

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Pra Analitik Pemeriksaan Hemostasis

Pra analitik merupakan salah satu tahapan pada pemeriksaan laboratorium klinik dan pemantapan mutu internal yang dilakukan untuk mencegah terjadinya suatu kesalahan sebelum melakukan analisis sampel pasien yang akan diperiksa dengan metode/instrumen tertentu (Sukorini, 2010). Menurut Riswanto (2013), tahapan pada pra analitik meliputi:

a. Pengumpulan Spesimen

Spesimen adalah bahan yang berasal dari penderita berupa cairan tubuh, swab (olesan), kerokan, tinja (feses), dahak (sputum), jaringan atau organ, dan sebagainya yang diperoleh dengan cara tertentu untuk diperiksa atau diuji laboratorium. Adapun jenis spesimen untuk pemeriksaan hematologi adalah berupa darah yang berasal dari pembuluh vena atau kapiler. Pengumpulan spesimen merupakan salah satu komponen pada tahap pra analitik, yaitu suatu tahap atau proses yang terjadi sebelum spesimen diproses dalam peralatan (instrumen pengujian).

Cara yang digunakan untuk memperoleh spesimen darah adalah pengambilan darah yang disebut flebotomi (*phlebotomy*). Metode pengambilan darah meliputi:

- 1) Tusukan vena (*venipuncture*) untuk memperoleh *whole blood*

- 2) Tusukan kulit (*skin/dermal/capillary puncture*) untuk memperoleh darah kapiler
- 3) Tusukan arteri (pembuluh nadi) untuk tujuan pemeriksaan tertentu

Pengumpulan spesimen merupakan tahapan penting dalam menentukan baik buruknya atau valid tidaknya hasil pemeriksaan laboratorium. Pengambilan spesimen yang tidak tepat menyebabkan pekerjaan laboratorium tidak berguna, seperti spesimen tidak layak diperiksa maupun jika dilakukan pemeriksaan akan memberikan hasil yang meragukan, sehingga dilakukan pemeriksaan ulang terhadap spesimen tersebut atau pengguna jasa laboratorium melakukan *cross-check* pada laboratorium lainnya. Dalam pengambilan spesimen, perlu diperhatikan hal-hal berikut ini :

- 1) Identifikasi dan pelabelan spesimen pasien
- 2) Keadaan fisiologis pasien (misalnya, pasien puasa atau tidak puasa, umur, jenis kelamin, makanan, kehamilan, konsumsi tembakau, waktu pengambilan spesimen dikaitkan variasi diurnal)
- 3) Persiapan pasien dengan benar sebelum pengambilan spesimen
- 4) Peralatan yang sesuai untuk pengumpulan spesimen (misalnya untuk perhitungan jumlah sel darah harus ditampung dalam tabung berisi garam kalium EDTA untuk mencegah koagulasi plasma dan agregasi trombosit)

5) Pemilihan lokasi yang tepat untuk pengambilan spesimen

Untuk menjamin bahwa spesimen yang diperoleh benar-benar dapat digunakan, spesimen tersebut harus diambil pada waktu yang tepat. Adapun hal-hal yang harus diperhatikan dalam pengumpulan spesimen, yaitu:

- 1) Identifikasi dan pelabelan spesimen pasien
- 2) Jenis spesimen sesuai dengan tujuan pemeriksaan
- 3) Volume spesimen mencukupi sesuai persyaratan untuk setiap jenis pemeriksaan
- 4) Peralatan sampling dan wadah sampel yang digunakan memenuhi syarat, seperti bersih, kering, tidak mempengaruhi komposisi zat-zat atau material seluler yang ada dalam spesimen, sekali pakai-buang (*disposable*)
- 5) Spesimen diambil ditempat yang tidak terpasang *intravena line*, terdapat luka bakar, hematoma dan sebagainya
- 6) Penggunaan antikoagulan atau zat pengawet benar, sesuai dengan jenis pemeriksaan
- 7) Kondisi spesimen baik, seperti tidak lisis, tidak beku atau mengandung bekuan, tidak berubah warna, dan segar atau tidak kadaluarsa
- 8) Penanganan spesimen yang benar, misalnya cara menampung darah dalam tabung, pemberian identitas spesimen dan sebagainya. Pemberian label dan penulisan data spesimen atau

pasien tepat disertai formulir permintaan yang diisi secara lengkap (nama, umur, nomor CM, diagnosis atau keterangan klinis). Kelengkapan ini penting agar laboratorium dapat memberikan hasil yang terjaga mutunya (Riswanto, 2013).

b. Peralatan

Peralatan yang digunakan untuk pengambilan spesimen darah yaitu alat suntik (*syringe*) dengan jarumnya, peralatan sampling dengan sistem vakum (jarum, holder, tabung vakum), tali pembendung (*tourniquet*), tabung sampel darah, lanset dan kapas.

1) Jarum

Jarum yang digunakan untuk pengambilan darah vena salah satunya adalah jarum multi sample, jarum ini digunakan untuk pengambilan sampel darah dengan menggunakan beberapa tabung secara bergantian dalam satu kali penusukan atau disebut dengan metode ETS (*evacuated tube system*) (Riswanto, 2013).

2) Tabung Penampung Sampel Darah

Tabung penampung sampel darah (*evacuated tube*) dibuat dari bahan gelas atau plastik dengan berbagai ukuran atau volume mulai dari 2 ml hingga 15 ml. Ukuran tabung disesuaikan dengan volume sampel darah yang dibuuhkan, jenis pemeriksaan, jenis sampel darah (vena atau kapiler), usia pasien dan kondisi vena pasien. Dinding bagian dalam dari tabung harus memiliki permukaan yang halus dan tidak ada goresan

untuk mencegah rusaknya eritrosit atau melekatnya sel-sel trombosit. Tabung berbahan gelas seringkali dilapisi dengan silikon dipermukaan dinding bagian dalam untuk membuat permukaan menjadi halus. Tabung hampa udara (vakum) dirancang agar darah bisa masuk mengisi tabung secara otomatis. Ketika jarum di

tancapkan pada tabung, darah akan mengalir didalam tabung dan berhenti mengalir ketika volume tertentu telah tercapai. Tabung penampung darah biasanya berisi zat adiktif misalnya zat penghambat pembekuan darah (antikoagulan). Karet atau plastik penutup tabung berwarna-warni yang menunjukkan zat adiktif yang terdapat didalamnya (Riswanto, 2013).

3) Holder

Holder adalah tabung silinder berbahan plastik yang berfungsi sebagai tempat atau pegangan jarum multisampel, digunakan untuk pengambilan darah vena dengan menggunakan tabung vakum. Di ujung yang lainnya berlubang besar sebagai tempat tabung dimasukkan (Riswanto, 2013).

4) Tourniquet

Tali pembendung (*tourniquet*) adalah tali yang terbuat dari bahan latex atau vinyl yang elastis dan digunakan sebagai pembendung aliran darah vena. *Tourniquet* ini dipasang

dilengan sebelum dilakukan pengambilan sampel darah. Pemasangan *tourniquet* yang tepat memungkinkan aliran darah arteri ke daerah bawah *tourniquet* tetap berlangsung, tetapi menghalangi aliran darah vena didaerah tersebut yang menyebabkan pembuluh darah membesar sehingga mempermudah untuk menemukan vena dan menusuknya dengan jarum.

Apabila *tourniquet* dibiarkan di tempat selama lebih dari 1 menit obstruksi aliran darah dapat mengubah komponen darah. Selain itu dapat menyebabkan perpindahan cairan dari pembuluh darah ke jaringan yang mengakibatkan hemokonsentrasi dan hasil uji yang salah. *Tourniquet* harus mudah dipasang, dikencangkan dan mudah dilepaskan dengan satu tangan selama prosedur pengambilan darah atau dalam situasi darurat (Riswanto, 2013).

2. Pengambilan Darah Sistem Vacutainer

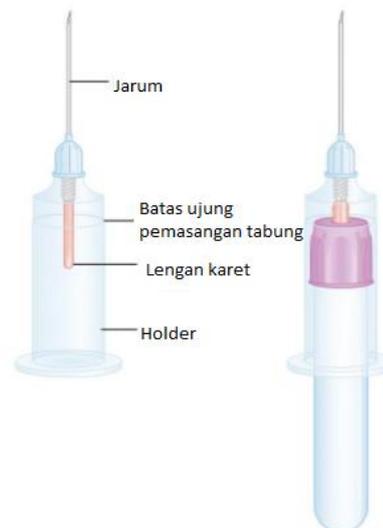
Pengambilan darah sistem *vacutainer* atau *Evacuated tube system* merupakan pengambilan darah dengan sistem tertutup. System ini darah dari pembuluh darah pasien mengalir melalui jarum masuk ke tabung tanpa terjadi kontak dengan udara luar. System ini dapat menggunakan beberapa tabung dengan pungsi vena tunggal. Pada dasarnya desain elemen system ini memiliki tiga komponen dasar, yaitu jarum, pemegang tabung dan beberapa jenis tabung evakuasi. Selain itu, system ini juga

disebut jarum multisampel karena memungkinkan untuk menampung darah kedalam beberapa tabung sekaligus pada sekali tusukan. Ketika tabung pertama telah terisi dapat diganti dengan tabung lainnya tanpa harus melepas jarum dari tempat tusukan (Kiswari, 2010).

Evacuated tube system adalah metode yang paling sering digunakan untuk melakukan pungsi vena dan tersedia dari berbagai manufaktur. Darah dikumpulkan langsung ke dalam tabung evakuasi, tidak perlu untuk pemindahan sampel dan meminimalkan risiko paparan biohazard (Di Lorenzo & Strasinger, 2016). Jarum yang digunakan terdiri dari dua bagian jarum yang dihubungkan oleh sambungan berulir. Jarum pada sisi anterior digunakan untuk menusuk vena dan jarum pada sisi posterior ditancapkan pada bagian tabung. Jarum posterior disebungi oleh bahan dari karet sehingga dapat mencegah darah dari pasien mengalir keluar. Sambungan berulir berfungsi untuk melekatkan jarum pada sebuah holder dan memudahkan pada saat mendorong tabung menancap pada jarum posterior (Riswanto, 2013).

Keuntungan menggunakan metode ETS yaitu tidak perlu membagi sampel darah ke dalam beberapa tabung. Cukup dengan sekali penusukan, dapat digunakan untuk beberapa tabung secara bergantian sesuai dengan jenis pemeriksaan yang dibutuhkan. Kekurangan metode ini yaitu sulitnya pengambilan pada pasien orang tua, anak kecil, bayi, atau jika vena kecil atau rapuh, atau jika pasien gemuk. Untuk mengatasi

hal tersebut dapat menggunakan jarum bersayap (*wing needle*) (Riswanto, 2013).



Gambar 1. Peralatan Pengambilan Darah Sistem Vacutainer
Sumber: Strasinger & Di Lorenzo, 2011

3. Antikoagulan

Antikoagulan ditambahkan agar sampel darah tidak membeku. Aktivitas antikoagulan pada dasarnya adalah dengan mengikat atau mengendapkan ion kalsium (Ca). Ion kalsium adalah salah satu faktor pembekuan (Faktor IV), tanpa kalsium pembekuan tidak terjadi, dan akan menghambat pembentukan trombin (Kiswari, 2014).

Natrium sitrat (Sodium Citrate) digunakan dalam bentuk larutan pada konsentrasi 3.2%. Natrium sitrat 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. Cara kerja antikoagulan ini dengan mengendapkan ion kalsium, sehingga

menjadi bentuk yang tidak aktif. Selain untuk pemeriksaan koagulasi, antikoagulan Natrium sitrat juga digunakan untuk pemeriksaan laju endap darah metode Westergreen (Kiswari, 2014).



Gambar 2. Tabung Antikoagulan Natrium Sitrat

Sumber: <http://www.subrascientific.in/resources/image/1b/ef/6.png>

Antikoagulan Natrium sitrat digunakan untuk pemeriksaan sistem pembekuan darah karena paling baik dalam memelihara faktor-faktor pembekuan darah dan mengembalikan kalsium ke dalam spesimen selama proses pemeriksaan serta dapat dengan mudah mengembalikan efek pengikatan (*binding*). Tabung Sitrat dapat dijumpai dalam bentuk tabung hampa udara (vakum) dengan tutup berwarna biru terang (Riswanto, 2013).

Mekanisme antikoagulan Natrium sitrat mencegah pembekuan darah yaitu dengan cara menghilangkan dan mengikat kalsium melalui kompleks kalsium sitrat, menginhibisi *aminotransferase* dan *alkali phosphatase*, serta menstimulasi *acid phosphatase*. Efek pemakaian antikoagulan Natrium sitrat konsentrasi rendah akan terjadi pemendekan *clotting time* dan terjadi klot, sedangkan efek pemakaian antikoagulan Na

sitrat konsentrasi tinggi menyebabkan *false prolonged coagulation time*. Rasio perbandingan darah dan antikoagulan untuk pemeriksaan koagulasi yaitu 9:1 (0,333 cc Na sitrat : 3 cc darah). Oleh karena 1 cc sama dengan 20 tetes, maka 0,333 cc atau 6,7 (7 tetes) Na sitrat : 3 cc darah (Tahono, dkk., 2012).

4. Darah

Darah merupakan jaringan cair yang terdiri dari dua bagian. Bahan interseluler adalah cairan plasma, didalamnya terdapat unsur - unsur padat, yaitu sel darah merah. Volume darah keseluruhan sekitar satu per dua belas berat badan atau kira - kira 5 liter. Sekitar 55% adalah cairan, sedangkan 45% terdiri atas sel darah (Pearce, 2009). Darah adalah jaringan ikat atau konektif berbentuk cair terdiri dari 4 unsur seluler yaitu sel darah merah (eritrosit), sel darah putih (leukosit), sel darah pembeku atau keping darah (trombosit) dan cairan darah (plasma darah) (D'Hiru, 2013).

Darah berfungsi menjaga tekanan osmosis antara darah dan jaringan – jaringan sel tetap normal, menjaga keseimbangan asam basa dalam darah tetap seimbang, mengatur suhu tubuh dan sebagai alat pertahanan terhadap serangan penyakit. Darah merupakan alat pengangkut utama (transportasi, distribusi dan sirkulasi) di dalam tubuh (D'Hiru, 2013).

Eritrosit atau sel darah merah berbentuk cakram bikonkaf, cekung pada kedua sisinya, dan memiliki diameter 6,7 - 8,0 milimikron (rata -

rata 7,2 milimikron). Dalam 1 mm³ darah terdapat kira - kira 5 juta butir sel darah merah. Sel darah merah berwarna kuning tua tetapi dalam jumlah banyak terlihat berwarna merah (tergantung konsentrasi oksigen). Eritrosit memiliki struktur yang terdiri atas pembungkus luar atau stroma yang berisi massa hemoglobin. Pembuatan sel darah merah (hematopoesis) terjadi di sumsum tulang terutama bagian tulang pendek pipih dan tidak beraturan, jaringan kanselus pada ujung tulang pipa, sumsum dalam batang iga-iga dan sternum. Perkembangan sel darah merah dalam sumsum tulang melalui berbagai tahapan, mula - mula besar dan berinti (nukleus), tidak mengandung hemoglobin, kemudian terisi hemoglobin dan akhirnya kehilangan intinya, barulah diedarkan dalam peredaran darah (D'Hiru, 2013).

Sel darah merah rata - rata memiliki masa hidup 120 hari. Sel - sel darah merah menjadi rusak dan dalam sistem retikulum endotelium terutama dalam limfa dan hati dihancurkan. Globin dan hemoglobin dipecah menjadi asam amino untuk digunakan sebagai protein dalam jaringan - jaringan. Zat besi (Fe) dalam heme (dari hemoglobin) dikeluarkan untuk di *recycle* dalam pembentukan sel darah merah kembali. Sisa hem direduksi menjadi biliverdin dan karbon monoksida (CO) (D'Hiru, 2013).

Ketika terjadi pendarahan, tubuh akan kehilangan sel darah merah beserta hemoglobinnya. Pada perdarahan sedang, sel - sel darah merah diganti dalam waktu beberapa minggu berikutnya. Tetapi apabila kadar

hemoglobin turun sampai 40%, maka diperlukan transfusi darah. Hemoglobin adalah protein yang mengandung zat besi (Fe). Hemoglobin yang terikat dengan oksigen akan membentuk oksihemoglobin didalam sel darah merah. Jumlah hemoglobin pada darah normal adalah sekitar 15 gram setiap 100 ml darah (D'Hiru, 2013).

Sel darah putih (leukosit) berwarna bening (*translucent*). Bentuknya lebih besar bila dibandingkan dengan eritrosit. Dalam setiap 1 mm³ darah terdapat 4000 – 10.000 sel darah putih. Sel darah putih dibuat dalam sumsum tulang. Sel ini memiliki sebuah inti yang dapat membelah menjadi banyak dan protoplasmanya bergranula (maka disebut granulosit). Leukosit terdiri dalam beberapa komposisi bentuk sel yang meliputi: limfosit, monosit, basofil, eosinofil dan neutrofil. Granulosit dan monosit memiliki peranan penting dalam perlindungan terhadap kuman – kuman penyakit. Dengan kemampuannya sebagai fagosit mereka memakan bakteri bakteri hidup yang masuk sebagai infeksi ke dalam peredaran darah (D'Hiru, 2013).

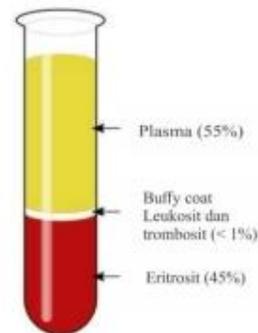
Sel darah pembeku (trombosit), sel ini besarnya sepertiga ukuran sel darah merah, bentuknya tidak teratur, mudah pecah, dan tidak mempunyai inti (nukleus). Setiap 1 mm³ darah terdapat 150.000 – 400.000 trombosit. Sel –sel darah pembeku dibuat dalam sumsum merah tulang. Berperan sangat penting dalam proses pembekuan darah. Trombosit berperan dalam pembekuan darah, melindungi dari perdarahan masif yang diakibatkan luka atau trauma (D'Hiru, 2013).

5. Plasma

Plasma darah (cairan darah) adalah cairan berwarna kekuning-kuningan yang tidak memiliki sel-sel darah. Plasma darah terdapat senyawa penyangga (*buffer*) berupa hemoglobin, oksihemoglobin, bikarbonat, fosfat dan protein plasma yang berfungsi mengatur keseimbangan asam basa untuk menghindari adanya kerusakan jaringan. Plasma darah membantu protein yang diperlukan untuk pembentukan jaringan, mendistribusikan cairan nutrisi sehingga semua sel tubuh menerima kebutuhan esensial dan merupakan transportasi bahan buangan (sisa metabolisme) ke berbagai organ pengeluaran untuk dibuang (D'Hiru, 2013).

Plasma merupakan bagian cair dari darah yang ditambahkan antikoagulan (anti pembekuan darah). Jika darah ditambah antikoagulan maka tidak akan terjadi pembekuan dan darah tetap cair. Darah yang ditambah koagulan setelah didiamkan beberapa menit atau telah disentrifugasi akan terpisah menjadi tiga bagian yaitu:

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



Gambar 3. Darah dengan Antikoagulan
Sumber: Kiswari, 2014.

Plasma yang digunakan untuk pemeriksaan hemostasis adalah plasma miskin trombosit atau *platelet poor plasma* (PPP) dan plasma kaya trombosit atau *platelet rich plasma* (PRP). Pembuatan PPP dilakukan dengan mensentrifugasi darah dengan kecepatan 1500g kurang dari 15 menit dengan pengaturan *brake* yang dimatikan. Sentrifugasi sampel dengan kecepatan >1500g tidak disarankan karena dapat menstimulus aktivasi trombosit dan hemolisis. Namun, pada keadaan darurat, dapat dilakukan pemeriksaan parameter hemostasis menggunakan plasma segar yang dibuat dengan mensentrifugasi pada kecepatan >1500g dengan waktu lebih singkat (kurang dari 10 menit) (Durachim, 2018).

PRP dibuat dengan melakukan sentrifugasi lebih dari satu kali, dimana sentrifugasi dilakukan dengan kecepatan sentrifugal yang berbeda untuk mengendapkan sel-sel darah tertentu sesuai dengan berat sel tersebut. PRP dibuat dengan mensentrifugasi darah dengan kecepatan 1300 rpm lalu memisahkan plasma yang mengandung trombosit ke

dalam wadah steril lainnya. Plasma tersebut kemudian dicentrifugasi kembali dengan kecepatan yang lebih tinggi, 2000 rpm untuk mendapatkan konsentrat trombosit. Bagian 1/3 bawah tabung merupakan PRP sedangkan bagian 2/3 atas tabung merupakan PPP. Untuk mendapatkan PRP, maka bagian atas plasma dipindahkan. PRP dapat juga dibuat dengan menggunakan metode *buffy coat* (Durachim, 2018).

6. Hemostasis

Hemostasis merupakan suatu proses penghentian perdarahan secara spontan dari pembuluh darah yang mengalami kerusakan atau disebabkan putus dan robeknya pembuluh darah. Proses hemostasis meliputi pembekuan darah (koagulasi) dan melibatkan pembuluh darah, agregasi trombosit dan protein plasma baik yang menyebabkan proses pembekuan atau proses pelarutan bekuan (Durachim, 2018). Koagulasi dibagi menjadi dua sistem utama yaitu sistem hemostasis primer dan sekunder. Sistem primer terdiri dari fungsi platelet dan vasokonstriksi. Sistem sekunder melibatkan protein koagulasi dan serangkaian reaksi enzimatik (Ciesla, 2007). Sistem yang berperan dalam proses hemostasis yaitu sistem vaskuler, trombosit dan pembekuan darah.

a. Sistem Vaskuler

Sistem vaskuler dalam mencegah perdarahan berperan pada proses kontraksi pembuluh darah (vasokonstriksi) serta aktivasi trombosit dan pembekuan darah. Apabila pembuluh darah

mengalami luka, akan terjadi vasokonstriksi yang mula-mula secara reflektorik dan kemudian akan dipertahankan oleh faktor lokal seperti 5-hidroksitriptamin (5-HT, serotonin) dan epinefrin. Vasokonstriksi menyebabkan pengurangan aliran darah pada daerah yang luka. Pada pembuluh darah kecil hal ini dapat menghentikan perdarahan, sedangkan pada pembuluh darah besar masih diperlukan sistem lain seperti trombosit dan pembekuan darah (Setiabudy, 2007).

Pembuluh darah dilapisi oleh sel endotel. Apabila lapisan endotel rusak maka jaringan ikat dibawah endotel seperti serat kolagen, serat elastin dan membrana basalis terbuka sehingga terjadi aktivasi trombosit yang menyebabkan adhesi trombosit dan pembentukan sumbat trombosit. Selain itu terjadi aktivasi faktor pembekuan darah baik jalur intrinsik maupun jalur ekstrinsik yang menyebabkan pembentukan fibrin (Setiabudy, 2007).

b. Sistem Trombosit

Trombosit memiliki peran penting dalam hemostasis yaitu pembentukan dan stabilitas sumbat trombosit. Pembentukan sumbat trombosit terjadi melalui 3 tahap yaitu adhesi trombosit, agregasi trombosit dan reaksi pelepasan. Apabila pembuluh darah luka, sel endotel akan rusak sehingga jaringan ikat dibawah endotel akan terbuka. Hal ini akan memulai terjadinya adhesi trombosit yaitu trombosit melekat pada permukaan asing terutama serat kolagen.

Adhesi trombosit tergantung pada protein plasma faktor von Willebrand's (vWF) yang disintesis oleh sel endotel dan megakariosit. Faktor von Willebrand's (vWF) berfungsi sebagai jembatan antara trombosit dan jaringan subendotel. Selain melekat pada permukaan asing, trombosit melekat pada trombosit lain, proses ini disebut agregasi trombosit (Setiabudy, 2007).

c. Sistem Pembekuan Darah

Pembekuan darah adalah suatu proses reaksi kimia yang melibatkan protein plasma, fosfolipid dan ion kalsium (Kiswari, 2014). Teori yang banyak digunakan untuk menerangkan proses pembekuan darah adalah teori *cascade* atau *waterfall* yang dikemukakan oleh Mac Farlane, Davie dan Ratnoff. Menurut teori *cascade* dalam rangkaian enzimatik setiap faktor pembekuan darah diubah menjadi bentuk aktif oleh faktor sebelumnya. Faktor pembekuan beredar dalam darah sebagai prekursor yang akan diubah menjadi enzim apabila diaktifkan. Enzim ini akan mengubah prekursor selanjutnya menjadi enzim. Faktor pembekuan darah pertama kali bertindak sebagai substrat dan kemudian sebagai enzim (Setiabudy, 2007).

Faktor koagulasi dapat dikategorikan menjadi substrat, kofaktor, dan enzim. Substrat adalah substansi tempat enzim bekerja. Fibrinogen adalah substrat utama. Kofaktor mempercepat aktivitas enzim yang terlibat dalam kaskade. Kofaktor meliputi faktor

jaringan, faktor V, faktor VIII, dan faktor Fitzgerald. Semua enzim tersebut adalah protease serin kecuali faktor XIII yang merupakan transaminase (Ciesla, 2007). Berikut ini nomenklatur faktor pembekuan darah.

Tabel 1. Nomenklatur Faktor Pembekuan Darah

Faktor	Nama	Sinonim/nama lain
I	Fibrinogen	-
II	Prothrombin	-
III	Tissue factor	Tissue Thromboplastin
IV	Ion kalsium	-
V	Proaccelerin	Labile factor
VI	-	-
VII	Proconvertin	Stable factor
VIII	Antihemophile factor (AHF)	Antihemophile globulin (AHG)
IX	Plasma Thromboplastin Component (PTC)	Christmas 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

Masing-masing faktor koagulasi tersebut memiliki beberapa karakteristik, karakteristik tersebut meliputi (Kiswari,2007):

- 1) Faktor I (Fibrinogen)

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

2) Faktor II (Protrombin)

Protrombin adalah protein yang stabil (berat molekul 63.000). Protrombin diubah menjadi trombin oleh aksi enzimatis tromboplastin dari kedua jalur ekstrinsik dan intrinsik karena dipengaruhi oleh kalsium terionisasi. Protrombin memiliki waktu paruh hampir 3 hari dan digunakan kira-kira 70% selama pembekuan. Kalsium terionisasi merupakan istilah untuk menggantikan faktor IV. Kalsium terionisasi digunakan untuk aktivasi tromboplastin dan konversi protrombin menjadi trombin. Kalsium terionisasi adalah bentuk fisiologis aktif kalsium. Trombin (berat molekul 40.000) adalah bentuk aktif dari protrombin yang biasanya ditemukan sebagai prekursor dalam sirkulasi. Enzim proteolitik yang berinteraksi dengan fibrinogen, juga merangsang agregasi trombosit yang kuat. Sejumlah besar trombin digunakan selama proses konversi fibrinogen menjadi fibrin. Satu unit trombin akan mengentalkan

1 mL larutan fibrinogen standar dalam 25 detik pada suhu 28⁰C. Dalam tubuh manusia, hanya jumlah kecil yang diperlukan untuk pembekuan darah. Kekurangan kalsium tidak termasuk disfungsi koagulasi, kecuali dalam kasus transfusi masif.

3) Faktor V (Proaccelerin)

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

4) Tromboplastin Jaringan (Faktor III)

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

5) Faktor VII (Proconvertin)

Faktor VII, beta - globulin bukan komponen penting dari mekanisme yang menghasilkan tromboplastin dalam jalur intrinsik. 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 VIII adalah reaktan pada fase akut, digunakan selama proses pembekuan dan tidak ditemukan dalam serum. Faktor VIII sangat labil, dan berkurang sebanyak 50% dalam waktu 12 jam pada suhu 4°C *in vitro*. Faktor VIII terdiri dari berbagai komponen fungsional.

7) Faktor IX (*Plasma Thromboplastin Component*)

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

8) Faktor X (*Stuart Factor*)

Faktor X merupakan alfa-globulin, faktor yang relatif stabil. Faktor X bersama dengan faktor V, bereaksi dengan ion kalsium membentuk jalur akhir yang umum dimana produk - produk dari kedua jalur ekstrinsik dan intrinsik yang menghasilkan tromboplastin bergabung membentuk tromboplastin akhir yang akan 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 penting untuk mekanisme yang menghasilkan tromboplastin dalam jalur intrinsik.

10) Faktor XII

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

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

Faktor XIII bersama kalsium terionisasi menghasilkan bekuan fibrin yang stabil.

Pembekuan terjadi karena adanya cedera vaskuler dalam keadaan homeostasis, diawali dengan vasokonstriksi (penyempitan pembuluh vaskuler) yang merupakan respon langsung terhadap cedera kemudian diikuti oleh adhesi trombosit pada kolagen dinding pembuluh yang terkena cedera. ADP (Adenosin difosfat) dilepaskan oleh trombosit yang menyebabkan mengalami agregasi. Beberapa trombin juga merangsang agregasi trombosit yang berfungsi mempercepat reaksi. Faktor III dari membran trombosit juga mempercepat pembekuan plasma yang akan terbentuk sumbat trombosit yang kemudian segera diperkuat oleh protein filamentosa (fibrin). Produksi fibrin dimulai dengan perubahan faktor X menjadi

XA, sebagai bentuk aktif faktor X. Faktor X diaktifkan melalui dua jalur reaksi, yaitu jalur intrinsik dan ekstrinsik (D'Hiru, 2013).

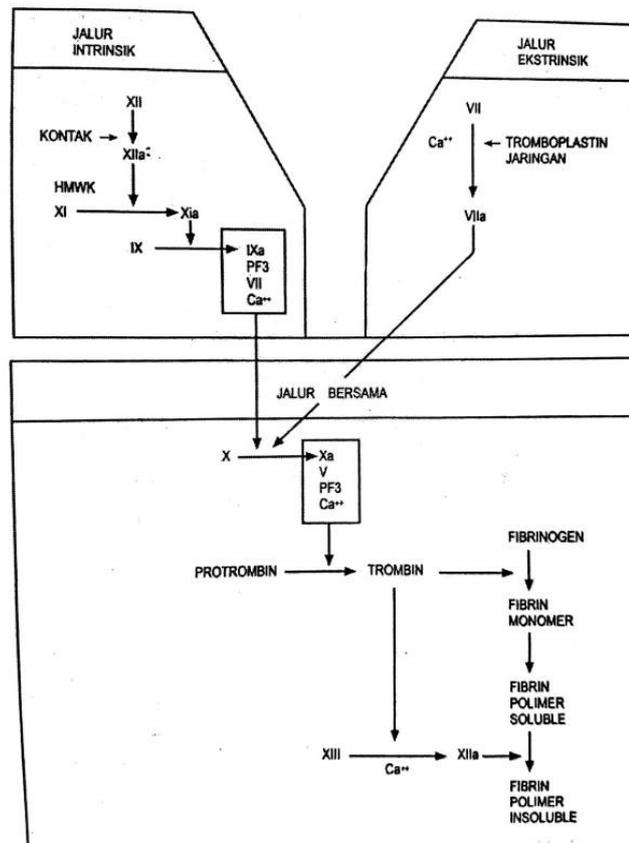
Jalur intrinsik meliputi fase kontak dan pembentukan aktivator F.X. Aktivasi kontak dimulai oleh perubahan yang disebabkan oleh trauma vaskular. Adanya kontak antara F.XII dengan permukaan asing seperti serat kolagen akan menyebabkan aktivasi F.XII menjadi F.XIIa. Kofaktor *High Molecular Weight Kininogen* (HMWK) F. XIIa akan mengubah prakalikein menjadi kalikrein yang akan meningkatkan aktivasi F.XII. Selain itu kalikrein akan mengaktifkan F.VII menjadi F.VIIa pada jalur ekstrinsik, mengaktifkan plasminogen menjadi plasmin pada sistem fibrinolitik, serta mengubah kininogem menjadi kinin yang berperan dalam reaksi inflamasi. Aktivasi F.XII selain mencetuskan pembekuan darah baik jalur intrinsik maupun jalur ekstrinsik, juga menecetuskan sistem fibrinolitik dan kinin. Selanjutnya reaksi pada jalur intrinsik yaitu aktivasi F.XI menjadi F.XIa oleh F.XIIa dengan HMWK sebagai kofaktor. Adanya ion kalsium, F.XIa akan mengubah F.IX menjadi IXa. Reaksi terakhir pada jalur ini adalah reaksi non enzimatis antara F.IXa, PF.3, F.VIII dan ion kalsium membentuk kompleks yang mengaktifkan F.X. Walaupun F.IXa dapat mengaktifkan F.X, tetapi dengan adanya PF.3, F.VIII dan ion kalsium maka reaksi ini akan dipercepat (Setiabudy, 2007)

Jalur ekstrinsik koagulasi merupakan jalur yang diawali oleh masuknya tromboplastin jaringan ke dalam sirkulasi darah. Tromboplastin jaringan berasal dari fosfolipoprotein dan membran organel dari sel-sel jaringan yang terganggu. Fosfolipid trombosit tidak diperlukan untuk aktivasi pada jalur ekstrinsik karena faktor jaringan mempunyai pasokan fosfolipid sendiri (Kiswari, 2014). Jalur ekstrinsik terdiri dari reaksi tunggal, F.VII akan diaktifkan menjadi F.VIIa dengan adanya ion kalsium dan tromboplastin jaringan yang dikeluarkan oleh pembuluh darah yang terja luka. Aktivasi F.VII menjadi F.VIIa terbukti dapat terjadi dengan adanya kalikrein. Hal ini menunjukkan adanya hubungan antara jalur intrinsik dan ekstrinsik. 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 terjadi perubahan F.X menjadi F.Xa oleh adanya kompleks yang terbentuk pada jalur intrinsik dan F.VIIa dari jalur ekstrinsik. F.Xa bersama F.V, *platelet factor* (PF. 3) dan ion kalsium akan membentuk *prothrombin converting complex* yang 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.XIIa,

meningkatkan aktivitas F.V dan F.VIII, merangsang reaksi pelepasan dan agregasi trombosit. Reaksi selanjutnya trombin akan mengubah fibrinogen menjadi fibrin monomer (Stiabudy, 2007).

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 fibrinopeptida A,B dan fibrin monomer. Fibrin monomer akan mengalami polimerisasi untuk membentuk fibrin polimer. Mula-mula fibrin polimer yang terbentuk bersifat tidak stabil karena mudah larut oleh adanya set tertentu seperti urea, sehingga disebut fibrin polimer soluble. Adanya F.XIIIa dan ion kalsium, maka fibrin polimer soluble akan diubah menjadi insoluble karena terbentuk ikatan silang antara 2 rantai gama dari fibrin monomer yang bersebelahan. Aktivasi F.XIII menjadi F. XIIIa terjadi dengan adanya trombin (Setiabudy, 2007).



Gambar 4. Proses Pembekuan Darah
Sumber: Setiabudy, 2007.

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

Pemeriksaan masa tromboplastin parsial atau *Activated Partial Thromboplastin Time* (APTT) adalah pemeriksaan laboratorium yang bertujuan untuk menilai aktifitas faktor koagulasi jalur intrinsik dan jalur bersama yaitu faktor VIII, IX, XI, XII, pre-kalikrein, kininogen, X, V, protrombin dan fibrinogen (Setiabudy, 2007). APTT juga digunakan untuk memantau terapi heparin. Heparin adalah antikoagulan yang digunakan untuk mengobati dan mencegah kejadian trombotik akut seperti trombosis vena dalam atau *Deep Vein Thrombosis* (DVT), emboli

paru (PE), atau sindrom koroner akut. Kerja heparin adalah untuk menonaktifkan faktor XII, XI, dan IX dengan adanya antitrombin (Ciesla, 2007)

Prinsip pemeriksaan *Activated Partial Thromboplastin Time* (APTT) adalah 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 *Activated Partial Thromboplastin Time* (APTT) (Riswanto, 2013)

Activated Partial Thromboplastin Time (APTT) mengukur waktu yang dibutuhkan untuk menghasilkan trombin dan fibrin polimer melalui jalur instrinsik. Faktor kontak dapat diaktifkan lebih jauh dengan penambahan zat-zat seperti kaolin dalam bentuk aktif pada pemeriksaan ini. Pemeriksaan APTT, ion kalsium dan fosfolipid yang menggantikan fosfolipid trombosit ditambahkan ke plasma darah (Kiswari, 2014). APTT lebih sensitif dalam mendeteksi kelainan faktor pembekuan daripada PPT karena aktivaor yang ditambahkan secara invitro memperpendek waktu pembekuan. Dengan memperpendek waktu pembekuan kelainan pembekuan minor dapat dideteksi (Riswanto, 2013).

Nilai normal *Activated Partial Thromboplastin Time* (APTT) adalah 20-35 detik. Tetapi apabila hasilnya lebih dari 7 detik dari nilai normal

maka hasil pemeriksaan dianggap abnormal (Riswanto, 2013). Selain itu, nilai normal APTT tergantung dari reagen, cara pemeriksaan dan alat yang digunakan. Setiap laboratorium juga dianjurkan agar menentukan nilai normalnya sendiri (Setiabudy, 2007).

Activated Partial Thromboplastin Time (APTT) memanjang karena defisiensi bawaan atau didapat. Pada defisiensi bawaan, APTT memanjang karena kekurangan factor II (prothrombin), V atau X. Jika nilai PPT normal, kemungkinan karena kekurangan factor VII, V, IX, XI atau XII, namun jika factor-faktor koagulasi tersebut normal kemungkinan karena kekurangan HMW kininogen (factor Fitzgerald). APTT memanjang pada defisiensi yang didapat dan kondisi abnormal, seperti penyakit hati (misal sirosis hati), koagulopati konsumtif (misal DIC), *circulating anticoagulant* (antiprothrombinase atau *circulating anticoagulant* terhadap suatu factor koagulasi), terapi antikoagulan oral, treatment dengan thrombin inhibitor, penyakit von Willebrand (hemofilia vascular), leukemia (mielositik, monositik), malaria dan pengaruh obat heparin, salisilat (Riswanto, 2013).

8. 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, hemofilia,

penyakit von willebrand dan kondisi lain serta untuk mengamati efek obat dan efek terapi komponen darah (Mengko, 2013).

Metode yang digunakan alat koagulometer adalah deteksi mekanik, deteksi optik dan *amperometric detection*. Prinsip kerja alat *coagulation analyzer* dengan 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).

9. Faktor-Faktor yang Perlu diperhatikan pada Pemeriksaan APTT

a. Antikoagulan

Pemeriksaan hemostasis menggunakan antikoagulan Natrium sitrat 0,109 M dengan perbandingan darah dan Natrium Sitrat 9:1 (Setiabudy, 2007).

b. Penampung

Penampung yang digunakan dalam pemeriksaan hemostasis disarankan menggunakan penampung dari gelas atau plastic yang dilapisi silicon untuk mencegah terjadinya aktivasi factor pembekuan (Setiabudy, 2007).

c. Cara pengambilan darah

Pengambilan darah pada pemeriksaan hemostasis harus dihindarkan masuknya tromboplastin jaringan dengan cara pengambilan darah menggunakan 2 semprit. Darah yang diambil pada semprit pertama, tanpa mencabut jarum, semprit pertama dilepas kemudian dipasang

sempit kedua. Darah semprit pertama tidak dipakai untuk pemeriksaan hemostasis karena dikhawatirkan terkontaminasi tromboplastin jaringan (Setiabudy, 2007)

d. Penyimpanan dan pengiriman

Pemeriksaan hemostasis sebaiknya segera dikerjakan, karena beberapa faktor pembekuan bersifat labil. Apabila tidak segera dikerjakan dalam waktu 4 jam setelah, plasma disimpan dalam plastik tertutup dan dalam keadaan beku (Setiabudy, 2007).

e. Kontrol

Pemeriksaan hemostasis sebaiknya setiap pemeriksaan juga diperiksa 1 kontrol normal dan 1 kontrol abnormal. Plasma yang digunakan sebagai control tidak ikterik, lipemik dan hemolisis (Setiabudy, 2007).

f. Plasma Hemolisis

Plasma atau serum secara visual berwarna kemerahan yang karena adanya hemoglobin yang berlebih yang disebabkan oleh eritrosit yang menyebar dalam serum atau plasma tersebut. Kejadian hemolisis sebagian besar disebabkan oleh teknik flebotomi dan penanganan sampel atau pengiriman sampel (faktor in vitro). Faktor in vitro terdiri dari ukuran jarum yang kecil, penggunaan jarum suntik secara paksa, proses menghomogenkan sampel yang terlalu kuat, temperatur pengiriman sampel yang tidak tepat, penundaan pemisahan serum atau plasma dari sel serta waktu dan kecepatan

sentrifugasi yang tidak tepat. Faktor *in vivo* terdiri dari berbagai penyakit yang menyebabkan hemolisis seperti, anemia hemolitik, hemoglobinopati, sepsis dan infeksi parasit. Faktor *in vitro* dapat dipengaruhi oleh pengalaman dan keterampilan flebotomis serta kepatuhan terhadap praktik yang baik terkait dengan pengiriman dan penanganan spesimen. Hemolisis dapat mengganggu pengukuran secara spektrofotometrik (Oliveira, dkk., 2017 dan Krasowski, 2019).

Sampel plasma yang hemolisis dapat meningkatkan absorbansi spektrofotometri dan menyebabkan pembacaan absorbansi yang tinggi, yang dapat mengganggu deteksi bekuan oleh beberapa instrumen sehingga mempengaruhi keakuratan waktu pemeriksaan. Selain itu, hasil lisis sel termasuk faktor jaringan dapat mengaktifkan faktor koagulasi (Falvaloro, dkk., 2008)

g. Plasma Lipemik

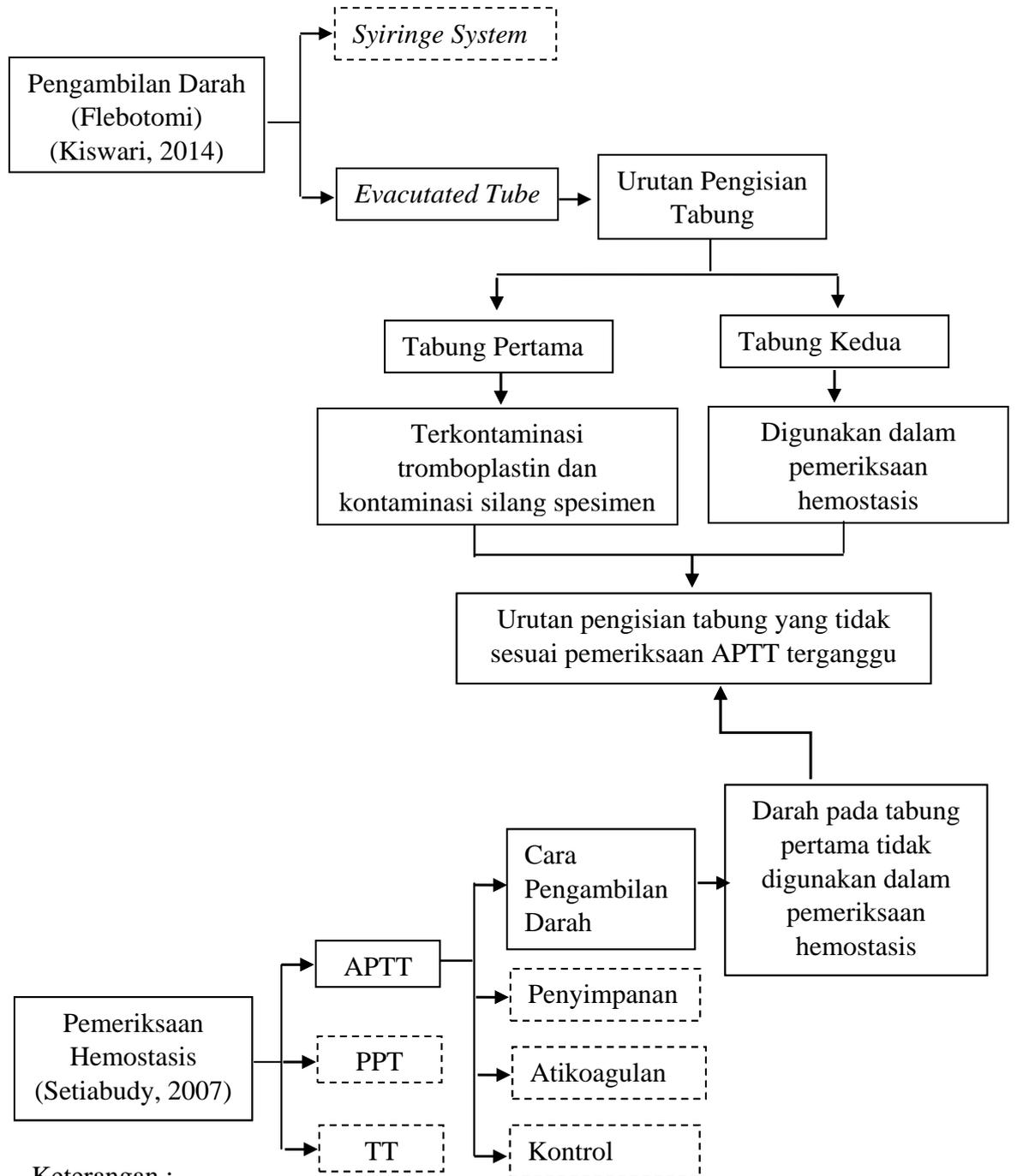
Lipemia terjadi karena adanya kandungan lemak (terutama trigliserida dalam darah yang diambil) dan tidak tergantung pada faktor yang berkaitan dengan flebotomi (Nikolac, 2014). Lipemia menyebabkan plasma atau serum keruh dan terlihat berwarna putih susu. Lipemia sebagian besar disebabkan karena pasien tidak puasa dan mengonsumsi makanan tinggi lemak sebelum dilakukan pengambilan darah (Oliveira, dkk., 2017). Konsumsi makanan tinggi lemak meningkatkan konsentrasi aktivasi F.VII (F.VIIa). Selain itu

juga berpengaruh pada fungsi trombosit dan menyebabkan penurunan beberapa aktivitas faktor pembekuan (F.II, F.IX, F.X, F.VII, F.VIIa, F.XIIa). Gangguan analitik di beberapa pemeriksaan laboratorium (terutama berdasarkan deteksi bekuan secara optical) juga dapat terjadi tetapi dapat diminimalisir menggunakan prosedur mekanikal atau elektromekanikal, atau menggunakan alat ukur yang membandingkan absorpsi sampel pada 2 panjang gelombang atau menggunakan pemeriksaan koagulasi dengan panjang gelombang alternatif (Falvaloro, dkk., 2008 dan Lippi, dkk., 2006).

h. Plasma Ikterik

Plasma ikterik mengandung kadar bilirubin yang tinggi, kadar normal bilirubin adalah 0.5 mg/dL. Pada kasus hiperbilirubinemia kadarnya akan melebihi 1,5 mg/dL dan plasma akan terpengaruh. Gangguan dalam pengujian hemostasis terjadi karena adanya hiperbilirubinemia sebagian besar disebabkan oleh tumpang *spectral overlap* (yaitu, senyawa tersebut memiliki absorbansi tinggi antara 400 dan 520 nm, dengan puncak absorbansi sekitar 456 nm) (Lippi, dkk., 2013).

B. Kerangka Teori



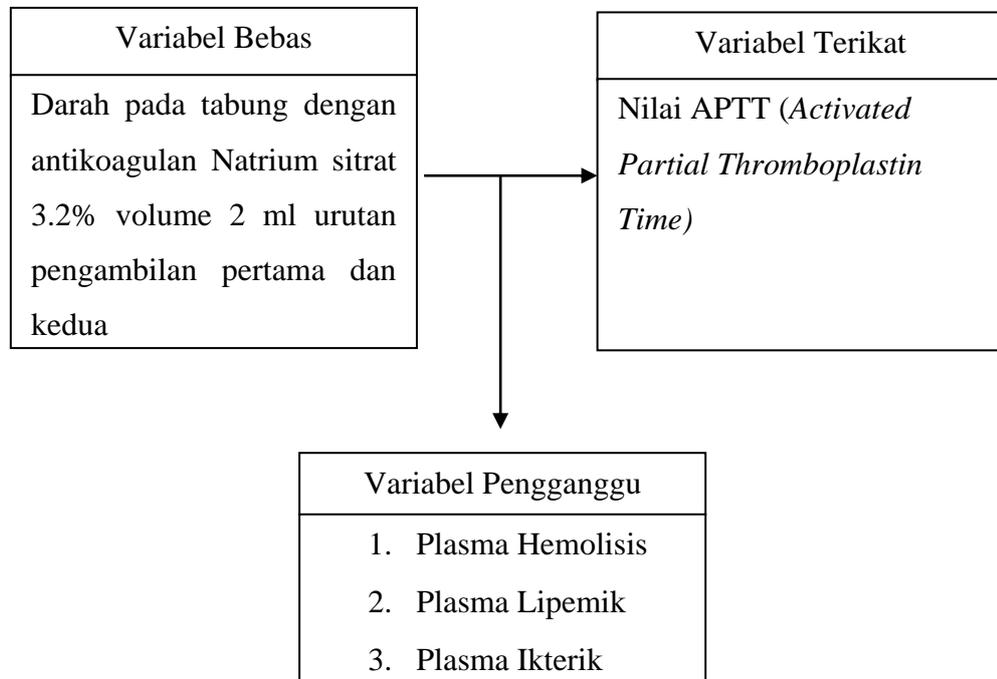
Keterangan :

: diteliti

: tidak diteliti

Gambar 5. Kerangka Teori

C. Hubungan Antar Variabel



Gambar 6. Hubungan Antar Variabel

D. Hipotesis

Ada perbedaan nilai *Activated Partial Thromboplastin Time* (APTT) pada pengambilan darah sistem vacutainer menggunakan urutan pengisian tabung Natrium sitrat 3.2% volume 2 ml pertama dan kedua.

