

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

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

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

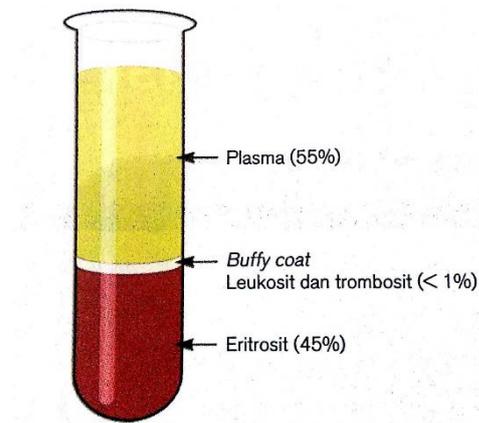
Pemeriksaan hematologi secara umum menggunakan darah utuh (*whole blood*), yaitu darah yang sama bentuk atau kondisinya seperti ketika beredar dalam aliran darah. Spesimen ini dapat berupa darah dari vena maupun kapiler, Setiap manusia rata-rata memiliki sekitar 70 ml darah per kilogram berat badan. Sebanyak 50-60% darah berisi cairan, sedangkan sisanya berupa sel-sel darah. Komponen cairan darah tersebut adalah plasma, yang mengandung 90% air dan 10% zat-zat terlarut seperti ion-ion, glukosa, asam amino, hormone dan berbagai macam protein. Sedangkan serum pada dasarnya sama seperti plasma namun tidak mengandung fibrinogen yang merupakan faktor pembekuan darah. Sementara sel-sel darah terdiri dari eritrosit, leukosit dan trombosit (Kiswari, 2014).

Protein yang terkandung dalam plasma darah terdiri atas, diantaranya:

- a. Antihemofilik yang berguna untuk mencegah anemia
- b. Tromboplastin, protrombin dan fibrinogen yang berguna dalam proses pembekuan darah (faktor pembekuan darah)
- c. Albumin yang berguna dalam pemeliharaan tekanan osmosis darah
- d. Gammaglobulin yang berguna dalam senyawa antibodi (D'Hiru, 2013).

Darah yang ditambahkan antikoagulan tidak akan mengalami pembekuan. Darah dengan antikoagulan setelah didiamkan beberapa menit lalu disentrifugasi akan terpisah menjadi 3 bagian, di antara lain :

- a. Plasma, berada di lapisan atas dan berupa cairan berwarna kuning.
- b. *Buffy coat*, berada di lapisan tengah, tipis dan merupakan lapisan sel leukosit dan trombosit.
- c. Eritrosit, berada di lapisan bawah (Riswanto, 2013).



Gambar 1. Komponen Darah dengan Antikoagulan

Sumber: Kiswari, 2014.

## 2. Hemostasis

Hemostasis merupakan mekanisme tubuh untuk menghentikan perdarahan secara spontan. Tujuan pemeriksaan hemostasis adalah untuk membantu menetapkan diagnosis terutama untuk menguji fungsi hemostasis dan pemantauan penyakit ataupun pengobatan. Pemeriksaan ini dilakukan terhadap penderita dengan kelainan fungsi hemostasis dan penderita dengan penyakit umum yang memiliki komplikasi perdarahan (Riswanto, 2013). Selain itu biasanya pemeriksaan hemostasis dilakukan sebelum operasi.

Beberapa klinisi membutuhkan pemeriksaan hemostasis untuk semua penderita praoperasi dengan hal terpenting adalah anamnesis riwayat gangguan hemostasis (Setiabudy, 2007).

Pemeriksaan laboratorium hemostasis terdiri dari dua macam, yaitu pemeriksaan rutin atau penyaring (*screening*) dan pemeriksaan khusus. Pemeriksaan penyaring terdiri dari hitung trombosit, waktu perdarahan (*Bleeding Time/ BT*), masa protrombin plasma (*Prothrombin Time/PT*), masa tromboplastin parsial teraktivasi (*Activated Partial Thromboplastin Time/ APTT*) dan masa thrombin (*Thrombin Time/ TT*). Pemeriksaan khusus bertujuan untuk memperkuat hasil pemeriksaan penyaring. Pemeriksaan tersebut umumnya lebih rumit dan memakan waktu (Riswanto, 2013).

Terdapat beberapa sistem yang berperan dalam hemostasis yaitu sistem vaskuler, trombosit dan pembekuan darah atau koagulasi. Masing-masing sistem tersebut memiliki reaksi di antara lain reaksi vaskuler berupa vasokonstriksi pembuluh darah, reaksi seluler berupa pembentukan sumbat trombosit dan reaksi biokimia berupa pembentukan fibrin (Setiabudy, 2007).

#### a. Sistem Vaskuler

Peran sistem vaskuler dalam mencegah perdarahan meliputi proses kontraksi pembuluh darah atau vasokonstriksi serta aktivasi trombosit dan pembekuan darah. Apabila pembuluh darah mengalami luka, maka akan terjadi vasokonstriksi yang mula-mula secara reflektoris dan kemudian

akan dipertahankan oleh faktor lokal seperti 5-hidroksitriptamin dan epinefrin. Hal ini menyebabkan pengurangan aliran darah pada daerah yang luka. Pada pembuluh darah kecil proses vasokonstriksi dapat menghentikan perdarahan, sedangkan pada pembuluh darah besar masih diperlukan sistem lain seperti trombosit dan pembekuan darah (Setiabudy, 2007).

b. Sistem Trombosit

Trombosit memiliki peran penting dalam hemostasis yaitu pembentukan dan stabilisasi sumbat trombosit. Pembentukan sumbat trombosit terjadi melalui beberapa tahap meliputi adhesi trombosit, agregasi trombosit dan reaksi pelepasan. Apabila terjadi luka sehingga menyebabkan sel endotel akan rusak dan jaringan di bawahnya terbuka, tahap pertama yang terjadi adalah adhesi trombosit, yaitu proses di mana trombosit melekat pada permukaan asing terutama serat kolagen. Di samping melekat pada permukaan asing, trombosit juga akan melekat pada trombosit lain yang disebut dengan tahap agregasi trombosit. Agregasi trombosit terjadi karena adanya pembentukan ikatan antara fibrinogen yang melekat pada dinding trombosit dengan perantara ion kalsium. Tahap ini mula-mula dicetuskan oleh Adenosin Difosfat (ADP) yang dikeluarkan oleh trombosit yang melekat pada serat sub endotel. Agregasi tersebut disebut dengan agregasi primer dan bersifat reversible. Selanjutnya trombosit pada agregasi primer akan mengeluarkan Adenosin Difosfat (ADP) hingga terjadi agregasi

trombosit sekunder yang bersifat irreversible. Selama proses agregasi, terjadi perubahan bentuk trombosit dari cakram menjadi bulat disertai dengan pembentukan pseudopodia. Akibat perubahan bentuk tersebut maka granula trombosit akan berkumpul di tengah dan akan melepaskan isinya. Proses ini disebut dengan reaksi pelepasan. Tergantung zat yang merangsang, akan dilepaskan bermacam-macam substansi biologik yang terdapat di dalam granula padat dan granula alfa. Masa agregasi trombosit akan melekat pada endotel hingga terbentuk sumbat trombosit yang dapat menutup luka pada pembuluh darah. Walaupun masih permeabel terhadap cairan, sumbat trombosit mungkin dapat menghentikan perdarahan pada pembuluh darah kecil. Tahap terakhir untuk menghentikan perdarahan adalah pembentukan sumbat trombosit yang stabil melalui pembentukan fibrin (Setiabudy, 2007).

c. Sistem Koagulasi

Koagulasi atau pembekuan darah merupakan suatu proses reaksi kimia yang melibatkan protein plasma yang disebut sebagai faktor pembekuan darah, fosfolipid dan ion kalsium. Sebagian faktor beredar dalam sirkulasi darah dan berperan serta dalam proses koagulasi yang diberi tanda dengan angka romawi. Penunjukkan angka romawi bukan merupakan urutan reaksi dalam proses koagulasi (Kiswari, 2014).

Teori yang banyak dianut untuk menerangkan proses pembekuan adalah teori *cascade* atau *waterfall* yang dikemukakan oleh Farlane, Davie dan Ratnoff. Teori ini menjelaskan bahwa faktor pembekuan

darah diubah menjadi bentuk aktif oleh faktor sebelumnya dalam rangkaian reaksi enzimatik. Faktor pembekuan beredar dalam darah sebagai prekursor yang akan diaktifkan menjadi enzim. Enzim tersebut kemudian akan mengubah prekursor selanjutnya menjadi enzim. Jadi, mula-mula faktor pembekuan darah bertindak sebagai substrat dan kemudian sebagai enzim (Setiabudy, 2007) Bentuk aktif dari faktor enzimatik ditandai dengan angka romawi yang diikuti oleh akhiran-a, misalnya faktor XII (tidak aktif), sedangkan XIIa berarti dalam keadaan aktif (Kiswari, 2014).

#### 1) Faktor-faktor Koagulasi

Menurut Kiswari (2014) masing-masing faktor koagulasi memiliki beberapa karakteristik yang unik, meliputi :

##### a) Faktor I (Fibrinogen)

Fibrinogen merupakan protein globulin berukuran besar yang stabil dengan berat molekul 341.000. Fibrinogen adalah prekursor fibrin yang menghasilkan bekuan. Ketika fibrinogen bereaksi dengan trombin, dua peptida memisahkan diri dari molekul fibrinogen kemudian menghasilkan fibrin monomer. Monomer-monomer agregat bersama membentuk produk terpolimerisasi bekuan fibrin akhir.

##### b) Faktor II (Protrombin)

Protrombin adalah protein yang stabil dengan berat molekul 63,000. Dengan dipengaruhi oleh kalsium terionisasi maka

protrombin diubah menjadi trombin oleh aksi enzimatis tromboplastin dari kedua jalur ekstrinsik dan intrinsik. Kalsium terionisasi merupakan istilah untuk menggantikan faktor IV yang merupakan bentuk fisiologis aktif dari kalsium. Kalsium terionisasi ini diperlukan untuk aktivasi trombolastin untuk aktif dari kalsium. Sedangkan bentuk aktif dari protrombin adalah trombin dengan berat molekul 40.000. Enzim proteolitik ini berinteraksi dengan fibrinogen dan juga merangsang agregasi trombosit kuat. Sejumlah besar trombin digunakan selama proses konversi fibrinogen menjadi fibrin.

c) Faktor V (*Proaccelerin*)

Faktor V merupakan protein globulin yang sangat labil karena berubah dengan cepat dan memiliki waktu paruh 16 jam. Faktor ini digunakan dalam proses pembekuan dan sangat penting untuk tahap selanjutnya yaitu pembentukan tromboplastin.

d) Tromboplastin Jaringan (sebelumnya disebut faktor III)

Tromboplastin jaringan adalah istilah yang diberikan untuk setiap substansi nonplasma yang mengandung kompleks lipoprotein jaringan. Jaringan ini dapat berasal dari jaringan yang mampu mengonversi protrombin menjadi trombin seperti: otak, paru-paru, endotel pembuluh darah, hati, plasenta, atau ginjal,

e) Faktor VII (*Proconvertin*)

Faktor VII, beta-globulin, bukan merupakan komponen penting dari mekanisme yang menghasilkan trombolastin dalam jalur intrinsik. Fungsi dari faktor ini adalah aktivasi tromboplastin jaringan dan percepatan pembentukan trombin dari protrombin. Faktor VII dihambat oleh antagonis vitamin K.

f) Faktor VIII (*Antihemophilic Factor/ AHF*)

Faktor VIII adalah reaktan pada fase akut, digunakan selama proses pembekuan dan tidak ditemukan dalam serum. Faktor ini sangat labil, dan berkurang sebanyak 50% dalam waktu 12 jam pada suhu 4<sup>0</sup>C *in vitro*. Faktor VIII dapat dibagi ke dalam berbagai komponen fungsional.

g) Faktor IX (*Plasma Thromboplastin Component /PTC*)

Faktor IX adalah faktor protein yang stabil namun tidak dipakai selama pembekuan. Faktor ini merupakan komponen pembangkit tromboplastin jalur intrinsik, di mana dapat mempengaruhi laju pembentukan tromboplastin.

h) Faktor X (*Stuart Factor*)

Faktor X merupakan alpha-globulin, termasuk ke dalam faktor yang relatif stabil. Bersama dengan faktor V, faktor X bereaksi dengan ion kalsium membentuk jalur akhir yang umum, di mana produk-produk dari kedua jalur ekstrinsik dan intrinsik yang menghasilkan tromboplastin bergabung untuk membentuk

tromboplastin akhir yang mengubah protrombin menjadi trombin  
Aktivitas faktor X tampaknya terkait dengan faktor VII.

i) Faktor XI (*Plasma Thromboplastin Antecedent/ PTA*)

Faktor XI, beta-globulin, dapat ditemukan dalam serum karena hanya sebagian yang digunakan selama proses pembekuan. Faktor ini sangat penting untuk mekanisme yang menghasilkan tromboplastin dalam jalur intrinsik

j) Faktor XII (*Hageman Factor*)

Faktor XII merupakan faktor yang stabil. Adsorpsi faktor VII dan kininogen (dengan prekallikrein terikat dan faktor XI) dan permukaan pembuluh darah yang cedera akan memulai koagulasi dalam jalur intrinsik. Akibat mekanisme umpan balik, kallikrein (diaktifkan faktor Fletcher) memotong sebagian aktivitas molekul XIIa untuk menghasilkan bentuk yang lebih kinetik efektif XIIa.

k) Faktor XIII (*Fibrin Stabilizing Factor/ FSF*)

Faktor ini bersama kalsium terionisasi menghasilkan bekuan fibrin yang stabil.

2) Mekanisme Koagulasi

Proses koagulasi atau pembekuan darah dimulai melalui dua jalur yaitu jalur intrinsik dan jalur ekstrinsik. Jalur intrinsik dicetuskan oleh aktivasi kontak dan melibatkan faktor XII, XI, IX, VIII, *High Molecular Weight Kininogen* (HMWK), Prekallikrein

(PK), Platelet Faktor 3 (PF.3) dan ion kalsium. Sedangkan jalur ekstrinsik dicetuskan oleh tromboplastin jaringan dan melibatkan faktor VII serta ion kalsium. Kedua jalur ini kemudian akan bergabung menjadi jalur bersama yang melibatkan faktor X, V, Platelet Faktor 3 (PF.3), protrombin dan fibrinogen (Setiabudy, 2007).

Inisiasi proses koagulasi koagulasi dapat terjadi melalui salah satu dari dua jalur, yaitu jalur ekstrinsik atau jalur intrinsik. Terlepas jalur mana yang memulai, kedua jalur tersebut akan menyatu menjadi jalur bersama yang merupakan jalur akhir. Hasil dari keseluruhan proses ini adalah perubahan faktor koagulasi terlarut yang beredar membentuk bekuan fibrin menyerupai agar-agar dengan sel darah yang terperangkap, sehingga membentuk bekuan darah. Setelah perbaikan jaringan yang rusak terjadi, maka sebagian gumpalan akan dimusnahkan oleh sistem fagositik mononuklear (Kiswari, 2014).

#### a) Jalur Intrinsik

Jalur intrinsik meliputi fase kontak dan pembentukan kompleks aktivator faktor X. Jalur ini diawali dari adanya kontak antara faktor XII dengan permukaan asing seperti serat kolagen kemudian menyebabkan aktivasi faktor XII menjadi XIIa. Dengan adanya kofaktor *High Molecular Weight Kininogen* (HMWK), faktor XIIa akan mengubah prekalikrein menjadi

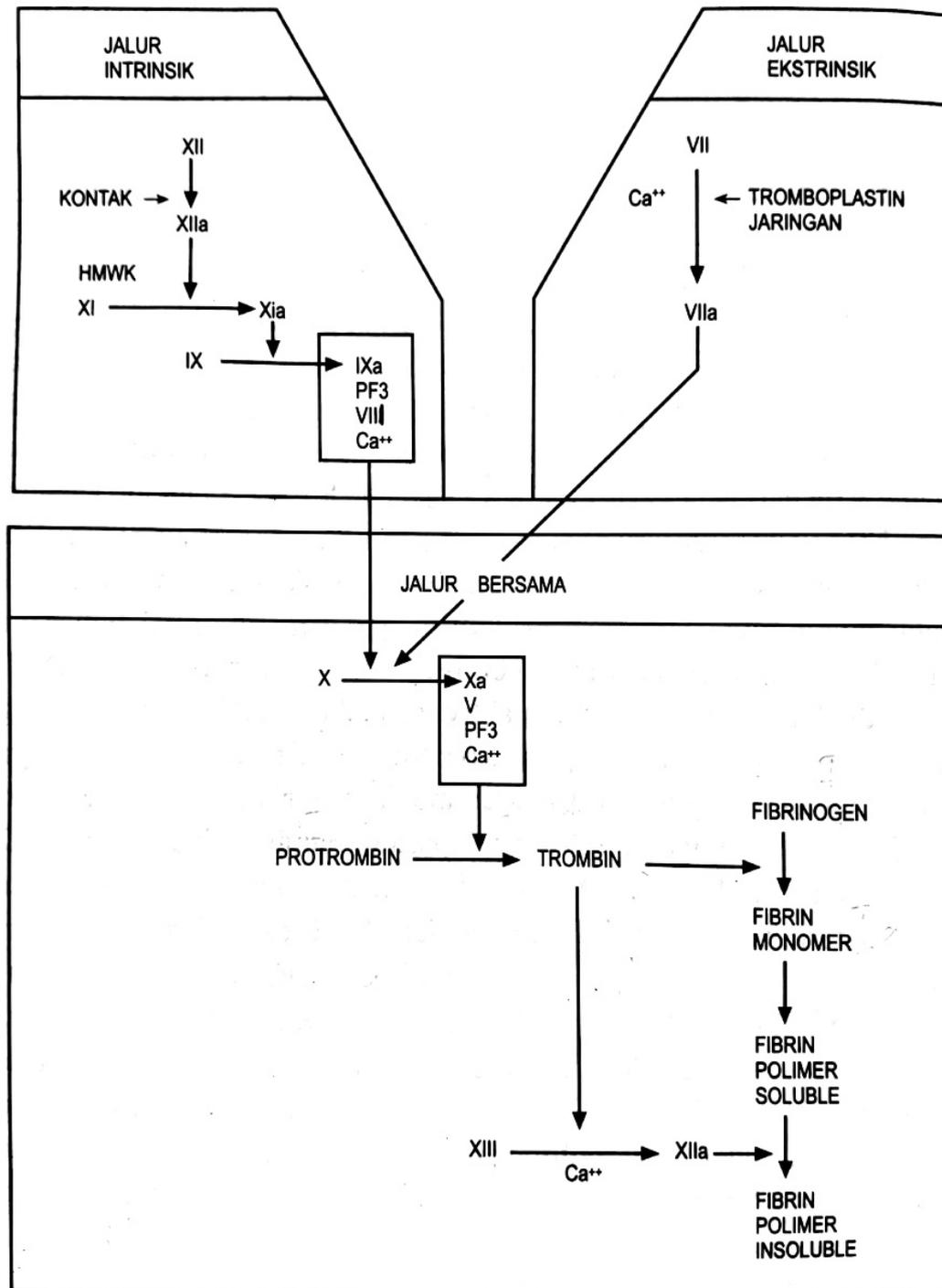
kallikrein yang akan meningkatkan aktivasi faktor XII selanjutnya. Reaksi selanjutnya adalah faktor XIIa mengaktivasi faktor XI menjadi XIa dengan *High Molecular Weight Kininogen* (HMWK) sebagai kofaktor. Faktor XIa dengan adanya ion kalsium akan mengubah faktor IX menjadi faktor IXa. Reaksi terakhir dalam jalur intrinsik adalah interaksi non enzimatis antara faktor IXa, Platelet Faktor 3 (PF.3) faktor VIII dan ion kalsium membentuk kompleks yang mengaktifkan faktor X. Pada dasarnya faktor IXa dapat mengaktifkan faktor X, namun dengan adanya Platelet Faktor 3 (PF.3), faktor VIII dan ion kalsium maka reaksi ini akan dipercepat (Setiabudy, 2007).

b) Jalur Ekstrinsik

Jalur ekstrinsik merupakan jalur dengan reaksi tunggal dimana faktor VII akan diaktifkan menjadi faktor VIIa dengan adanya ion kalsium dan tromboplastin jaringan yang dikeluarkan oleh pembuluh darah yang luka. Akhir-akhir ini terbukti bahwa aktivasi faktor VII menjadi faktor VIIa dapat terjadi dengan adanya kallikrein. Hal ini membuktikan adanya hubungan antara jalur intrinsik dan ekstrinsik. Pada akhirnya faktor VIIa yang terbentuk akan mengaktifkan faktor X menjadi faktor Xa (Setiabudy, 2007).

c) Jalur Bersama

Jalur bersama meliputi pembentukan protrombinase (*prothrombin converting complex*), aktivasi protrombin dan pembentukan fibrin. Reaksi pertama pada jalur ini adalah perubahan faktor X menjadi faktor Xa oleh adanya kompleks yang sebelumnya telah terbentuk pada jalur intrinsik dan atau faktor VIIa dari jalur ekstrinsik. Faktor Xa bersama dengan faktor V, Platelet Faktor 3 (PF.3) dan ion kalsium membentuk protrombinase yang akan mengubah protrombin menjadi trombin. Trombin merupakan enzim proteolitik yang memiliki beberapa fungsi dalam jalur bersama pada sistem koagulasi antara lain mengubah fibrinogen menjadi fibrin, mengubah faktor XIII menjadi faktor XIIIa dengan bantuan ion kalsium, serta meningkatkan aktivitas faktor V. Trombin mengubah fibrinogen menjadi fibrin monomer. Fibrin monomer akan segera mengalami polimerisasi untuk membentuk fibrin polimer *soluble*. Disebut fibrin polimer *soluble* karena sifatnya tidak stabil dan mudah larut oleh adanya zat tertentu seperti urea. Dengan adanya faktor XIIIa dan ion kalsium, maka fibrin polimer *soluble* diubah menjadi fibrin polimer *insoluble* (Setiabudy, 2007).



Gambar 2. Mekanisme Koagulasi

Sumber: Setiabudy, 2007.

### 3. Pemeriksaan *Activated Partial Thromboplastin Time* (APTT)

#### a. Definisi *Activated Partial Thromboplastin Time* (APTT)

*Activated Partial Thromboplastin Time* (APTT) merupakan pemeriksaan untuk menguji jalur intrinsik dan jalur bersama yaitu faktor pembekuan XII, prekallikren, kininogen, XI, IX VIII, X, V, protombin dan fibrinogen (Setiabudy, 2007).

#### b. Prinsip Pemeriksaan

Ion kalsium dalam darah diikat dengan antikoagulan untuk mencegah pembekuan. Plasma sitrat yang mengandung semua faktor koagulasi intrinsik kecuali kalsium dan trombosit diinkubasikan dengan tromboplastin parsial dengan bahan pengaktif. Setelah ditambah kalsium maka akan terjadi bekuan fibrin. Waktu yang diperlukan untuk terjadinya bekuan dicatat sebagai masa tromboplastin parsial teraktivasi (Riswanto, 2013).

#### c. Metode Pemeriksaan

Pemeriksaan *Activated Partial Thromboplastin Time* (APTT) dapat dikerjakan dengan cara manual dan elektronik atau otomatis dengan alat koagulometer. Reagen yang digunakan dalam pemeriksaan ini adalah kalsium tromboplastin, yaitu tromboplastin jaringan yang dilarutkan dalam  $\text{CaCl}_2$  (Riswanto, 2013).

#### d. Nilai Rujukan

Pada umumnya nilai rujukan pemeriksaan *Activated Partial Thromboplastin Time* (APTT) masing-masing laboratorium berbeda

bergantung pada aktivator dan fosfolipid reagen yang digunakan. Nilai dianggap normal apabila ada di antara 20-35 detik (Riswanto, 2013).

#### 4. Faktor-Faktor Praanalitik yang Mempengaruhi Pemeriksaan Hemostasis

Kualitas pemeriksaan hemostasis sangat ditentukan oleh langkah praanalitik yang mencakup semua prosedur, dimulai dari perumusan pertanyaan medis termasuk persiapan pasien, pengumpulan sampel, penanganan, transportasi, pemrosesan serta penyimpanan hingga waktu analisis. Tahapan ini merupakan komponen utama dari keandalan dan validitas hasil yang terdiri dari beberapa aktivitas secara manual serta merupakan sumber terbesar dari kesalahan hasil sehingga menjadi bagian paling rentan dari proses pengujian total. Kesalahan praanalitik dapat terjadi selama proses pemeriksaan dan timbul dari prosedur yang tidak sesuai, tidak tepat atau ditangani secara salah (Magnette, dkk., 2016). Berikut beberapa hal yang perlu diperhatikan pada tahap praanalitik pemeriksaan hemostasis.

##### a. Pengumpulan Spesimen

###### 1) Penggunaan *Tourniquet*

Menurut *Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI) GP41-A6* dalam penelitian Magnette, dkk., (2016), aplikasi *tourniquet* yang diperpanjang dapat menyebabkan stasis vena yang tidak perlu atau hemolisis in vitro, yang dapat menyebabkan hasil palsu dan bermakna bias secara klinis dalam pengukuran beberapa parameter hematologi, tidak terkecuali pada pemeriksaan hemostasis. Oleh karena itu, *tourniquet* harus dipasang dengan rapat

tetapi kurang dari satu menit untuk mencegah hemokonsentrasi, peningkatan fibrinogen dan faktor VII, VIII, XII serta aktivasi sel endotel dan menyebabkan fibrinolisis.

## 2) Penampung

Penampung yang dianjurkan untuk sampel pemeriksaan hemostasis dianjurkan menggunakan wadah berbahan plastik atau gelas yang telah dilapisi silikon (Setiabudi, 2007). Sama halnya menurut Mackie, dkk., (2013) dalam Magnette, dkk., (2016) bahwa sampel darah untuk pemeriksaan koagulasi harus dikumpulkan dalam tabung kaca silikon atau tabung plastik (*polypropylene*).

## 3) Cara Pengambilan Darah

Pada waktu pengambilan darah, harus dihindarkan masuknya tromboplastin jaringan sehingga dianjurkan pengambilan darah dengan memakai 2 tabung. Setelah darah dihisap dengan tabung pertama, tanpa mencabut jarum, tabung pertama dilepas kemudian dipasang tabung kedua. Dianjurkan memakai jarum yang berukuran cukup besar, minimal nomor 20 (Setiabudy, 2007).

*World Health Organization* (WHO) dan *Clinical & Laboratory Standards Institute* (CLSI) merekomendasikan urutan pengambilan darah selama proses mengeluarkan darah harus berawal dari tabung kultur darah atau tabung steril dilanjutkan dengan tabung koagulasi kemudian tabung polos atau tabung gel lalu tabung yang mengandung aditif. Menurut *Clinical &*

*Laboratory Standards Institute* (CLSI) untuk pemeriksaan koagulasi rutin, tabung non aditif atau tabung pertama tidak perlu dibuang. Penggunaan tabung buang tidak diperlukan karena tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada hasil *Activated Partial Thromboplastin Time* (APTT) dan *Prothrombin Time* (PT) (Magnette, dkk., 2016). Disisi lain menurut Kitchen, dkk. (2013) dalam Magnette, dkk., (2016) aplikasi membuang tabung pertama masih direkomendasikan guna mencegah kontaminasi yang dapat terjadi melalui kontak dari dalam tabung dengan spuit dan dari antikoagulan tabung pertama ke tabung kedua.

b. Antikoagulan

Tabung spesimen umumnya mengandung antikoagulan. Antikoagulan untuk pemeriksaan koagulasi yang digunakan adalah natrium sitrat 0,109 M dengan perbandingan 9 bagian darah dan 1 bagian natrium sitrat (Setiabudy, 2007). Natrium sitrat digunakan untuk pemeriksaan sistem pembekuan darah karena paling baik dalam memelihara faktor-faktor pembekuan darah dan mengembalikan kalsium ke dalam specimen selama proses pemeriksaan serta dapat dengan mudah mengembalikan efek pengikatan atau *binding* (Riswanto, 2013).

Pedoman *Clinical & Laboratory Standards Institute* (CLSI) pada pengambilan spesimen darah untuk pemeriksaan koagulasi merekomendasikan penggunaan antikoagulan natrium sitrat di 105–109

mmol/L atau dengan konsentrasi 3,2%. Sementara pH plasma antikoagulan harus berada di antara 7,3 dan 7,45 (Magnette, dkk., 2016).

c. Sentrifugasi

Dalam *French Study Group on Hemostasis and Thrombosis*, disebutkan bahwa setiap kali terjadi penundaan, disarankan untuk melakukan sentrifugasi dan pemisahan lokal. Plasma umumnya dibuat dengan sentrifugasi sampel darah utuh. Sentrifus yang dikontrol suhu diperlukan untuk memproses pengujian koagulasi rutin. Sentrifugasi harus dilakukan pada suhu kamar (15 - 25 ° C). Dianjurkan untuk melakukan sentrifugasi pada tabung untuk pengujian koagulasi pada 1500g selama tidak kurang dari 15 menit dengan rem sentrifus mati (Magnette, dkk., 2016).

d. Penyimpanan dan Transportasi

Pemeriksaan koagulasi sebaiknya dikerjakan segera karena beberapa faktor pembekuan bersifat labil. Apabila pemeriksaan tidak dapat diselesaikan dalam waktu 4 jam setelah pengambilan darah, plasma sebaiknya disimpan dalam tempat plastik tertutup dan dalam keadaan beku. Untuk pemeriksaan koagulasi, bahan yang dikirim adalah plasma sitrat dalam tempat plastik bertutup dan diberi pendingin (Setiabudy, 2007).

Spesimen darah sitrat pada suhu kamar untuk pemeriksaan hemostasis harus diperiksa dalam waktu 30 menit. Jika karena suatu

sebab pemeriksaan harus ditunda, maka plasma dapat disimpan pada suhu  $20\pm 5^{\circ}\text{C}$  hingga 4 jam. Penundaan pemeriksaan dapat menyebabkan perubahan hasil yaitu pemanjangan nilai salah satunya pada pemeriksaan *Activated Partial Thromboplastin Time* (APTT) (Riswanto, 2013).

Idealnya, sampling untuk pemeriksaan koagulasi harus dilakukan di laboratorium yang melakukan pemeriksaan tersebut. Jika tidak, maka spesimen harus dikirim dari fasilitas pengumpulan perifer (perujuk) ke laboratorium inti dengan menggunakan pedoman *Clinical & Laboratory Standards Institute* (CLSI) saat ini yaitu pada suhu lingkungan ( $15-25^{\circ}\text{C}$ ), tidak didinginkan dan dalam waktu sesingkat mungkin, lebih baik dalam satu jam pertama setelah pengumpulan. Suhu selama pengangkutan memiliki relevansi khusus. Suhu ekstrim di atas  $25^{\circ}\text{C}$  harus dihindari untuk menjaga integritas sampel. Penundaan pemeriksaan dan suhu yang lebih tinggi dari suhu kamar dapat menyebabkan degradasi koagulasi secara *in vitro* terutama pada faktor labil yaitu faktor V dan faktor VIII (Magnette, dkk., 2016). Plasma simpan dapat membuat faktor V dan faktor VIII secara bertahap menurun (Sacher dan McPherson, 2012).

## 5. Alat Ukur Pemeriksaan

### 1) Pengertian *Coagulation Analyzer*

Menurut WHO dalam Mengko (2013), *Coagulation analyzer* atau *blood coagulation analyzer* adalah peralatan yang dapat mengukur

kuantitas faktor-faktor yang berperan pada proses hemostasis. Fungsi utama alat ini adalah untuk mendeteksi kelainan pada pembekuan darah yang berhubungan dengan penyakit tromboembolitik, trombositopenia, fungsi hati yang buruk, hemofilia, penyakit Willebrand dan kondisi lainnya. Selain itu, alat ini juga digunakan untuk mengamati efek obat seperti heparin, antikoagulan oral, zat-zat trombolitik, agen anti trombosit pada seluruh komponen darah dan mengamati efek terapi komponen darah.

## 2) Prinsip Kerja *Coagulation Analyzer*

Menurut *Clinical Laboratory Science (CLS) 416* dalam Mengko (2013), prinsip kerja *Coagulation Analyzer* menggunakan metode mekanik atau kimia dengan menginkubasi plasma darah dalam jumlah tertentu dan dalam periode tertentu kemudian dicampur dengan reagen sehingga terjadi proses pembekuan yang dideteksi melalui terbentuknya fibrin.

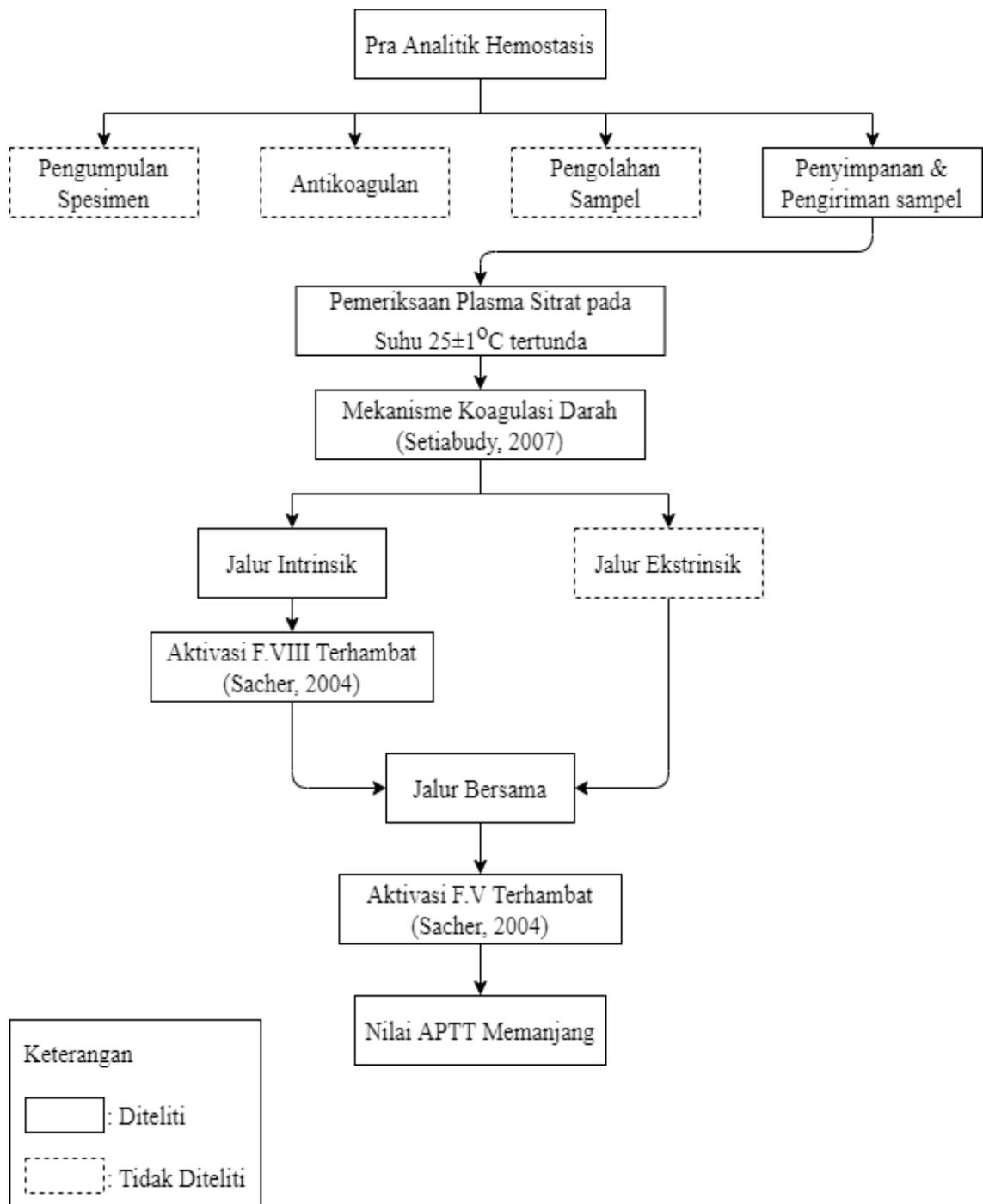
## 3) Metode Pemeriksaan *Coagulation Analyzer*

Pada umumnya, kebanyakan tes berbasis gumpalan atau pembekuan seperti halnya pemeriksaan *Activated Partial Thromboplastin Time (APTT)* menggunakan metode mekanis atau optik untuk mendeteksi pembekuan. Metode mekanik terdiri dari elektromekanis yang didasarkan pada perubahan besaran arus oleh serat fibrin dan elektromagnetik mekanik yang didasarkan pada peningkatan viskositas plasma saat fibrin terbentuk. Sedangkan metode optik terdiri

dari foto optis dan fotometrik. Foto optis merupakan pemeriksaan yang dilakukan berdasarkan fenomena cahaya yang terhambur oleh formasi serat fibrin. Saat terjadi pembekuan, campuran menjadi lebih padat dan secara optik akan terjadi pengurangan jumlah cahaya yang masuk ke detektor sensitif cahaya (*photo-sensitive*). Fotometrik adalah pengukuran yang dilakukan berdasarkan absorbansi (densitas optik) dari cahaya monokromatik yang melewati kuvet saat reaksi.

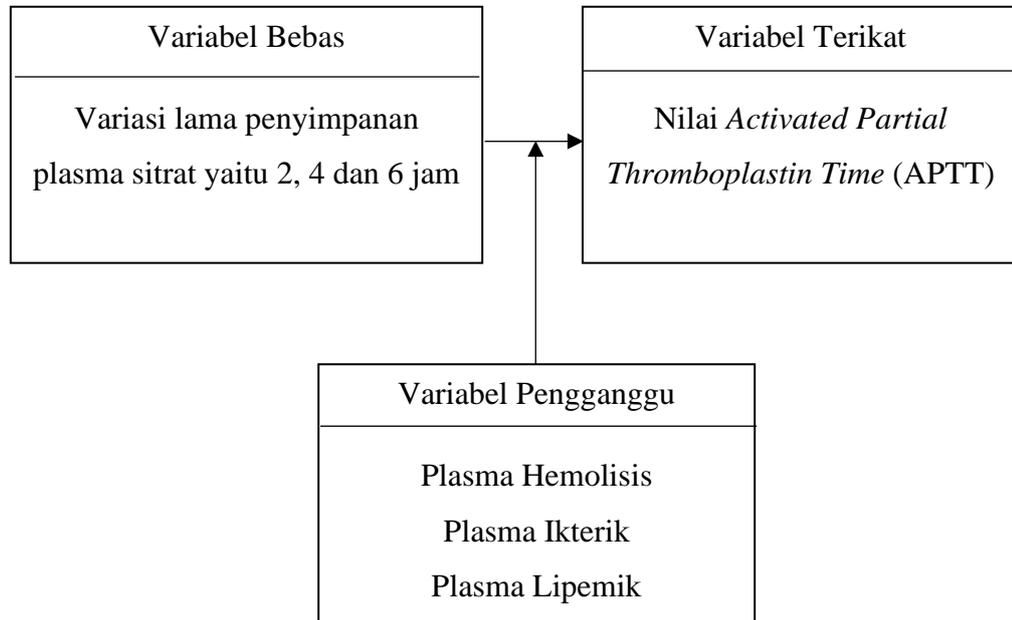
Cahaya yang ditransmisikan diukur dan dikonversikan menjadi absorbansi yang sebanding dengan konsentrasi zat yang diukur. Deteksi optik dengan mendeteksi cahaya yang terhambur antara campuran plasma dan reagen dipaparkan dengan cahaya yang memiliki panjang gelombang 660 nm. Kekeruhan darah selama proses koagulasi dideteksi sebagai perubahan intensitas cahaya yang terhambur. Cahaya yang diemisikan oleh sumber cahaya mencapai campuran sampel dan reagen. Cahaya terhambur yang dihasilkan akan diterima oleh *photodiode*, yang kemudian mengkonversi cahaya menjadi sinyal elektrik. Sinyal ini disimpan dan dihitung menggunakan komputer mikro untuk mendapatkan waktu koagulasi (Mengko, 2013).

## B. Kerangka Teori



Gambar 3. Kerangka Teori

### C. Hubungan antar Variabel



Gambar 4. Hubungan antar Variabel

### D. Hipotesis Penelitian

Ada pengaruh lama penyimpanan plasma sitrat pada suhu  $25\pm 1^{\circ}\text{C}$  terhadap nilai *Activated Partial Thromboplastin Time* (APTT).