

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Darah

Darah adalah cairan di dalam pembuluh darah yang mempunyai fungsi mentransportasikan oksigen, karbohidrat dan metabolit; mengatur keseimbangan asam dan basa; mengatur suhu tubuh dengan cara konduksi(hantaman), membawa panas tubuh dari pusat tubuh dan pengaturan hormon dengan membawa dan menghantarkan dari kelenjar ke sasaran(Syaifuddin, 2000).

Darah merupakan komponen esensial makhluk hidup, mulai dari binatang primitif sampai manusia(Bakta, 2006). Darah sirkulasi terdiri dari sel darah merah, sel darah putih dan trombosit yang tersuspensi dalam plasma(Bain, 2014). Jumlah darah sekitar 5% berat badan, sehingga volume rata-ratanya adalah 3 – 4 liter(Watson, 2002). Setiap manusia rata-rata mempunyai sekitar 70 ml darah setiap kilogram berat badan 50 kg. Sebanyak 50 – 60% darah terdiri atas cairan. Komponen cairan darah disebut plasma, yang mengandung 90% air dan 10% sisanya adalah bahan-bahan terlarut seperti ion-ion, glukosa, asam amino, hormon dan berbagai macam protein. Plasma darah mengandung fibrinogen yaitu faktor koagulasi atau pembekuan darah. Sel-sel darah terdiri dari eritrosit, leukosit dan trombosit (Kiswari, 2014).

a. Eritrosit(Sel Darah Merah)

Fungsi utama eritrosit adalah untuk pertukaran gas. Eritrosit membawa oksigen(O_2) dari paru menuju ke jaringan tubuh dan membawa karbondioksida(CO_2) dari jaringan tubuh ke paru. Eritrosit berbentuk bikonkaf, berdiameter 7 – 8 μ . Bentuk bikonkaf tersebut menyebabkan eritrosit bersifat fleksibel sehingga dapat melewati lumen pembuluh darah yang sangat kecil dengan lebih baik. Eritrosit berjumlah paling banyak dibandingkan sel-sel darah lainnya. Satu mililiter darah mengandung kira-kira 4,5 – 6 juta eritrosit, itu sebabnya darah berwarna merah(Kiswari, 2014).

b. Leukosit(Sel Darah Putih)

Leukosit pada umumnya dibagi menjadi granulosit, yang mempunyai granula khas dan agranulosit yang tidak mempunyai granula khas. Granulosit terdiri dari neutrofil, eosinofil dan basofil. Agranulosit terdiri dari limfosit dan monosit. Meskipun leukosit merupakan sel darah, tetapi fungsinya lebih banyak dilakukan di dalam jaringan. Selama berada di dalam darah, leukosit hanya bersifat sementara mengikuti aliran darah ke seluruh tubuh. Apabila terjadi peradangan pada jaringan tubuh, leukosit akan bermigrasi menuju jaringan yang mengalami radang dengan cara menembus dinding pembuluh darah kapiler(Kiswari, 2014).

c. Trombosit(Keping Darah)

Trombosit merupakan partikel-partikel kecil yang dibentuk dari pecahan sitoplasma megakariosit di sumsum tulang(Bain, 2014). Trombosit adalah sel darah yang berperan penting dalam hemostasis. Trombosit melekat pada lapisan endotel pembuluh darah yang terluka dengan membentuk plug trombosit. Trombosit tidak mempunyai inti sel, berukuran 1 – 4 μ dan sitoplasmanya berwarna biru dengan granula ungu-kemerahan. Trombosit merupakan derivat dari megakariosit, berasal dari fragmen-fragmen sitoplasma megakariosit. Jumlah trombosit 150.000 - 350.000/ml darah. Granula trombosit mengandung faktor pembekuan darah, adenosin difosfat(ADP) dan adenosin trifosfat(ATP), kalsium, serotonin, serta katekolamin. Sebagian besar di antaranya berperan dalam merangsang proses pembekuan darah(Kiswari, 2014).

2. Plasma Darah

Plasma darah adalah cairan berwarna kuning yang dalam reaksi bersifat sedikit alkali. Plasma bekerja sebagai medium atau perantara untuk penyaluran makanan, mineral, lemak, glukose dan asam amino ke jaringan. Plasma darah juga merupakan medium untuk mengangkut bahan buangan seperti urea, asam urat dan karbondioksida(Pearce, 1999).

Plasma darah mengandung tiga jenis protein yaitu albumin, globulin dan fibrinogen. Fungsi Albumin yaitu bertanggung jawab atas tekanan osmotik yang mempertahankan volume darah, banyak zat khusus yang beredar dalam gabungan dengan albumin dan menyediakan protein untuk jaringan. Globulin memiliki peranan yang lebih penting, misalnya semua antibodi yang melindungi tubuh adalah globulin. Sedangkan fibrinogen memiliki peranan penting pada koagulasi atau penggumpalan darah(Pearce, 1999).

Antikoagulan adalah bahan yang dipakai untuk mencegah terjadinya trombosis dengan cara menghambat proses pembekuan darah. Antikoagulan yang dipakai pada pemeriksaan koagulasi adalah natrium sitrat 0,109 M dengan perbandingan 9 bagian darah dan 1 bagian antikoagulan(Setiabudy, 2007). Natrium sitrat(*sodium citrate*) digunakan dalam bentuk larutan pada konsentrasi 3,2%. Natrium sitrat adalah jenis antikoagulan yang direkomendasikan oleh *International Committee for Standarization in Hematology(ICSH)* dan *International Society for Thrombosis and Hematology* sebagai antikoagulan terpilih untuk tes koagulasi. Cara kerjanya dengan mengendapkan ion kalsium, sehingga menjadi bentuk yang tidak aktif(Kiswari, 2014).

3. Praanalitik Pemeriksaan Hematologi

Praanalitik mengacu pada semua langkah yang harus dilakukan sebelum sampel dapat dianalisis. Selama bertahun-tahun, serangkaian penelitian menunjukkan bahwa 32 – 75% dari semua kesalahan

pengujian terjadi pada fase praanalitik, sementara itu seiring dengan kemajuan teknologi dan prosedur dalam jaminan kualitas, secara signifikan telah mengurangi jumlah kesalahan analitik. Faktor-faktor praanalitik mencakup yang terkait dengan variabel pasien(diet, umur, jenis kelamin dan lain-lain), koleksi spesimen dan teknik pelabelan, pengawet spesimen dan antikoagulan, transportasi spesimen, serta pengolahan dan penyimpanan(Kiswari, 2014).

a. Variabel Pasien

Perawatan dalam proses mempersiapkan pasien untuk koleksi darah harus dilakukan untuk meminimalkan faktor fisiologis yang berhubungan dengan kegiatan yang mungkin mempengaruhi hasil uji laboratorium. Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan di antaranya umur, ketinggian, dehidrasi, diet, variasi diurnal, terapi obat, olahraga, demam, jenis kelamin, ikterus, posisi, kehamilan, merokok, stres, suhu dan kelembapan(Kiswari, 2014).

b. Variabel Koleksi Spesimen dan Teknik Pelabelan

Kesulitan mencari vena pada proses flebotomi dapat menyebabkan spesimen mengalami hemolisis. Hemolisis ditandai dengan lapisan plasma berwarna merah muda. Aplikasi tourniquet terlalu lama dapat menyebabkan hemokonsentrasi yang meningkatkan konsentrasi analit dan komponen selular. Penggunaan tabung koleksi darah yang mengandung antikoagulan atau berbagai

zat aditif, maka penting untuk memperhatikan volume yang sesuai dan cara mencampurnya. Kegagalan mencampur dalam tabung yang berisi antikoagulan akan mengakibatkan kegagalan untuk mencegah pembekuan darah. Bekuan darah dapat mengakibatkan terganggunya analisis otomatis. Serum ikhterik dan lipemik memberikan tantangan tambahan dalam analisis laboratorium(Kiswari, 2014).

Permintaan uji laboratorium dapat berupa elektronik(misalnya komputer) atau tertulis (misalnya lembar permintaan). Komputer *online* adalah salah satu cara untuk bebas dari kesalahan permintaan tes laboratorium. Komputerisasi sistem informasi laboratorium telah digunakan secara umum di laboratorium saat ini untuk menghasilkan permintaan resmi dan label spesimen. Semua spesimen harus diberi label yang jelas. Label yang disertai *barcode* diterapkan untuk menghindari kesalahan transkripsi praanalitik(Kiswari, 2014).

c. Pengawet Spesimen dan Antikoagulan

Terdapat beberapa cara yang dapat dilakukan agar sampel(darah) tidak membeku yaitu dengan cara: menggunakan antikoagulan, defebrinasi(mengaduk-aduk sampel darah menggunakan butiran kaca) dan menggunakan peralatan yang dilapisi silikon. Aktivitas zat antikoagulan pada dasarnya adalah dengan mengikat atau mengendapka ion kalsium(Ca). Jenis-jenis

antikoagulan di antaranya kalium etilen diamin tetraasetat(K_3EDTA), natrium sitrat, oksalat, heparin, asam sitrat dekstrosa serta natrium poliaetol sulfonat. Natrium sitrat adalah jenis antikoagulan yang direkomendasikan oleh *International Committee for Standardization in Haematology*(ICSH) dan *International Society for Thrombosis ad Haematology* sebagai antikoagulan yang terpilih untuk tes koagulasi. Cara kerjanya yaitu dengan mengendapkan ion kalsium sehingga menjadi bentuk yang tidak aktif(Kiswari, 2014).

d. Transportasi Spesimen

Transportasi darah, urine, cairan tubuh dan spesimen jaringan dari situs koleksi ke laboratorium merupakan komponen yang penting dari pengolahan. Spesimen harus dilindungi dari kontak langsung dengan cahaya yang menyebabkan kerusakan analit tertentu. Stabilitas konstituen harus diketahui sebelum spesimen diangkut. Laboratorium biasanya menyediakan informasi ini bersama dengan instruksi untuk persiapan spesimen dan pengiriman. Spesimen membutuhkan pendinginan yang harus dipertahankan pada suhu $2 - 10^{\circ} C$ dan disimpan dalam wadah yang terisolasi(Kiswari, 2014). Bahan yang dikirim untuk pemeriksaan koagulasi adalah plasma sitrat dalam tempat plastik tertutup dan diberi pendingin(Setiabudy, 2007).

e. Pengolahan dan Penyimpanan

Pedoman yang tepat harus ditetapkan dan dipatuhi oleh personil laboratorium dalam setiap tahapan penanganan spesimen untuk memastikan hasil pemeriksaan dapat diandalkan dan bermakna secara medis. Idealnya, pengujian spesimen dilakukan dalam waktu 45 menit sampai 1 jam setelah pengumpulan (Kiswari, 2014).

4. Mekanisme Hemostasis

Hemostasis adalah mekanisme tubuh untuk menghentikan perdarahan secara spontan. Ada beberapa sistem yang berperan dalam hemostasis yaitu sistem vaskuler, trombosit dan pembekuan darah (Setiabudy, 2007).

a. Sistem Vaskuler

Cidera pada pembuluh darah arteri yang besar atau sedang atau vena akan memerlukan tindakan bedah yang cepat untuk mencegah perdarahan. Ketika pembuluh yang lebih kecil seperti arteriol, venula atau kapiler terluka, maka akan terjadi kontraksi untuk kendali mengurangi perdarahan. Kontraksi dari dinding pembuluh darah disebut vasokonstriksi (Kiswari, 2014).

Apabila pembuluh darah mengalami luka, maka akan terjadi vasokonstriksi yang mula-mula secara reflektoris dan kemudian akan dipertahankan oleh faktor lokal seperti 5-hidroksitriptamin (5-HT, Serotonin) dan epinefrin. Vasokonstriksi ini akan menyebabkan pengurangan aliran darah pada daerah yang luka.

Hal ini mungkin dapat menghentikan perdarahan pada pembuluh darah kecil, sedangkan pada pembuluh darah besar masih diperlukan sistem-sistem lain seperti trombosit dan pembekuan darah(Setiabudy, 2007).

Pembuluh darah dilapisi oleh sel endotel. Apabila lapisan endotel rusak maka jaringan ikat di bawah endotel seperti serat kolagen, serat elastin dan membrana basalis terbuka sehingga terjadi aktivasi trombosit yang menyebabkan adhesi trombosit dan pembentukan sumbat trombosit. Aktivasi faktor pembekuan darah terjadi baik dari jalur intrinsik maupun jalur ekstrinsik yang menyebabkan pembentukan fibrin(Setiabudy, 2007). Endotel juga kaya dengan aktivator plasminogen yang jika dirangsang akan dengan tepat dilepaskan untuk mengaktifkan plasminogen, yang selanjutnya melisiskan bekuan fibrin dengan cepat(Kiswari, 2014).

b. Sistem Trombosit

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, 2007).

Terjadi serangkaian peristiwa termasuk adhesi trombosit ke pembuluh darah yang terluka, perubahan bentuk, agregasi dan sekresi setelah kerusakan pada endotelium pembuluh darah.

Perubahan struktural dan fungsional disertai dengan serangkaian reaksi biokimia yang terjadi selama proses aktivasi trombosit. Adhesi dan agregasi trombosit di lokasi pembuluh darah yang rusak memungkinkan terjadinya pelepasan molekul yang terlibat dalam hemostasis dan penyembuhan luka dan memungkinkan permukaan membran untuk membentuk enzim koagulasi yang mengarah ke pembentukan fibrin (Kiswari, 2014).

Adhesi trombosit merupakan suatu proses di mana trombosit melekat pada permukaan asing terutama serat kolagen. Adhesi trombosit sangat tergantung pada protein plasma yang disebut faktor von Willebrand's (vWF) yang disintesis oleh sel endotel dan megakariosit (Setiabudy, 2007).

Trombosit juga melekat pada permukaan asing, selain melekat pada trombosit lain dan proses ini disebut sebagai agregasi trombosit. Agregasi trombosit mula-mula 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 akan mengeluarkan ADP sehingga terjadi agregasi trombosit sekunder yang bersifat irreversibel. Ion kalsium dan fibrinogen diperlukan untuk agregasi trombosit disamping ADP. Agregasi trombosit terjadi karena adanya pembentukan ikatan di antara fibrinogen yang melekat pada dinding trombosit dengan perantara

ion kalsium. Mula-mula ADP akan terikat pada reseptornya di permukaan trombosit dan interaksi ini menyebabkan reseptor untuk fibrinogen terbuka sehingga memungkinkan ikatan antara fibrinogen dengan reseptor tersebut. Ion kalsium kemudian akan menghubungkan fibrinogen tersebut sehingga terjadi agregasi trombosit (Setiabudy, 2007).

Terjadi perubahan bentuk trombosit selama proses agregasi, dari bentuk cakram menjadi bulat disertai dengan pembentukan pseudopodi. Perubahan ini mengakibatkan granula trombosit terkumpul di tengah dan akhirnya akan melepaskan isinya. Proses ini disebut sebagai reaksi pelepasan dan memerlukan adanya energi. Zat agregator lain seperti trombin, kolagen, epinefrin dan TxA₂ dapat menyebabkan reaksi pelepasan. Tergantung zat yang merangsang, akan dilepaskan bermacam-macam substansi biologik yang terdapat di dalam granula padat, alfa dan lisosom. Granula padat melepaskan ADP, ATP, ion kalsium, serotonin, epinefrin dan non-epinefrin. Granula alfa melepaskan fibrinogen, vWF, F.V, platelet factor 4 (PF. 4), beta tromboglobulin (βTG). Lisosom melepaskan bermacam-macam enzim hidrolase asam (Setiabudy, 2007).

Masa agregasi trombosit akan melekat pada endotel, sehingga terbentuk sumbat trombosit yang dapat menutup luka pada pembuluh darah. Tahap terakhir untuk menghentikan

perdarahan adalah pembentukan sumbat trombosit yang stabil melalui pembentukan fibrin(Setiabudy, 2007).

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 darah dinyatakan dengan angka Romawi yang sesuai dengan urutan ditemukannya(Setiabudy, 2007). Bentuk aktif dari faktor enzimatik tersebut ditandai dengan angka Romawi yang diikuti oleh akhiran-a, misalnya faktor XII(tidak aktif), XIIa berarti dalam keadaan aktif(Kiswari, 2014).

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

1) Faktor I (Fibrinogen)

Fibrinogen adalah protein globulin berukuran besar yang stabil(besar molekul 341.000). Fibrinogen adalah prekursor fibrin yang menghasilkan bekuan.

2) Faktor II (Protrombin)

Protrombin adalah protein yang stabil(berat molekul 63.000). Protrombin diubah menjadi trombin oleh aksi enzimatik tromboplastin dari kedua jalur ekstrinsik dan intrinsik dengan dipengaruhi kalsium terionisasi. Protrombin

memiliki waktu paruh hampir 3 hari dan digunakan kira-kira 70% selama pembekuan. Kalsium terionisasi adalah istilah untuk menggantikan faktor IV. Kalsium terionisasi adalah bentuk fisiologis aktif dari kalsium. Trombin(berat molekul 40.000) adalah bentuk aktif dari protrombin, yang biasanya ditemukan sebagai prekursor dalam sirkulasi. Enzim proteolitik ini yang berinteraksi dengan fibrinogen, juga merangsang agregasi trombosit. Sejumlah besar trombin digunakan selama proses konversi fibrinogen menjadi fibrin.

3) Faktor V(*Proaccelerin*)

Faktor V adalah protein globulin yang sangat labil, berubah dengan cepat, memiliki waktu paruh 16 jam. Faktor V digunakan dalam proses pembekuan dan sangat penting untuk tahap pembentukan tromboplastin.

4) Tromboplastin Jaringan(sebelumnya disebut Faktor III)

Tromboplastin jaringan adalah istilah yang diberikan untuk setiap substansi nonplasma yang mengandung kompleks lipoprotein jaringan. Tromboplastin jaringan dapat berasal dari jenis jaringan yang mampu mengkonversi protrombin menjadi trombin.

5) Faktor VII (*Proconvertin*)

Fungsi faktor VII adalah aktivasi tromboplastin jaringan dan percepatan pembentukan trombin dari protrombin. Faktor ini dihambat oleh antagonis vitamin K.

6) Faktor VIII (Faktor Antihemofilik)

Faktor ini adalah reaktan pada fase akut, digunakan selama proses pembekuan dan tidak ditemukan dalam serum. Faktor VIII sangat labil dan berkurang sebanyak 50% dalam 12 jam pada suhu 4⁰ C *in vitro*.

7) Faktor IX (*Plasma Thromboplastin Component*)

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

8) Faktor X (*Stuart Factor*)

Merupakan alfa-globulin, 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.

9) Faktor XI (Tromboplastin Plasma)

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.

10) Faktor XII(Faktor Hageman)

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

11) Faktor XIII(*Fibrin-Stabilizing Factor*)

Faktor ini bersama kalsium terionisasi menghasilkan bekuan fibrin yang stabil.

Teori yang banyak dianut untuk menerangkan proses pembekuan darah adalah *cascade* atau *waterfall* yang dikemukakan oleh Mac Farlane, Davie dan Ratnoff. Menurut teori ini tiap faktor pembekuan darah diubah menjadi bentuk aktif oleh faktor sebelumnya dalam rangkaian reaksi enzimatik. Faktor pembekuan beredar dalam darah sebagai prekursor yang akan diubah menjadi enzim bila diaktifkan. Enzim ini akan mengubah

prekursor selanjutnya menjadi enzim. Mula-mula faktor pembekuan darah bertindak sebagai substrat dan kemudian menjadi enzim(Setiabudy, 2007).

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

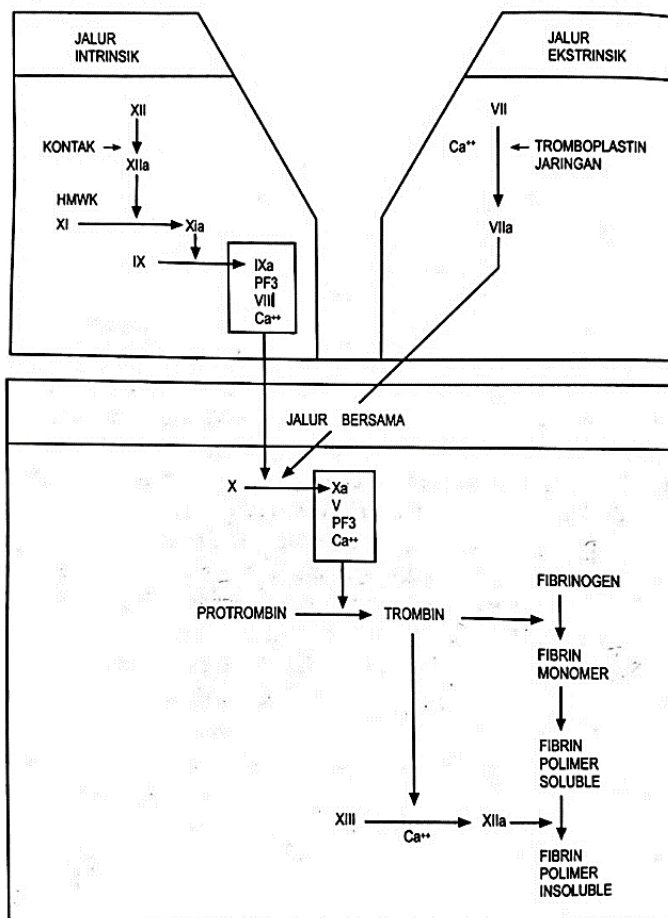
Jalur intrinsik meliputi fase kontak dan pembentukan kompleks aktivator F.X. Kontak antara F.XII dengan permukaan asing seperti serat kolagen akan menyebabkan aktivasi F.XII menjadi F.XIIa. dengan adanya kofaktor HMWK, F.XIIa akan mengubah prekalikrein menjadi kalikrein yang akan meningkatkan aktivasi F.XII selanjutnya dengan adanya kofaktor HMWK. Kalikrein akan mengaktifkan F.VII menjadi VIIa pada jalur ekstrinsik, mengaktifkan plasminogen menjadi plasmin pada sistem fibrinolitik, serta mengubah kininogen menjadi kinin yang berperan dalam reaksi inflamasi. Reaksi selanjutnya pada jalur intrinsik adalah aktivasi F.XI menjadi F.XIa oleh F.XIIa dengan HMWK sebagai kofaktor. F.XIa dengan ion kalsium akan

mengubah F.IX menjadi F.IXa. Reaksi terakhir pada jalur intrinsik adalah interaksi non enzimatis antara F.IXa, PF.3, F.VIII dan ion kalsium membentuk kompleks yang mengaktifkan F.X. PF.3, F.VIII dan ion kalsium akan mempercepat reaksi ini meskipun F.IXa dapat mengaktifkan F.X (Setiabudy, 2007).

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. Selanjutnya F.VIIa yang terbentuk akan mengaktifkan F.X menjadi F.Xa (Setiabudy, 2007).

Jalur bersama meliputi pembentukan *prothrombin converting complex* (protrombinase) aktivasi protrombin dan pembentukan fibrin. Reaksi pertama 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 merupakan enzim 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. Reaksi selanjutnya yaitu trombin akan mengubah fibrinogen menjadi fibrin monomer. Fibrinogen terdiri dari 3 pasang rantai

polipeptida yaitu 2 alfa, 2 beta dan 2 gama. Trombin akan memecah rantai alfa dan beta pada N-terminal menjadi fibriopeptida A, B dan fibrin monomer. Fibrin monomer akan segera mengalami polimerisasi untuk membentuk fibrin polimer. Fibrin polimer mula-mula bersifat tidak stabil karena mudah larut oleh adanya zat tertentu seperti urea, sehingga disebut fibrin polimer seluble. Fibrin polimer seluble akan diubah menjadi fibrin polimer insoluble karena terbentuk ikatan silang antara 2 rantai gama dari fibrin monomer yang bersebelahan dengan adanya F.XIIIa dan ion kalsium. Aktivasi F.XIII menjadi F.XIIIa terjadi dengan adanya trombin. Skema pembekuan darah terdapat pada Gambar 1 (Setiabudy, 2007).



Gambar 1. Skema Pembekuan Darah
Sumber: Setiabudy, 2007.

5. Pemeriksaan *Activated Partial Thromboplastin Time*(APTT)

a. Pengertian *Activated Partial Thromboplastin Time* (APTT)

Pemeriksaan *Activated Partial Thromboplastin Time*(APTT) digunakan untuk menguji pembekuan darah melalui jalur intrinsik dan jalur bersama yaitu faktor pembekuan XII, prekalinogen, Kininogen, XI, IX, VIII, X, V, protrombin dan fibrinogen(Setiabudy, 2007).

Suatu aktivator kontak ditambahkan, bersama dengan ion kalsium dan suatu tromboplastin parsial. Tromboplastin parsial tersebut tidak mengaktivasi jalur ekstrinsik, tetapi menggantikan fosfolipid trombosit pada tahap ketika komponen tersebut dibutuhkan pada jalur intrinsik dan jalur bersama(Bain, 2014).

Terdapat beberapa hal yang perlu diperhatikan pada pemeriksaan hemostasis menurut Setiabudy(2007):

1) Antikoagulan

Pemeriksaan koagulasi menggunakan antikoagulan natrium sitrat 0,109 M dengan perbandingan 9 bagian darah dan 1 bagian natrium sitrat.

2) Penampung

Penampung dari plastik atau gelas yang dilapisi silikon dianjurkan digunakan pada pemeriksaan hemostasis untuk mencegah terjadinya aktivasi faktor pembekuan.

3) Semprit dan jarum

Semprit plastik dan jarum yang cukup besar dianjurkan untuk digunakan pada saat pengambilan darah pada pemeriksaan hemostasis.

4) Cara pengambilan darah

Masuknya tromboplastin jaringan harus dihindarkan pada waktu pengambilan darah. Pada saat pengambilan darah, dianjurkan menggunakan 2 semprit. Darah semprit pertama

tidak dipakai untuk pemeriksaan koagulasi, sebab dikhawatirkan sudah tercemar tromboplastin jaringan.

5) Kontrol

Setiap kali mengerjakan pemeriksaan koagulasi, sebaiknya diperiksa juga 1 kontrol normal dan 1 kontrol abnormal. Plasma yang dipakai sebagai kontrol tidak boleh ikterik, lipemik maupun hemolisis.

6) Penyimpanan dan pengiriman bahan

Pemeriksaan sebaiknya dikerjakan segera, karena ada beberapa faktor yang bersifat labil. Plasma disimpan dalam tempat plastik tertutup dan dalam keadaan beku apabila pemeriksaan tidak dapat dikerjakan dalam 4 jam. Bahan yang dikirim untuk pemeriksaan koagulasi adalah plasma sitrat dalam tempat plastik bertutup dan diberi pendingin.

b. Prinsip pemeriksaan *Activated Partial Thromboplastin Time* (APTT)

Prinsip pemeriksaan ini adalah mengukur lamanya terbentuk bekuan bila ditambahkan reagen tromboplastin parsial dan aktivator serta ion kalsium pada suhu 37° C ke dalam plasma. Reagen tromboplastin parsial adalah fosfolipid sebagai pengganti *platelet factor 3* (Setiabudy, 2007).

c. Nilai Normal Pemeriksaan *Activated Partial Thromboplastin Time*(APTT)

Nilai normal pemeriksaan APTT biasanya berkisar antara 30 – 40 detik, tetapi dapat bervariasi sesuai jenis reagen yang dipakai(Bain, 2014). Nilai Normal APTT yang digunakan pada penelitian ini yaitu 27 – 42 detik. Hasil pemeriksaan APTT akan memanjang bila terdapat kekurangan faktor pembekuan di jalur intrinsik dan jalur bersama atau bila terdapat inhibitor. Hal ini dapat dibedakan dengan cara melakukan pemeriksaan ulang terhadap campuran plasma penderita dan kontrol dengan perbandingan 1:1. Hasil yang memanjang, meunjukkan bahwa terdapat inhibitor(Setiabudy, 2007).

6. Alat Koagulometer (*Coagulation Analyzer*)

a. *Coagulation Analyzer*

Coagulation analyzer atau *blood coagulation analyzer* adalah peralatan yang dapat mengukur kuantitas faktor-faktor yang berperan pada proses hemostasis. Alat ini dapat digunakan untuk mendeteksi kelainan pada pembekuan darah yang berhubungan dengan penyakit tromboembolitik, trombositopenia, fungsi hati yang buruk, hemofilia, penyakit von Willebrand dan kondisi lain. *Coagulation analyzer* dapat digunakan untuk memantau efek obat, seperti heparin, antikoagulan oral, zat-zat trombolitik dan agen anti trombosit

pada seluruh komponen darah, serta memantau efek terapi komponen darah(Mengko, 2013).

b. Prinsip Kerja *Coagulation Analyzer*

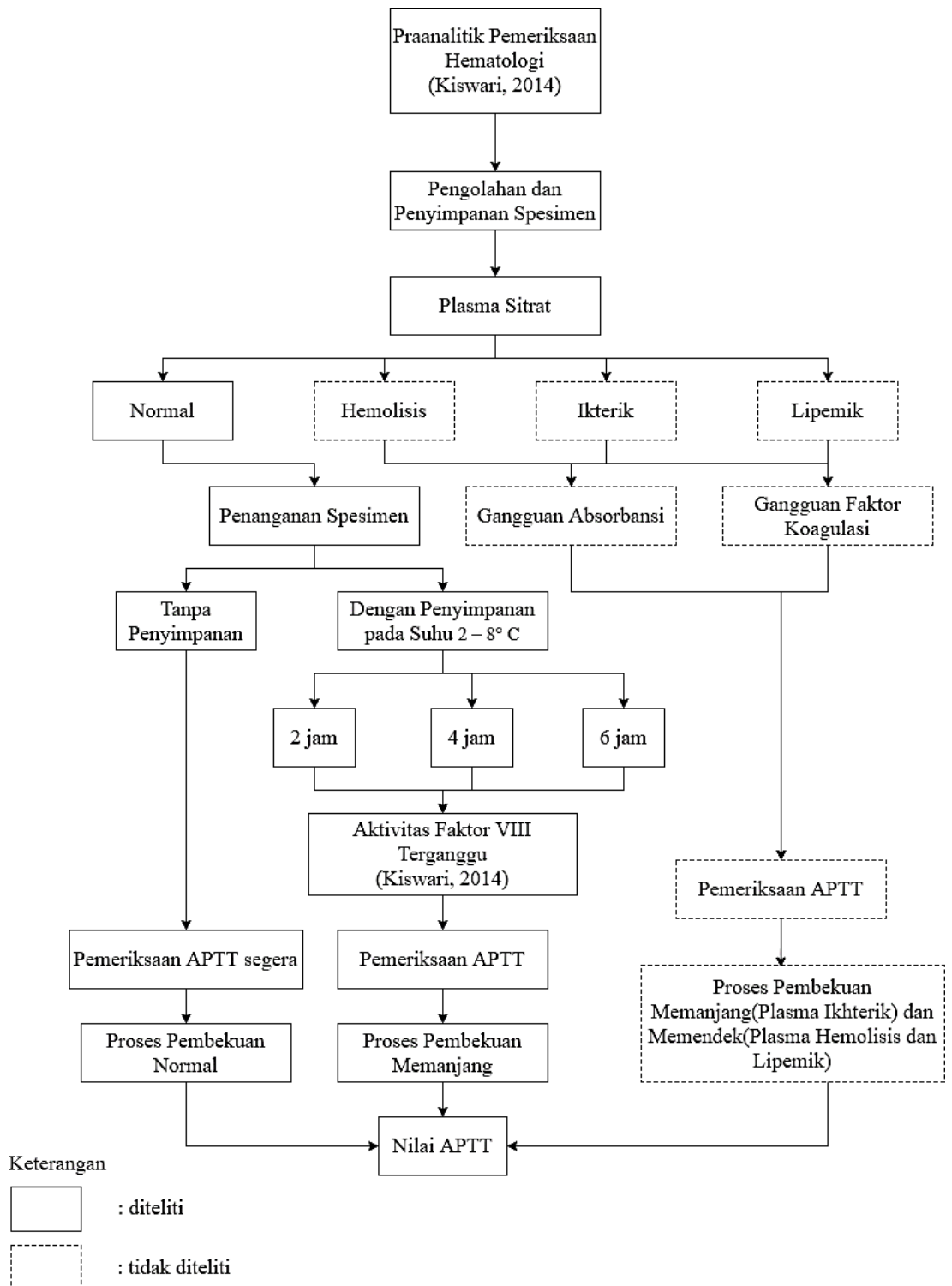
Prinsip kerja pengukuran dengan metode deteksi mekanik atau kimia ini adalah dengan menginkubasi plasma darah dalam jumlah tertentu serta periode waktu tertentu, lalu dicampur dengan reagen sehingga terjadi proses pembekuan yang dideteksi melalui terbentuknya fibrin(Mengko, 2013).

c. Metode *Coagulation Analyzer*

Metode deteksi pada alat ini yaitu menggunakan metode deteksi optik(metode deteksi cahaya terhambur). Campuran antara plasma dan reagen dipaparkan dengan cahaya yang memiliki panjang gelombang 660nm. Kekeruhan darah selama proses koagulasi dideteksi sebagai perubahan pada intensitas cahaya yang terhambur(Mengko, 2013).

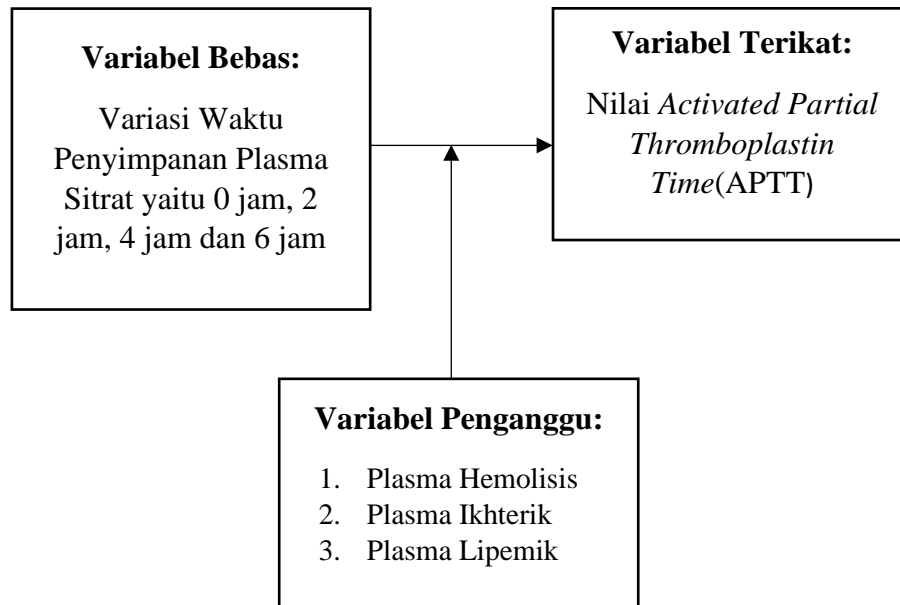
Cahaya yang diemisikan oleh sumber cahaya mencapai campuran sampel dan reagen. Cahaya terhambur yang dihasilkan akan diterima oleh *photodiode*, yang kemudian mengkonversi cahaya menjadi sinyal elektrik. Sinyal ini disimpan dan dihitung menggunakan komputer mikro untuk mendapatkan waktu koagulasi(Mengko, 2013).

B. Kerangka Teori



Gambar 2. Kerangka Teori

C. Hubungan Antar Variabel



Gambar 3. Hubungan Antar Variabel

D. Hipotesis

Ada pengaruh lama penyimpanan plasma sitrat pada suhu 2 – 8° C terhadap nilai *Activated Partial Thromboplastin Time* (APTT).