

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Telaah Pustaka**

##### **1. Darah**

Darah adalah cairan tubuh yang memiliki fungsi untuk mengatur keseimbangan asam basa, mengangkut oksigen dan karbohidrat, mentranspor metabolit dan mengatur suhu tubuh. Darah pada setiap manusia jumlahnya berbeda-beda. Faktor yang membedakan jumlah darah dalam tubuh manusia adalah umur, pekerjaan, keadaan jantung dan pembuluh darah. Jumlah darah pada orang dewasa berkisar 1/13 berat badan atau sekitar 4,5-5 liter (Syarifuddin, 2002).

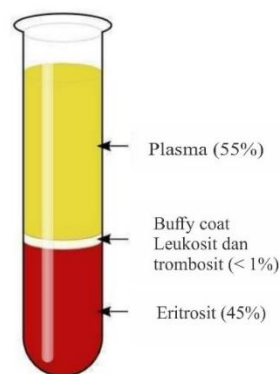
Sel darah di dalam tubuh terdiri dari eritrosit, leukosit dan trombosit. Plasma darah berisi 91% air, 8% protein (albumin, globulin, prothrombin, fibrinogen) dan 0,9% mineral (NaCl, natrium bikarbonat, kalsium, fosfor, Fe dan lain-lain). Komposisi darah dalam tubuh berbeda-beda yaitu 9% jantung, 12% pembuluh darah paru, 8% arteri besar, 5% arteri kecil, 2% arteriola, 5% kapiler, 34% vena besar dan 25% pada vena kecil dan venula (Tahono, 2012).

Fungsi darah dalam tubuh adalah untuk mentransportasikan sari-sari makanan dari usus ke jaringan tubuh, menyalurkan air ke seluruh tubuh dan menjaga stabilitasnya, mengedarkan hormon, enzim dan zat aktif ke seluruh tubuh, sel darah merah (eritrosit) mendistribusikan oksigen dari paru-paru ke seluruh tubuh dan mengangkut karbondioksida dari

seluruh tubuh ke paru-paru, trombosit memiliki fungsi untuk mencegah pembekuan darah dan melindungi dari pendarahan yang diakibatkan oleh luka atau trauma dan sel darah putih (leukosit) memiliki banyak tipe yang berfungsi untuk pelindung diri dan melawan infeksi (D'Hiru, 2013).

## 2. Plasma

Plasma adalah bagian cair dari darah yang diberi antikoagulan sehingga tidak terjadi pembekuan dan darah tetap cair. Darah yang ditambah antikoagulan setelah didiamkan atau disentrifugasi akan menjadi tiga bagian yaitu plasma yang berada pada lapisan atas berbentuk cair berwarna kuning, *buffy coat* berada di lapisan tengah merupakan lapisan sel leukosit dan trombosit serta eritrosit berada di lapisan bawah (Riswanto, 2013).



Gambar 1. Komposisi Darah dengan Antikoagulan

Sumber : Kiswari, 2014.

Plasma darah berfungsi untuk mendistribusikan cairan nutrisi ke seluruh tubuh, transportasi sisa metabolisme ke berbagai organ

pengeluaran untuk dibuang, membantu protein yang diperlukan untuk pembentukan jaringan dan mengatur keseimbangan asam basa darah. Protein plasma dibagi menjadi empat. Antihemofilik berfungsi untuk mencegah terjadinya anemia. Tromboplastin, protrombin dan fibrinogen berfungsi dalam proses pembekuan darah. Albumin berfungsi untuk pemeliharaan tekanan osmosis darah. Gammaglobulin berfungsi dalam senyawa antibodi (D'Hiru, 2013).

### 3. Antikoagulan

Antikoagulan merupakan zat untuk mencegah proses pembekuan darah dengan cara mengendapkan dan mengikat kalsium atau dengan menghambat trombin yang digunakan untuk mengubah fibrinogen menjadi fibrin dalam proses pembekuan. Apabila tes pemeriksaan menggunakan *whole blood* atau plasma, maka spesimen harus ditampung dalam tabung yang berisi antikoagulan. Spesimen yang telah ditambahkan dengan antikoagulan harus segera dicampur untuk menghindari pembentukan bekuan. Pencampuran dilakukan secara lembut untuk mencegah hemolisis (Riswanto, 2013).

Natrium sitrat merupakan antikoagulan yang dianjurkan untuk tes koagulasi oleh *International Committee for Standardization in Haematology* (ICSH) dan *International Society for Thrombosis and Haematology*. Natrium sitrat digunakan dalam bentuk cair dengan konsentrasi 3,2% (0,109 M). Cara kerjanya dengan mengendapkan ion kalsium, sehingga menjadi bentuk tidak aktif (Kiswari, 2014).

Antikoagulan ini biasanya digunakan dalam menguji pembekuan darah, hal ini dikarenakan sitrat baik untuk memelihara faktor pembekuan darah dan mengembalikan kalsium ke dalam spesimen selama proses pemeriksaan serta dapat dengan mudah mengembalikan efek pengikatan (Riswanto, 2013).

Spesimen yang telah ditambahkan dengan antikoagulan natrium sitrat harus segera dicampur untuk mencegah pengaktifan proses koagulasi dan pembentukan bekuan yang menyebabkan hasil tidak valid. Pencampuran harus dilakukan secara lembut agar tidak terjadi pengaktifan pembekuan platelet dan mempersingkat waktu pengujian. Penggunaan antikoagulan natrium sitrat 3,2% (0,109 M) untuk pemeriksaan koagulasi darah adalah 1 bagian antikoagulan natrium sitrat dengan 9 bagian darah. Tabung natrium sitrat dijumpai dalam bentuk tabung hampa udara dengan tutup berwarna biru terang (Riswanto, 2013).



Gambar 2. Tabung Natrium Sitrat

Sumber: Hanggara, 2018.

#### 4. Hemostasis

Hemostasis merupakan mekanisme tubuh untuk menghentikan perdarahan secara cepat atau spontan. Sistem yang berperan dalam hemostasis yaitu:

##### a. Sistem vaskuler

Sistem vaskuler berperan dalam mencegah perdarahan meliputi proses kontraksi pembuluh darah (vasokonstriksi) serta mengaktifkan trombosit dan pembekuan darah (Setiabudy, 2007).

##### b. Sistem trombosit

Trombosit adalah bagian sel-sel yang terbesar berada di sumsum tulang dan memiliki hidup sekitar 10 hari. Jumlah trombosit  $150-400 \times 10^9/\text{liter}$  atau  $150.000-400.000/\mu\text{l}$ . Trombosit berbentuk oval atau bulat, bikonveks, lempeng yang tidak berinti. Trombosit berfungsi untuk mempertahankan integritas endothelium untuk mengatasi perdarahan. Sekitar 30-40% jumlah trombosit disimpan dalam limpa dan sisanya bersirkulasi dalam darah (Gibson, 1995).

Trombosit dalam hemostasis memiliki peran yaitu pembentukan dan stabilisasi sumbat trombosit. Pembentukan sumbat trombosit terdiri dari adesi trombosit, agregasi trombosit dan reaksi pelepasan. Adesi trombosit adalah proses trombosit melekat pada permukaan asing terutama serat kolagen. Apabila pembuluh darah luka, maka sel endotel akan rusak dan jaringan ikat di bawah

endotel akan terbuka. Proses ini mencetuskan adesi trombosit. Setelah proses adesi, trombosit akan melekat pada trombosit lain yang disebut dengan agregasi trombosit. Agregasi trombosit dicetuskan oleh ADP yang dikeluarkan oleh trombosit yang melekat pada serat subendotel. Agregasi yang terbentuk disebut agregasi trombosit primer dan bersifat reversibel. Trombosit pada agregasi primer mengeluarkan ADP sehingga terjadi agregasi sekunder yang bersifat irreversibel. Agregasi trombosit selain membutuhkan ADP juga membutuhkan ion kalsium dan fibrinogen. Agregasi trombosit terbentuk karena adanya ikatan antara fibrinogen yang melekat pada dinding trombosit dengan perantara ion kalsium. Proses agregasi menyebabkan terjadi perubahan bentuk trombosit dari cakram menjadi bulat disertai pseudopodi. Akibat dari perubahan bentuk trombosit maka granula trombosit akan terkumpul di tengah dan melepaskan isinya. Proses ini disebut dengan reaksi pelepasan (Setiabudy, 2007).

c. Sistem pembekuan darah

Proses pembekuan darah merupakan reaksi enzimatik melibatkan protein plasma yang disebut faktor pembekuan darah, fosfolipid dan ion kalsium. Faktor pembekuan darah dinyatakan dalam angka romawi yang sesuai dengan urutan ditemukannya (Setiabudy, 2007).

Tabel 1. Nomenklatur Faktor Pembekuan Darah

Faktor	Nama	Sinonim
I	Fibrinogen	-
II	Prothrombin	-
III	Tissue factor	Tissue thromboplastin
IV	Ion kalsium	-
V	Proaccelerin	Labile factor
VI	-	-
VII	Proconvertin	Stable factor
VIII	Antihemophilic Factor (AHF)	Antihemophilic globulin (AHG)
IX	Plasma Thromboplastin Component (PTC)	Cristmas factor
X	Stuart factor	Prower factor
XI	Plasma Thromboplastin Antecedent (PTA)	Antihemophilic factor C
XII	Hageman factor	Contact factor
XIII	Fibrin Stabilizing Factor (FSF)	Fibrinase Laki lorand factor
-	High Molecular Weight Kininogen (HMWK)	Fitzgerald factor
-	Pre Kallikrein (PK)	Fletcher factor

Sumber : Setiabudy, 2007.

Proses pembekuan darah dimulai melalui dua jalur intrinsik dan jalur ekstrinsik. Jalur intrinsik dicetuskan oleh aktivasi kontak dan melibatkan F.XII, F.XI, F.IX, F.VIII, HMWK, PK, platelet faktor 3 (PF.3) dan ion kalsium. Jalur ekstrinsik yang dicetuskan oleh tromboplastin jaringan dan melibatkan F.VII dan ion kalsium. Jalur intrinsik dan jalur ekstrinsik akan bergabung menjadi jalur bersama yang melibatkan F.X, F.V, PF.3, protrombin dan fibrinogen (Setiabudy, 2007).

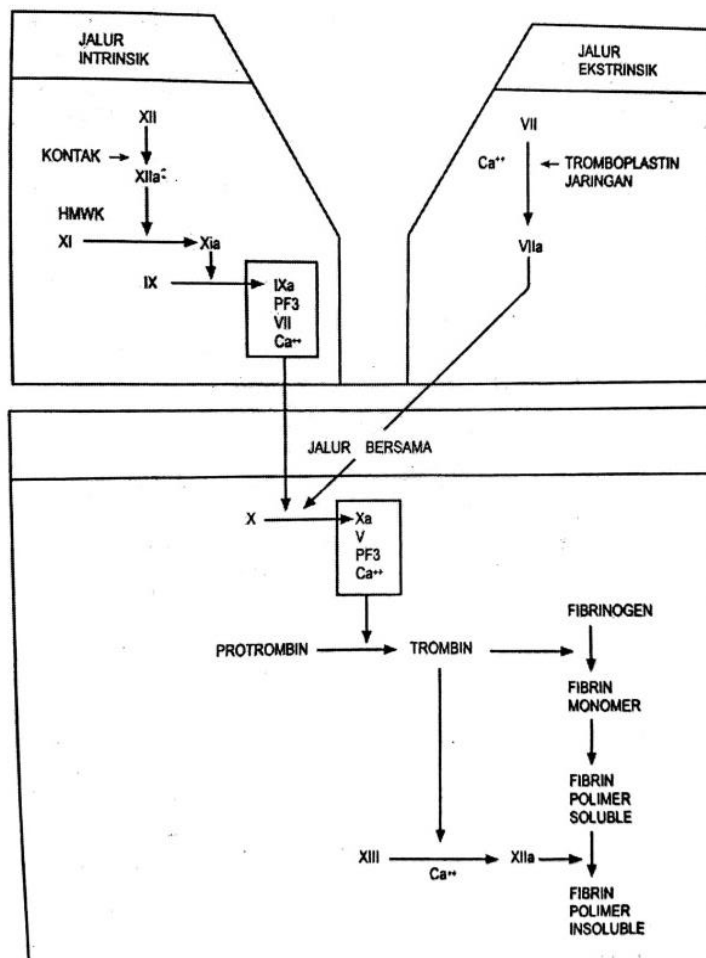
Jalur intrinsik meliputi fase kontak dan pembentukan kompleks aktivator F.X. Adanya kontak antara F.XII dengan permukaan asing seperti serat kolagen menyebabkan aktivasi F.XII menjadi F.XIIa. F.XIIa dengan kofaktor HMWK mengubah prekalikrein menjadi kalikrein. Kalikrein meningkatkan aktivasi F.XII, mengaktifkan F.VII menjadi F.VIIa pada jalur ekstrinsik, mengaktifkan plasminogen menjadi plasmin pada sistem fibrinolitik dan mengubah kininogen menjadi kinin dalam reaksi inflamasi. Reaksi selanjutnya adalah aktivasi F.XI menjadi F.XIa oleh F.XIIa dengan kofaktor HMWK. F.IXa dengan adanya ion kalsium mengubah F.IX menjadi IXa. Reaksi terakhir pada jalur intrinsik adalah interaksi nonenzimatik antara F.IXa, PF.3, F.VIII dan ion kalsium membentuk kompleks yang mengaktifkan F.X. Adanya PF.3, F.VIII dan ion kalsium mempercepat reaksi aktivasi F.X oleh F.IXa (Setiabudy, 2007).



Jalur ekstrinsik terdiri dari reaksi tunggal yang dimulai dari aktivasi F.VIIa oleh F.VII dengan adanya ion kalsium dan tromboplastin jaringan yang dikeluarkan oleh pembuluh darah luka. Aktivasi F.VII menjadi F.VIIa dapat terjadi karena adanya kalikrein, hal ini membuktikan adanya hubungan jalur intrinsik dan ekstrinsik. F.VIIa yang terbentuk akan mengaktifkan F.X menjadi F.Xa (Setiabudy, 2007).

Jalur bersama meliputi pembentukan *prothrombin converting complex* (protominase), aktivasi prothrombin dan pembentukan fibrin. Reaksi pertama yang terjadi pada jalur bersama adalah perubahan F.X menjadi F.Xa oleh adanya kompleks yang terbentuk pada jalur intrinsik dan atau F.VIIa dari jalur ekstrinsik. F.Xa bersama F.V, PF.3 dan ion kalsium membentuk *prothrombin converting complex* yang akan mengubah protrombin menjadi trombin. Trombin adalah enzim proteolitik yang mempunyai fungsi mengubah fibrinogen menjadi fibrin, mengubah F.XIII menjadi F.XIIIa, meningkatkan aktivitas F.V dan F.VIII, merangsang reaksi pelepasan dan agregasi trombosit. Reaksi selanjutnya trombin mengubah fibrinogen menjadi fibrin monomer. Fibrinogen terdiri dari 3 pasang rantai polipeptida yaitu 2 alfa, 2 beta dan 2 gama. Trombin memecah rantai alfa dan beta pada N-terminal menjadi fibrinopeptida A, B dan fibrin monomer. Fibrin monomer mengalami polimerasi membentuk fibrin polimer. Fibrin polimer

yang terbentuk bersifat tidak stabil karena mudah larut oleh zat tertentu seperti urea, sehingga disebut fibrin polimer soluble. F.XIIa dan ion kalsium mengubah fibrin polimer soluble menjadi fibrin polimer insoluble karena adanya ikatan silang antara 2 rantai gamma dari fibrin monomer yang bersebelahan. Aktivasi F.XIII menjadi F.XIIIa terjadi karena adanya trombin (Setiabudy, 2007).



Gambar 3. Proses Pembekuan Darah

Sumber : Setiabudy, 2007.

## 5. *Coagulation Analyzer*

*Coagulation analyzer* atau *blood coagulation analyzer* merupakan alat yang berfungsi untuk mengukur kuantitas faktor-faktor yang berperan dalam proses hemostasis. Alat ini digunakan untuk mendeteksi kelainan pada pembekuan darah yang berhubungan dengan penyakit tromboembolitik, trombositopenia, fungsi hati yang buruk, hemophilia, penyakit von Willebrand dan kondisi lain serta untuk mengamati efek obat dan efek terapi komponen darah (Mengko, 2013).

Prinsip kerja dari alat *coagulation analyzer* dengan metode deteksi mekanik atau kimia adalah menginkubasi plasma darah dalam jumlah tertentu serta periode waktu tertentu, kemudian dicampur dengan reagen sehingga terbentuk proses pembekuan, yang dideteksi dengan terbentuknya fibrin (Mengko, 2013).

## 6. Pemeriksaan Masa Trombin atau *Thrombin Time* (TT)

Masa trombin atau *thrombin time* (TT) mengevaluasi hubungan trombin dengan fibrinogen yaitu uji ini melewati jalur intrinsik maupun ekstrinsik dan menilai tahap akhir jalur bersama. Trombin merupakan enzim proteolitik yang mengubah fibrinogen menjadi fibrin. Waktu trombin adalah waktu yang dibutuhkan untuk mengubah fibrinogen menjadi fibrin. Pemberian trombin ke dalam plasma mengubah fibrinogen menjadi fibrin tanpa dipengaruhi oleh faktor koagulasi intrinsik maupun ekstrinsik. (Riswanto, 2013). Tujuan dari pemeriksaan TT adalah untuk menguji perubahan fibrinogen menjadi

fibrin. Prinsip pemeriksaan TT adalah mengukur lama waktu terbentuk bekuan pada suhu 37°C jika ditambahkan reagen trombin ke dalam plasma (Setiabudy, 2007).

Faktor yang dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan TT adalah sampel darah yang membeku karena pengambilan tidak sekali tusuk kena, lambat bekerja atau pencampuran sampel dengan antikoagulan kurang sempurna, perbandingan darah dengan antikoagulan tidak sesuai dan kesalahan teknis seperti suhu tidak tepat atau pipet tidak tepat (Riswanto, 2013). Volume darah yang dimasukkan ke dalam tabung antikoagulan natrium sitrat 0,109 M minimal 90% dari volume tabung dengan ratio volume darah dan antikoagulan 9:1. Volume darah yang kurang dari ratio dapat menyebabkan pengenceran pada sampel darah sehingga meningkatkan masa pembekuan karena konsentrasi sitrat meningkat (Durachim, 2018).

Nilai rujukan pemeriksaan TT adalah 5-20 detik. Waktu trombin yang lebih dari 25 detik harus dilakukan pengulangan. Pengulangan menggunakan campuran plasma pasien dengan plasma kontrol normal perbandingan 1:1. Penambahan plasma normal ke plasma pasien dan campuran tersebut diukur sebagai masa trombin, apabila hasilnya normal maka kemungkinan terdapat defisiensi fibrinogen. Untuk mengetahui adanya inhibitor koagulasi, maka hasil masa trombin campuran adalah normal atau memendek (Riswanto, 2013).

## 7. Pengolahan Bahan Pemeriksaan

### a. Penyimpanan

Semua spesimen harus segera dibawa ke laboratorium dan dijaga agar tidak terjadi hemolisis sejak pengambilan darah sampai membawanya ke laboratorium baik dengan kurir atau sistem transport modern seperti *pneumatic tube*. Spesimen darah sitrat pada suhu kamar untuk pemeriksaan hemostasis harus diperiksa dalam waktu 30 menit. Apabila ditunda, plasma dapat disimpan pada suhu  $20\pm 5^{\circ}\text{C}$  hingga 4 jam. Penundaan pemeriksaan dapat menyebabkan perubahan hasil pemeriksaan. (Riswanto, 2013).

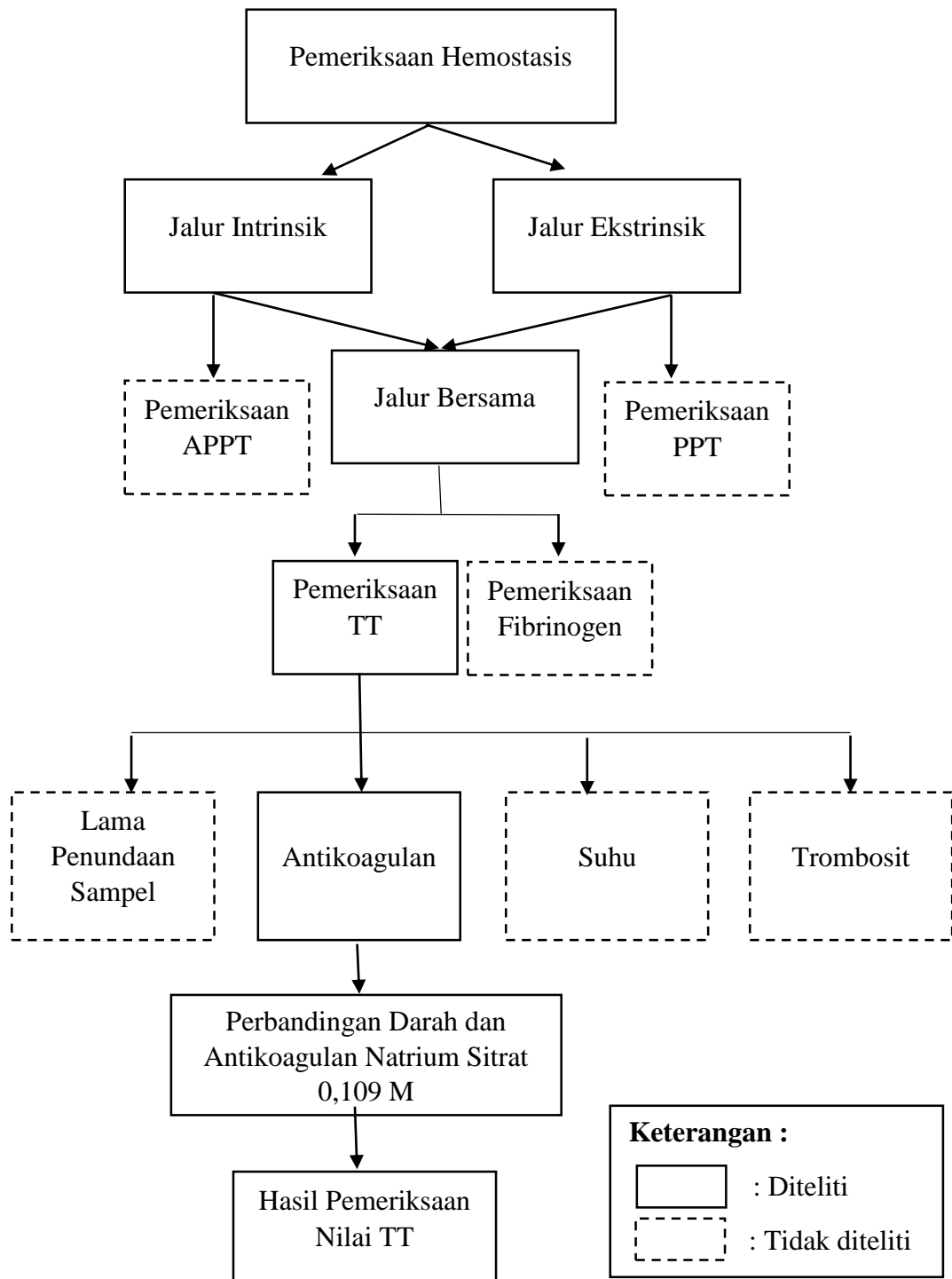
Pemeriksaan koagulasi memiliki beberapa faktor pembekuan yang bersifat labil sehingga perlu segera dikerjakan. Pemeriksaan koagulasi bahan yang digunakan adalah plasma sitrat dalam tempat plastik tertutup dan diberi pendingin (Setiabudy, 2007). Penyimpanan serta stabilitas reagensia dan bahan perlu diperhatikan pada pemeriksaan TT.. Reagensia tidak boleh dibekukan dan stabil selama 3 hari pada suhu  $22^{\circ}\text{C}$ , 5 hari pada suhu  $15^{\circ}\text{C}$  dan 7 hari pada suhu  $2-8^{\circ}\text{C}$  selama disimpan pada wadah gelas dari produsen. Sampel harus dipersiapkan dan dikerjakan pada suhu  $22-24^{\circ}\text{C}$  dan diujikan selama 2 jam atau 4 jam ketika sampel disimpan pada suhu  $4-8^{\circ}\text{C}$  setelah pengambilan sampel. Sampel dapat dibekukan apabila dilakukan penundaan pemeriksaan. Sampel stabil hingga dua minggu apabila disimpan pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$  atau

stabil sampai enam bulan ketika disimpan pada suhu  $-70^{\circ}\text{C}$ . Sampel yang dibekukan dapat dicairkan dengan cepat pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$ . Sampel tersebut harus dihomogenisasi, digunakan secepatnya dan tidak boleh dibekukan kembali atau beku ulang (Durachim, 2018).

b. Penampung

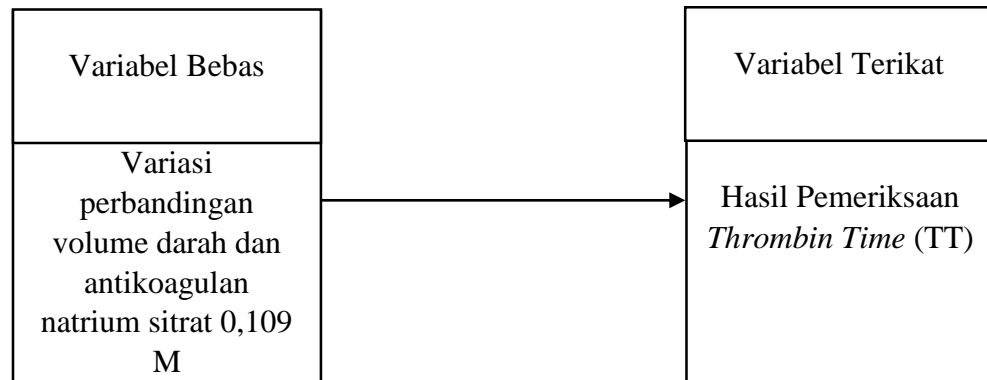
Tabung hampa udara (vakum) dibuat untuk memudahkan darah otomatis bisa masuk mengisi tabung. Ketika jarum di masukkan dalam tabung vakum, maka darah akan mengalir masuk ke dalam tabung dan berhenti apabila volume tertentu tercapai. Tabung penampung darah kadang-kadang berisi zat aditif seperti zat penghambat pembekuan darah (antikoagulan). Tabung penutup penampung darah berwarna-warni sesuai dengan zat aditif yang ada didalamnya (Riswanto, 2013).

## B. Kerangka Konsep



Gambar 4. Kerangka Konsep

### C. Hubungan Antar Variabel



Gambar 5. Hubungan Antar Variabel

### D. Hipotesis

Ada pengaruh penurunan perbandingan volume darah dan antikoagulan natrium sitrat 0,109 M terhadap pemanjangan hasil pemeriksaan *Thrombin Time* (TT).