kalsium maka reaksi ini akan dipercepat (Setiabudy, 2009).

3) Jalur bersama

Jalur bersama meliputi pembentukan protrombinase, aktivasi protrombin dan pembentukan fibrin. Reaksi pertama pada jalur

bersama adalah perubahan F.X menjadi F.Xa oleh adanya kompleks pada jalur intrinsik dan atau F.VIIa dari jalur ekstrinsik. F.Xa bersama F.V, PF.3 dan ion kalsium membentuk protrombinase yang akan mengubah protrombin menjadi trombin. Trombin merupakan enzim proteolitik yang mempunyai beberapa proteolitik yang mempunyai beberapa fungsi yaitu mengubah fibrinogen menjadi fibrin, mengubah F.XIII menjadi F.XIIIa, meningkatkan aktivasi F.V dan F.VIII, merangsang reaksi pelepasan dan agregasi trombosit. Pada reaksi selanjutnya trombin akan mengubah fibrinogen menjadi fibrin monomer dengan bantuan kompleks protrombinase yang terdiri dari fosfolipid sel trombosit, ion Ca, faktor V dan Xa. Faktor V merupakan kofaktor dalam pembentukan kompleks protrombinase (Bambang, dkk, 2005). Fibrin monomer akan segera mengalami polimerisasi untuk membentuk fibrin polimer *soluable*. F.XIIIa dan ion kalsium mengubah fibrin polimer *soluable* menjadi fibrin polimer *insoluble* yang bersifat stabil dan sulit larut oleh zat tertentu (Setiabudy, 2009).

Proses ini mencakup pelepasan dua pasang polipeptida dari setiap molekul fibrinogen. Monomer fibrin yang tersisa kemudian mengalami polimerisasi dengan molekul-molekul monomer lain dan membentuk fibrin. Melalui pembentukan ikatan silang kovalen, fibrin yang awalnya gumpalan longgar dari jalinan benang-benang menjadi agregat yang padat dan erat (stabilisasi) (Ganong, 2013).



Gambar 4. Skema Pembekuan Darah
Sumber : Setiabudy, 2009

d. Fibrinolisis

Fibrinolisis merupakan mekanisme pecahnya benang fibrin (produk akhir koagulasi). Darah juga mengandung enzim fibrinolitik yang berguna mencegah pembentukan gumpalan atau pembekuan darah pada area yang tidak terluka, sehingga tidak akan menghalangi aliran darah, enzim ini juga akan menghancurkan fibrin bila luka telah sembuh (Durachim dan Astuti, 2018). Melalui proses fibrinolisis, aliran darah akan terbuka kembali (Setiabudy, 2009).

Sistem fibrinolitik terdiri dari tiga komponen utama yaitu plasminogen yang akan diaktifkan menjadi plasmin, aktivator

plasminogen dan inhibitor plasmin. Plasminogen sebagian besar terikat pada fibrin dan sebagian lagi terdapat bebas di dalam plasma. Apabila plasminogen diaktifkan, akan terbentuk plasmin bebas dan plasmin yang terikat fibrin. Plasmin bebas akan segera dinetralkan oleh antiplasmin, namun apabila jumlahnya berlebihan, maka plasmin bebas tersebut akan memecah fibrinogen, F.V dan F.VIII (Setiabudy, 2009).

Plasmin memecah fibrin menjadi fragmen-fragmen yang disebut *fibrin degradation products* (FDP) , mula-mula terbentuk fragmen X yang selanjutnya dipecah menjadi fragmen Y yang dipecah menjadi fragmen D dan E, dan D. Fragmen-fragmen tersebut mengganggu aktivitas trombin, fungsi trombosit dan polimerisasi fibrin yang mengakibatkan bekuan larut (D'Hiru, 2013). Pada proses selanjutnya FDP dibersihkan dari sirkulasi darah oleh hati dan RES (*reticuloendothelial system*) (Setiabudy, 2009).

2. Pemeriksaan Hemostasis

Pemeriksaan hemostasis bertujuan untuk membantu menetapkan diagnosis, terutama untuk menguji fungsi hemostasis dan pemantauan pengobatan atau penyakit pada penderita dengan penyakit umum yang mempunyai komplikasi perdarahan (Riswanto, 2013). Pemeriksaan hemostasis biasanya dilakukan untuk keperluan operasi dan diperiksa sebelum operasi (pra operasi) (Setiabudy, 2009).

Pemeriksaan laboratorium hemostatik terdiri dari dua macam yaitu pemeriksaan rutin atau penyaring (*screening*) dan pemeriksaan khusus. Pemeriksaan penyaring terdiri dari hitung trombosit, waktu perdarahan (*bleeding time*, BT), waktu protrombin plasma (PPT), waktu tromboplastin parsial teraktivasi (APTT) dan waktu trombin (TT). Pada pasien yang tampak normal dan akan menjalani pembedahan, PPT, APTT, dan hitung trombosit sudah merupakan uji penyaring yang memadai. Apabila anamnesisnya sugestif, BT dan TT harus diperiksa. Melalui cara ini, jalur koagulasi ekstrinsik, intrinsik, interaksi trombin/fibrinogen, hitung dan fungsi trombosit dapat mengungkapkan ada tidaknya gangguan perdarahan (Riswanto, 2013).

3. Pemeriksaan *Thrombin Time* (TT)

Pemeriksaan *Thrombin time* (TT) atau waktu pembekuan trombin (*thrombin clotting time*, TCT) adalah waktu yang diperlukan trombin untuk mengubah fibrinogen menjadi fibrin. Pemberian trombin ke dalam plasma segera mengubah fibrinogen menjadi fibrin tanpa dipengaruhi oleh faktor koagulasi intrinsik maupun ekstrinsik. Pemeriksaan masa trombin mengevaluasi interaksi trombin-fibrinogen dan menguji kemampuan atau fungsi fibrinogen dan adanya zat penghambat (*inhibitor*) terhadap trombin. Trombin adalah enzim proteolitik yang mengubah fibrinogen menjadi fibrin (Riswanto, 2013).

Pemeriksaan TT dilakukan apabila pemeriksaan sebelum pembedahan didapat hasil PPT, APTT, dan hitung trombosit sugestif atau abnormal, sehingga pemeriksaan BT dan TT harus diperiksa. Melalui cara ini, jalur koagulasi ekstrinsik, intrinsik, interaksi trombin/fibrinogen, hitung dan fungsi trombosit dapat mengungkapkan ada tidaknya gangguan perdarahan (Riswanto, 2013).

Nilai normal TT berkisar antara 5-20 detik. Waktu trombin dapat memanjang apabila terjadi defisiensi fibrinogen atau apabila terdapat antikoagulan dalam darah yang aktif dan mengintervensi kerja trombin, seperti heparin (Sacher dan McPherson, 2004). Selain itu, apabila terdapat produk degradasi fibrinogen dalam sirkulasi, inhibisi kompetitif interaksi trombin/fibrinogen. Kadar fibrinogen kurang dari 100 mg/dl juga dapat memperpanjang waktu trombin (TT) (Riswanto, 2013).

Hasil TT dapat mengalami peningkatan pada kasus DIC (*Disseminated Intravascular Coagulation*), fibrinolisis, hipofibrinogenemia, multiple mieloma, uremia, penyakit hati yang parah. Obat yang perlu diwaspadai: heparin, *low-molecular-weight heparin* (LMWH), urokinase, streptokinase, asparaginase. Sedangkan mengalami penurunan pada hiperfibrinogenemia, nilai hematokrit >55% (Herawati, dkk, 2011).

Hal-hal yang dapat mempengaruhi pemeriksaan TT :

- a. Pengambilan darah

Pemasangan torniket saat pengambilan darah vena tidak boleh lebih dari 1 menit untuk menghindari hemokonsentrasi yang dapat meningkatkan protein darah seperti kadar fibrinogen, faktor VII, VIII, XII, mengaktivasi sel endothelial dan fibrinolisis (Durachim dan Astuti, 2018). Fibrinolisis dapat menghambat kerja trombin dan polimerisasi fibrin sehingga dapat memperpanjang nilai *Thrombin Time* (TT). Sedangkan peningkatan kadar fibrinogen (hiperfibrinogenemia) dapat memperpendek hasil TT (Herawati, dkk, 2011).

b. Antikoagulan Sitrat

1) Jenis dan konsentrasi antikoagulan

Natrium sitrat (*sodium citrate*) adalah jenis antikoagulan yang direkomendasikan oleh *International Committee for Standardization in Haematology* (ICSH) dan *International Society for Thrombosis and Haematology* sebagai antikoagulan yang terpilih untuk tes koagulasi termasuk pemeriksaan TT karena dapat memelihara faktor-faktor pembekuan darah (Riswanto, 2013). Antikoagulan ini mengendapkan ion kalsium menjadi bentuk yang tidak aktif. Ion kalsium merupakan salah satu faktor pembekuan (F IV) karena tanpa kalsium pembekuan tidak dapat terjadi (Kiswari, 2014). Antikoagulan ini mempunyai kelebihan karena dapat memelihara faktor-faktor pembekuan darah dan mengembalikan kalsium ke dalam spesimen selama proses pemeriksaan serta dapat mengembalikan efek pengikatan (*binding*) (Riswanto, 2013).

Menurut panduan *Clinical and Laboratory Standard Institute* (CLSI) merekomendasikan bahwa pengumpulan spesimen darah untuk pemeriksaan koagulasi termasuk pemeriksaan TT menggunakan tabung *Sodium Citrate* 105 – 109 mmol/L (3,2%). Penggunaan konsentrasi sitrat yang lebih tinggi (yaitu 3,8% atau 129 mmol / L) dapat mengikat kalsium yang lebih besar sehingga waktu pembekuan lebih lama yang dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan TT (Magnetite, *et al*, 2016).

2) Rasio volume darah dan antikoagulan

Penggunaan antikoagulan sitrat dengan konsentrasi 3,2 % (109 mmol/L) menggunakan rasio 9 : 1 (9 volume darah dengan 1 volume antikoagulan), dan paling baik untuk mengisi tabung sedikitnya 90% dari kapasitas tabung atau mencapai batas yang terdapat pada tabung untuk tercapainya rasio antar volume darah dan antikoagulan yang sesuai (Adiyanti, 2014).

Pengisian tabung sitrat yang tidak tepat dapat mempengaruhi hasil uji koagulasi. Volume darah yang kurang (*underfilling*) dapat meningkatkan pengenceran sampel karena jumlah antikoagulan sitrat lebih banyak (cair) yang mengarah pada peningkatan ikatan sitrat-kalsium sehingga waktu pembekuan menjadi lebih lama atau lama dalam membentuk bekuan fibrin yang dapat memperpanjang hasil TT, sebaliknya antikoagulan yang terlalu sedikit dapat memperpendek hasil TT (Magnetite, *et al*, 2016).

c. Sampel hemolisis

Hemolisis merupakan pecahnya membran eritrosit sehingga hemoglobin tercampur ke dalam plasma atau serum (Durachim dan Astuti, 2018). Hemolisis memberikan rona merah muda – merah yang terlihat pada serum atau plasma. Hemolisis bisa terjadi karena *in vivo* dan *in vitro*. Hemolisis *in vivo* tidak dapat dihindari karena disebabkan oleh kondisi herediter, didapat, dan iatrogenik (seperti anemia hemolitik autoimun, infeksi berat, koagulasi diseminata intravaskular, atau reaksi transfusi). Sebaliknya, lisis sel darah *in vitro* disebabkan oleh pengumpulan, penanganan, dan pemrosesan spesimen yang tidak tepat (Lippi, dkk, 2006).

Hemolisis pada sampel dapat disebabkan pengambilan darah yang lambat ataupun kesulitan ketika proses pengambilan darah, terlalu lama menggunakan torniket, penggunaan alat pengambilan darah yang salah (menggunakan *butterfly needles* atau *IV catheter*, ukuran jarum yang kecil), homogenisasi sampel yang tidak sesuai, sentrifugasi sampel dengan kecepatan yang tidak sesuai (> 1500 g), transportasi sampel yang tidak baik (Durachim dan Astuti, 2018).

Sampel yang hemolisis dapat menyebabkan absorbansi kuat dari hemoglobin bebas atau sel yang masih ada dalam sampel oleh instrumentasi optik untuk pengujian koagulasi. Absorbansi kuat ini menimbulkan nilai absorbansi tinggi sehingga hasil tes akan menjadi tidak akurat. Selain itu, sampel hemolisis dapat melepaskan molekul

membran sitoplasma dan plasma seperti faktor jaringan, protease, fosfolipid dan adenosin difosfat (ADP) yang dapat menghasilkan aktivasi palsu pembekuan darah dan trombosit baik pada instrumentasi optik dan mekanik, yang dapat membiaskan hasil tes untuk aktivasi dini pembekuan darah (pemendekan waktu pembekuan darah) atau konsumsi faktor pembekuan (perpanjangan waktu pembekuan darah), dan hiperaktivasi trombosit (Lippi, dkk, 2013).

Paparan fosfolipid membran anionik selama eritrositolisis dapat memberikan permukaan yang kaya fosfolipid untuk mempercepat reaksi koagulasi sehingga mempersingkat hasil pengujian. Sedangkan, paparan membran fosfolipid dapat bersaing dengan tromboplastin untuk ketersediaan faktor VIIa (FVIIa) yang diaktifkan dan dapat memperpanjang hasil tes (Laga, 2006). Selain itu, hemolisis dapat menurunkan kadar fibrinogen (hipofibrinogenemia) sehingga mempengaruhi hasil pemeriksaan TT yang dapat memanjang (Durachim dan Astuti, 2018).

Pada penelitian yang dilakukan oleh RoB dan Paar (1998) menilai gangguan akibat hemolisis menggunakan analisis optik mengamati bahwa terjadi pemendekan waktu trombin (TT) pada konsentrasi hemoglobin > 210 $\mu\text{mol} / \text{L}$ dan penurunan fibrinogen pada konsentrasi hemoglobin > 60 $\mu\text{mol} / \text{L}$ (Lippi, dkk, 2013).

d. Sampel lipemik dan ikterik

Sampel plasma lipemik dan ikterik dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan koagulasi terkhusus pada instrumentasi metode optik karena mempengaruhi absorbansi optikal atau transmisi cahaya ketika membaca hasil pemeriksaan. Plasma lipemik berwarna putih keruh seperti susu karena peningkatan kandungan lipoprotein, sedangkan plasma ikterik berwarna kuning coklat akibat adanya hiperbilirubinemia atau kadar bilirubin darah tinggi (Sacher dan McPherson, 2004). Pada penelitian Roß dan Paar (1998) menggunakan sistem tes optik, menyimpulkan bahwa terjadi perpanjangan waktu trombin pada plasma ikterik dengan konsentrasi bilirubin $> 14,6 \text{ mg / dL}$ ($250 \text{ } \mu\text{mol / L}$), sedangkan pada plasma lipemik hasil waktu trombin menunjukkan perpanjangan yang signifikan (perpanjangan) pada konsentrasi lipid $> 965 \text{ mg / dL}$ ($10,9 \text{ mmol / L}$) (Lippi, dkk, 2013).

e. Waktu dan kecepatan sentrifugasi

Plasma yang digunakan untuk pemeriksaan koagulasi seperti APTT, PPT, TT dan Fibrinogen adalah plasma miskin trombosit atau *Platelet Poor Plasma* (PPP) (CLSI, 2008). *Platelet Poor Plasma* (PPP) memiliki jumlah trombosit $< 10.000/\mu\text{l}$ (Adiyanti, 2014).

Kecepatan dan waktu sentrifugasi sampel darah sitrat mempengaruhi terhadap kondisi plasma dengan variasi jumlah trombosit. Menurut *Clinical and Laboratory Standard Institute* (CLSI), PPP diperoleh dengan cara sentrifugasi pada kecepatan 3500 rpm

selama 10 menit atau dengan kecepatan lebih rendah selama 10-30 menit (Hardisari, R, 2016).

Plasma dengan jumlah trombosit yang sedikit memberikan gambaran pada tes koagulasi karena yang terukur hanyalah faktor-faktor pembekuan jalur ekstrinsik, jalur instrinsik maupun jalur bersama. Trombosit mengandung jumlah yang signifikan dari berbagai faktor koagulasi yaitu fibrinogen, faktor V, von Willebrand faktor, faktor XI, faktor XIII dan *High Molekular Weight Kininogen* (HMWK) (Hardisari, R, 2016).

Semakin banyak trombosit akan semakin mempengaruhi aktivitas koagulasi sehingga akan mempercepat masa koagulasi. Adesi trombosit sangat tergantung 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 subendotel (Setiabudy, 2009).

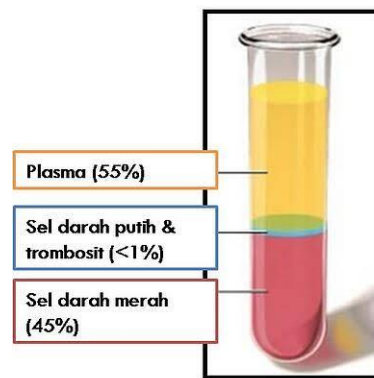
4. Bahan Pemeriksaan

Jenis spesimen untuk pemeriksaan hematologi adalah berupa darah yang berasal dari pembuluh vena atau kapiler (Riswanto, 2013).

a. Darah Sitrat (*whole blood*)

Darah sitrat (*whole blood citrate*) adalah darah vena dengan antikoagulan natrium sitrat 3,2 % (109 mmol/L) yang sama bentuk atau kondisinya seperti ketika berada dalam aliran darah (Riswanto, 2013). Darah meliputi bagian cair (plasma darah) sekitar 55-60% dari

seluruh volume darah dan bagian padat (sel atau butir darah) sekitar 40-45% meliputi sel darah merah (*erythrocyte*), sel darah putih (*leucocyte*) dan keping darah (*thrombocyte*) (Siswanto, 2017).



Gambar 5. Komposisi Darah

b. Plasma Sitrat

Plasma sitrat adalah bagian cair dari darah yang diberi antikoagulan sitrat setelah dilakukan proses sentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 10 menit untuk memperoleh *platelet poor plasma* (PPP) atau plasma miskin trombosit pada tes koagulasi (Hardisari, R, 2016).

Plasma mengandung fibrinogen, protrombin, faktor VIII, V, XIII, XII, XI, X, IX dan VII (Sacher dan McPherson, 2004). Plasma yang masih segar masih mengandung semua protein dalam darah, namun aktivitas faktor V dan VIII secara bertahap menurun setelah penyimpanan (Sacher dan McPherson, 2004).

5. Penundaan sentrifugasi untuk pemeriksaan *Thrombin Time* (TT)

Bahan pemeriksaan berupa spesimen darah yang telah keluar dari tubuh harus segera dibawa ke laboratorium dan segera diperiksa karena

darah yang telah keluar dari tubuh akan segera mengalami perubahan (Riswanto, 2013).

Spesimen darah sitrat pada suhu kamar untuk pemeriksaan hemostasis harus segera dilakukan sentrifugasi dan diperiksa dalam waktu 30 menit. Pemisahan plasma sebaiknya dilakukan kurang dari 30 menit dari waktu pengambilan darah dikarenakan eritrosit dan sel darah yang masih hidup masih melakukan metabolisme dan dapat mempengaruhi kadar analit dalam plasma (Riswanto, 2013).

Reagensia untuk pemeriksaan TT stabil selama 3 hari pada suhu 22°C, 5 hari pada suhu 15°C dan 7 hari pada suhu 2-8°C. Reagensia tidak boleh dibekukan (Adiyanti, 2014). Bahan pemeriksaan TT harus disimpan pada suhu sekitar (15 – 25 °C) sampai proses sentrifugasi. Suhu ekstrem harus dihindari untuk menjaga integritas sampel. Suhu yang lebih tinggi dari suhu kamar dapat menyebabkan degradasi faktor V dan faktor VIII (Magnette, *et al*, 2016). Sampel untuk pemeriksaan TT harus segera disentrifugasi pada suhu 22 - 24°C dan diujikan selama 2 jam atau 4 jam ketika sampel disimpan pada suhu 4-8°C setelah pengambilan sampel (Durachim dan Astuti, 2018). Penyimpanan pada suhu dingin dapat menstabilkan faktor V, tetapi menyebabkan teraktivasi faktor VII (prokonvertin) oleh sistem kalikrein (Riswanto, 2013).

Penyimpanan dingin seluruh darah sitrat sebelum sentrifugasi, dengan menempatkan sampel baik di penangas es atau dalam penyimpanan berpendingin (2-8°C), tidak lagi direkomendasikan.

Pembekuan menyebabkan penurunan yang nyata terutama aktivitas FVIII. Penyimpanan yang tidak benar dari seluruh darah pada suhu dingin dapat menyebabkan nilai VWF dan faktor VIII turun di bawah tingkat ambang batas referensi normal, yang berpotensi menyebabkan kecurigaan palsu hemofilia A atau VWD (*Von Willebrand Disease*) karena penanganan darah pra analitik yang tidak sesuai (Magnette, *et al*, 2016).

Pemeriksaan TT dipengaruhi oleh ketepatan waktu sentrifugasi dan pemeriksaan bahan pemeriksaan. Hal ini dikarenakan apabila darah sitrat tidak segera disentrifugasi dan diperiksa terlalu lama dapat menyebabkan perubahan fibrinogen dan faktor koagulasi lain dalam darah (Riswanto, 2013). Darah sitrat mengandung protein plasma berupa faktor koagulasi yang bersifat labil (FV dan FVIII) yang ketika penyimpanan terlalu lama akan mengalami degradasi sebelum waktu pemeriksaan dan jumlahnya dalam plasma akan menurun yang akan mempengaruhi proses koagulasi menjadi lama dalam pembentukan bekuan fibrin yang mengarah ke waktu pembekuan yang lama dan hilangnya aktivitas faktor *in vitro* (Magnette, *et al*, 2016).

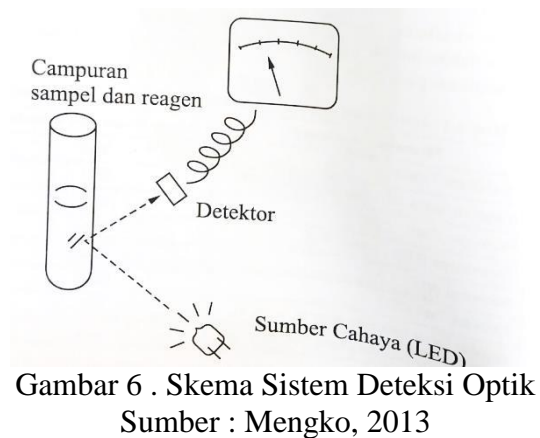
6. *Coagulation analyzer*

Coagulation analyzer atau *blood coagulation* adalah alat yang digunakan untuk mengukur kuantitas faktor-faktor yang berperan pada proses hemostasis. Prinsip kerja pengukuran ini dengan deteksi mekanik atau kimia adalah dengan menginkubasi plasma darah dalam jumlah

tertentu serta periode waktu tertentu, lalu dicampur dengan reagen sehingga terjadi proses pembekuan yang dideteksi melalui terbentuknya fibrin (Mengko, 2013).

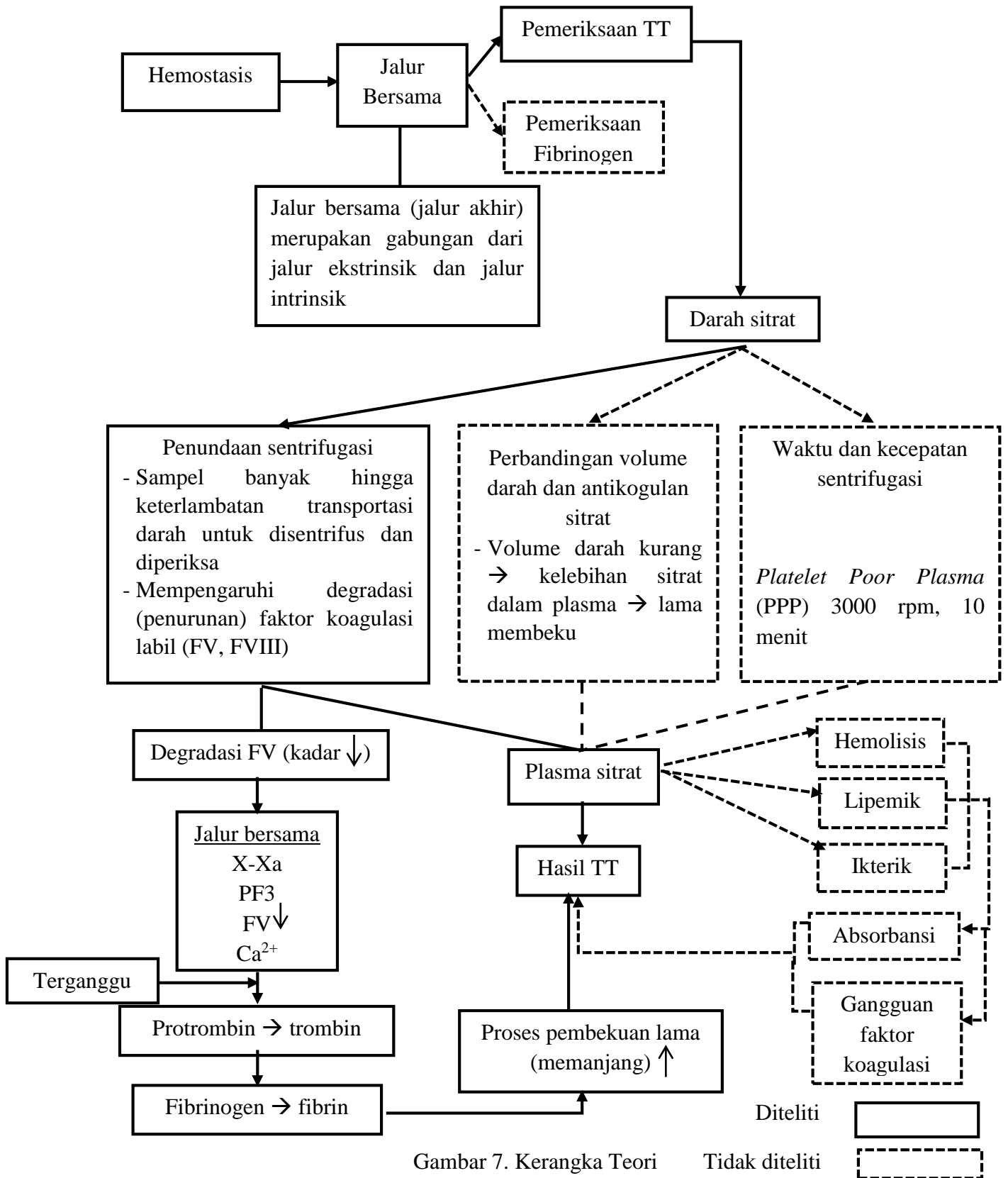
Metode yang digunakan oleh *coagulation analyzer* diantaranya deteksi mekanik, deteksi optik dan *amperometric detection*. Deteksi mekanik terdiri dari elektromekanis yang pengukurannya berdasarkan perubahan besaran arus oleh serat fibrin dan elektromagnetomekanis yaitu pengukuran yang dilakukan berdasarkan peningkatan viskositas plasma saat fibrin terbentuk. Selanjutnya, deteksi optik terdiri dari fotooptis yang pengukurannya didasarkan pada fenomena cahaya yang terhambur oleh formasi serat fibrin, dan fotometrik yaitu pengukuran yang dilakukan berdasarkan absorbansi (densitas optik) dari cahaya monokromatik yang melewati kuvet saat proses reaksi terjadi, dimana cahaya yang ditransmisikan diukur dan dikonversi menjadi absorbansi yang sebanding dengan konsentrasi zat yang diukur. Kelebihan deteksi optik dapat digunakan berulang kali karena tidak ada kontak secara langsung antara sampel dengan sumber cahaya dan sensor cahaya. Kekurangan metode ini adalah gangguan dari lipidemia atau bilirubinemia dapat mencegah alat yang menggunakan deteksi optik untuk mendeteksi perubahan kecil dari cahaya saat pembekuan darah berlangsung yang dapat menyebabkan kesalahan interpretasi hasil (Mengko, 2013).

Prinsip deteksi optik yaitu campuran antara plasma dan reagen yang dipaparkan dengan cahaya dengan panjang gelombang 660 nm. Selanjutnya kekeruhan darah selama proses koagulasi dideteksi sebagai perubahan pada intensitas cahaya yang terhambur. Perubahan intensitas ini digambarkan dengan kurva koagulasi hingga waktu koagulasi dapat ditemukan. Cahaya diemisikan oleh sumber cahaya mencapai campuran sampel dan reagen. Selanjutnya, cahaya terhambur yang dihasilkan ditangkap oleh *photodiode* yang kemudian mengkonversi cahaya menjadi sinyal elektrik. Sinyal ini disimpan dan dihitung menggunakan komputer mikro sebagai waktu koagulasi (Mengko, 2013)



Gambar 6 . Skema Sistem Deteksi Optik
Sumber : Mengko, 2013

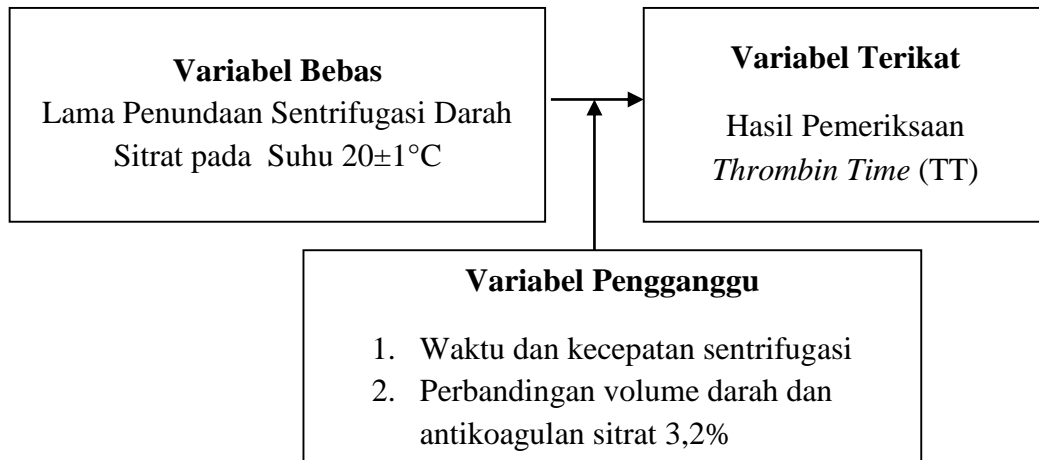
B. Kerangka Teori



Gambar 7. Kerangka Teori

Tidak diteliti

C. Hubungan Antar Variabel



Gambar 8. Hubungan Antar Variabel

D. Hipotesis Penelitian

Ada pengaruh lama penundaan sentrifugasi darah sitrat pada suhu $20\pm 1^{\circ}\text{C}$ terhadap hasil pemeriksaan *Thrombin Time* (TT).