

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Praanalitik Pemeriksaan Hemostasis

a. Pengumpulan Spesimen

Spesimen adalah bahan uji laboratorium yang berasal dari penderita berupa cairan tubuh, swab, kerokan, feses, dahak, jaringan atau organ dan sebagainya. Pengumpulan spesimen merupakan suatu proses yang terjadi sebelum spesimen diproses dalam peralatan (instrumen pengujian). Cara memperoleh spesimen darah melalui kegiatan flebotomi (*phlebotomy*) yaitu dengan metode tusukan vena (*venipuncture*), tusukan kulit (*skin/dermal/capillary puncture*) dan tusukan arteri (pembuluh nadi) (Riswanto, 2013).

Pengumpulan spesimen merupakan tahapan yang penting dalam menentukan valid tidaknya sebuah hasil pemeriksaan laboratorium seperti urutan pengisian tabung yang salah dapat menyebabkan gangguan dalam pengujian karena terjadi kontaminasi silang dari spesimen, tromboplastin jaringan atau mikroorganisme yang akan mengaktifkan jalur ekstrinsik (Kiswari, 2014). Berikut adalah urutan pengisian tabung metode *Evacuated Tube System (ETS)* pada tabel 1.

Tabel 1. Urutan Pengisian Tabung metode *Evacuated Tube System (ETS)*

Urutan	Warna Tabung	Jenis Tabung
1	Kuning	Kultur darah-SPS <i>aerobic</i> dan <i>anerobic</i>
2	Biru Muda	Natrium sitrat*
3	Emas atau merah/abu-abu Merah Merah Oranye	BD <i>Vacutainer</i> SST tabung gel separator Tabung serum (<i>plastic</i>) Tabung serum (<i>glass</i>) BD <i>Vacutainer Rapid Serum Tube (RST)</i>
4	Hijau terang Hijau atau abu-abu Hijau	BC <i>Vacutainer</i> PST Tabung gel separator dengan heparin Heparin
5	Ungu	EDTA
6	Putih	BD <i>Vacutainer</i> tabung separator K ₂ EDTA dengan gel
7	Abu-abu	Natrium flourida (penghambat glikolisis)

* Urutan mencerminkan peningkatan penggunaan tabung pengumpulan plastik yang dievakuasi. Tabung serum plastik yang mengandung aktivator bekuan dapat menyebabkan gangguan dalam pengujian koagulasi. Beberapa fasilitas mungkin terus menggunakan tabung serum kaca tanpa aktivator bekuan sebagai tabung limbah sebelum mengumpulkan uji koagulasi khusus.

* Pengambilan darah tabung koagulasi (Natrium sitrat) menggunakan tabung spesimen pertama yang diambil maka tabung pembuangan harus diambil terlebih dahulu. Untuk memastikan rasio darah terhadap sitrat yang tepat, gunakan selang pembuangan untuk mengisi ruang udara dengan darah. Tabung pembuangan tidak perlu terisi penuh.

Sumber: Turgeon, 2018.

Selain itu, adapun hal-hal yang harus diperhatikan dalam pengumpulan spesimen, yaitu :

- 1) Jenis spesimen sesuai dengan tujuan pemeriksaan

- 2) Volume spesimen mencukupi sesuai persyaratan untuk setiap jenis pemeriksaan
- 3) 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*)
- 4) Pengambilan darah vena diusahakan sekali tusuk kena untuk mencegah masuknya tromboplastin jaringan ke dalam sampel darah
- 5) Pemakaian antikoagulan atau zat pengawet tepat sesuai dengan jenis pemeriksaan
- 6) Kondisi spesimen baik, seperti tidak lisis, tidak beku atau mengandung bekuan, tidak berubah warna, dan segar atau tidak kadaluarsa
- 7) Penanganan spesimen yang benar, misalnya cara menampung darah dalam tabung, pemberian identitas spesimen dan sebagainya. Labelisasi 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

1) Jarum

Jarum multi sampel adalah jarum yang digunakan untuk pengambilan sampel darah dengan menggunakan beberapa tabung secara bergantian dalam satu kali penusukan atau disebut dengan metode ETS (*evacuated tube system*). Jarum yang digunakan terdiri dari dua buah jarum yang dihubungkan oleh sambungan berulir. Jarum pada sisi anterior digunakan untuk menusuk vena dan jarum pada sisi posterior ditancapkan pada tabung. Jarum posterior diselebungi 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 ini yaitu tidak perlu membagi-bagi sampel darah ke dalam beberapa tabung. Cukup sekali penusukan, dapat digunakan untuk beberapa tabung secara bergantian sesuai dengan jenis tes yang diperlukan (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. 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 dapat masuk mengisi tabung secara otomatis. Ketika jarum ditancapkan pada tabung, maka darah akan mengalir didalam tabung dan berhenti mengalir ketika sejumlah volume tertentu telah tercapai. Tabung penampung darah yang digunakan pada pemeriksaan hemostasis tabung tutup biru berisi antikoagulan Natrium sitrat 3,2% (Riswanto, 2013).

3) Holder

Holder adalah tabung silinder berbahan plastik yang berfungsi sebagai tempat atau pegangan jarum multi sampel, 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 elastis yang terbuat dari bahan latex atau vinyl 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 di daerah tersebut. Hal ini menyebabkan pembuluh darah membesar sehingga lebih mempermudah untuk menemukan vena dan menusuknya dengan jarum (Riswanto, 2013).

Obstruksi aliran darah dapat mengubah komponen darah jika *tourniquet* dibiarkan di tempat selama lebih dari 1 menit. Pembekatan yang lama dapat menyebabkan perpindahan cairan dari pembuluh darah ke jaringan, dampaknya adalah hemokonsentrasi serta mengakibatkan hasil uji yang salah. Oleh karena itu *tourniquet* harus mudah dipasang, dikencangkan dan mudah dilepaskan dengan satu tangan selama prosedur pengambilan darah atau dalam situasi darurat seperti ketika pasien mulai pingsan atau jarum tanpa sengaja mengenai punggung lengan selama pengambilan darah (Riswanto, 2013).

c. Penanganan Spesimen

1) Sentrifugasi

Centrifuge merupakan alat pemutar darah pada kecepatan putar (*revolution per minute*, rpm) tertentu. Gaya sentrifugal yang diciptakan menyebabkan pemisahan sel – sel dan plasma. Tabung harus tetap ditutup selama sentrifugasi untuk mencegah kontaminasi, penguapan, pembentukan aerosol (substansi yang dilepaskan dalam bentuk kabut halus) dan perubahan pH.

Sentrifugasi terhadap setiap spesimen hanya dilakukan sekali. Sentrifugasi berulang dapat menimbulkan risiko hemolisis dan perubahan analit yang dapat mempengaruhi hasil tes. Hal ini disebabkan karena mesin pemisah menghasilkan panas selama pengoperasian, spesimen yang memerlukan suhu dingin harus disentrifugasi dalam *refrigerated centrifuge* yang terkontrol suhunya. Spesimen untuk pemeriksaan yang memerlukan plasma ditampung dalam tabung berisi antikoagulan (misalnya Natrim sitrat) disentrifugasi tanpa penundaan waktu (Riswanto, 2013).

2) Pemisahan Alikuot

Plasma yang diperoleh setelah sentrifugasi sampel darah harus dipindahkan ke tabung alikuot menggunakan pipet. Spesimen dialirkan kedalam tabung alikuot dengan hati-hati untuk menghindari kemungkinan pembentukan aerosol atau percikan. Plasma dari spesimen dengan zat aditif (zat antikoagulan) yang berbeda tidak boleh ditempatkan dalam tabung alikuot yang sama (Riswanto, 2013).

2. Darah

Darah adalah jaringan ikat atau konektif berbentuk cair yang terdiri dari 4 unsur seluler yaitu sel-sel darah merah (eritrosit), sel-sel darah putih (leukosit), sel-sel darah pembeku atau keping darah (trombosit) dan cairan darah (plasma darah) (D'Hiru, 2013). Volume darah keseluruhan kira-kira

mencapai satu per dua belas berat badan atau kira-kira 5 liter. Sekitar 55% adalah cairan, sedangkan 45% sisanya terdiri atas sel darah (Pearce, 2009). Darah berfungsi menjaga tekanan osmosis antara darah dan jaringan–jaringan sel, menjaga keseimbangan asam basa dalam darah, mengatur suhu tubuh dan sebagai alat pertahanan terhadap serangan penyakit serta sebagai alat pengangkut utama (transportasi, distribusi dan sirkulasi) di dalam tubuh (D’Hiru, 2013).

Sel darah merah atau eritrosit berbentuk cakram bikonkaf, cekung pada kedua sisinya dan berdiameter 6,7 - 8,0 milimikron (Rata-rata 7,2 milimikron). Dalam 1 mm³ darah terdapat kira-kira 5 juta butir sel darah merah. Sel ini berwarna kuning tua tetapi dalam jumlah banyak terlihat berwarna merah (tergantung konsentrasi oksigennya). Strukturnya terdiri atas pembungkus luar atau stroma yang berisi massa hemoglobin. Pembuatan sel-sel darah merah (hematopoesis) terjadi di dalam sumsum tulang terutama dari 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 tahap mula-mula besar dan berinti (nukleus), tidak mengandung hemoglobin, kemudian dimuati hemoglobin dan akhirnya kehilangan intinya, barulah diedarkan dalam peredaran darah (D’Hiru, 2013).

Rata–rata masa hidup sel darah merah adalah 120 hari. Sel–sel darah merah menjadi rusak dan dihancurkan dalam sistem retikulum endotelium terutama dalam limfa dan hari. 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 heme direduksi menjadi biliverdin dan karbon monoksida (CO) (D’Hiru, 2013).

Ketika terjadi pendarahan, kita akan kehilangan sel darah merah beserta hemoglobinnya. Pada perdarahan sedang, sel–sel itu diganti dalam waktu beberapa minggu berikutnya. Tetapi bila kadar hemoglobin turun sampai 40%, maka diperlukan transfusi darah. Hemoglobin adalah protein yang kaya akan zat besi (Fe). Hemoglobin yang terikat dengan oksigen membentuk oksihemoglobin didalam sel darah merah. Jumlah hemoglobin darah normal adalah sekitar 15 gr 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) memiliki besar 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).

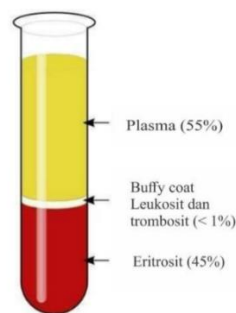
3. Plasma

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 men-*support* protein yang diperlukan untuk pembentukan jaringan, menyebarkan (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. Eritrosit berada di lapisan bawah (Riswanto, 2013)



Gambar 1. Komposisi Darah dengan Antikoagulan
Sumber: Kiswari, 2014.

4. Antikoagulan

Penambahan antikoagulan dilakukan 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 sitrat) dengan konsentrasi 3,2% adalah jenis antikoagulan yang direkomendasikan oleh *International Society for Thrombosis and Haematology* dan *College of American Pathologists* (CAP) untuk pemeriksaan hematologi dan koagulasi. Rasio perbandingan darah dan antikoagulan untuk pemeriksaan koagulasi yaitu 9:1 (Turgeon,

2018). Cara kerjanya yaitu dengan mengendapkan ion kalsium, sehingga menjadi bentuk yang tidak aktif (Kiswari, 2014).

Antikoagulan Natrium sitrat digunakan untuk pengujian 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 Natrium sitrat dapat dijumpai dalam bentuk tabung hampa udara (vakum) dengan tutup berwarna biru terang (Riswanto, 2013).

Mekanisme antikoagulan Natrium sitrat mampu mencegah pembekuan darah, menghilangkan dan mengikat kalsium melalui kompleks Kalsium sitrat, menghambat *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 Natrium sitrat konsentrasi tinggi menyebabkan *false prolonged coagulation time* (Tahono, dkk., 2012).



Gambar 2. Tabung dengan Antikoagulan Natrium sitrat 3,2%
Sumber : Turgeon, 2018.

5. Hemostasis

Hemostasis adalah suatu proses penghentian perdarahan secara spontan dari pembuluh darah yang mengalami kerusakan atau disebabkan putus dan robeknya pembuluh darah, sedangkan thrombosis terjadi ketika endotelium yang melapisi pembuluh darah mengalami kerusakan atau hilang. 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 pembuluh darah.

a. Sistem Vaskuler

Peran sistem vaskuler dalam mencegah perdarahan meliputi proses kontraksi pembuluh darah (vasokonstriksi) serta aktivasi trombosit dan pembekuan darah. Apabila pembuluh darah mengalami luka, akan terjadi vasokonstriksi yang mula-mula secara reflektoris dan kemudian akan dipertahankan oleh faktor lokal seperti 5-hidroksitriptamin (5-HT, serotonin) dan epinefrin. Vasokonstriksi akan menyebabkan pengurangan aliran darah pada daerah yang luka. Pada pembuluh darah kecil hal ini mungkin dapat menghentikan perdarahan,

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 dibawah endotel seperti serat kolagen, serat elastin dan membrana basalis terbuka sehingga terjadi aktivasi trombosit yang menyebabkan adhesi trombosit dan pembentukan sumbat trombosit. Bersamaan dengan hal tersebut terjadi juga 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, maka sel endotel akan rusak sehingga jaringan ikat dibawah endotel akan terbuka. Hal ini akan memulai terjadinya adhesi trombosit yaitu proses dimana 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. Faktor *von Willebrand's* (vWF) berfungsi sebagai jembatan antara trombosit dan jaringan subendotel. Selain melekat pada permukaan asing, trombosit akan melekat pada trombosit lain, proses ini disebut sebagai agregasi trombosit (Setiabudy, 2007).

c. Sistem Pembekuan Darah

Perdarahan dari pembuluh darah kecil dapat dihentikan oleh vasokonstriksi dan pembentukan plug trombosit, tetapi pembentukan gumpalan (thrombus) biasanya terjadi sebagai bagian dari proses normal hemostasis. Faktor pembekuan adalah komponen penting dalam pembentukan thrombus. Sel hati merupakan tempat utama dari sintesis faktor koagulasi. Selain itu, sel-sel lain seperti sel-sel endotel juga berperan penting dalam proses normal hemostasis dan thrombosis (Kiswari, 2014).

Pembekuan darah adalah suatu proses reaksi kimia yang melibatkan protein plasma, fosfolipid dan ion kalsium. Sebagian besar faktor yang beredar dalam sirkulasi darah berperan pada proses koagulasi yang diberi tanda dengan angka Romawi. Bentuk aktif dari faktor enzimatik tersebut ditandai dengan angka Romawi yang diikuti oleh akhiran-a. Penunjukkan angka Romawi tidak menunjukkan urutan pengisian reaksi dalam proses pembekuan. Berikut karakteristik berbagai faktor koagulasi (Kiswari, 2014):

- 1) Kelompok fibrinogen terdiri dari faktor I (fibrinogen), V (proakselerin), VIII (faktor antihemofilik) dan XIII (faktor penstabilisasi fibrin).
- 2) Kelompok prothrombin terdiri dari faktor II (prothrombin), VII (prokonvertin), IX (komponen tromboplastin) dan X (faktor stuart).

- 3) Kelompok kontak terdiri dari faktor XI (tromboplastin plasma), XII (faktor Hageman), prekallikrein (faktor Fletcher) dan *high molecule weight kininogen* (HMWK).

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* setiap faktor pembekuan darah diubah menjadi bentuk aktif oleh faktor sebelumnya dalam rangkaian enzimatik. 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).

Pembekuan akan 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. Sejumlah kecil trombin juga merangsang agregasi trombosit yang berguna untuk 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 dapat diaktifkan melalui dua jalur reaksi (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 kallikrein 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 mencetuskan sistem fibrinolitik dan kinin. Reaksi selanjutnya pada jalur intrinsik adalah aktivasi F.XI menjadi F.XIa oleh F.XIIa dengan HMWK sebagai kofaktor. F.XIa dengan adanya ion kalsium akan mengubah F.IX menjadi IXa. Reaksi terakhir pada jalur ini adalah reaksi non enzimatis antara F.IXa, PF.3, F.VIII dan ion kalsium membentuk kompleks yang

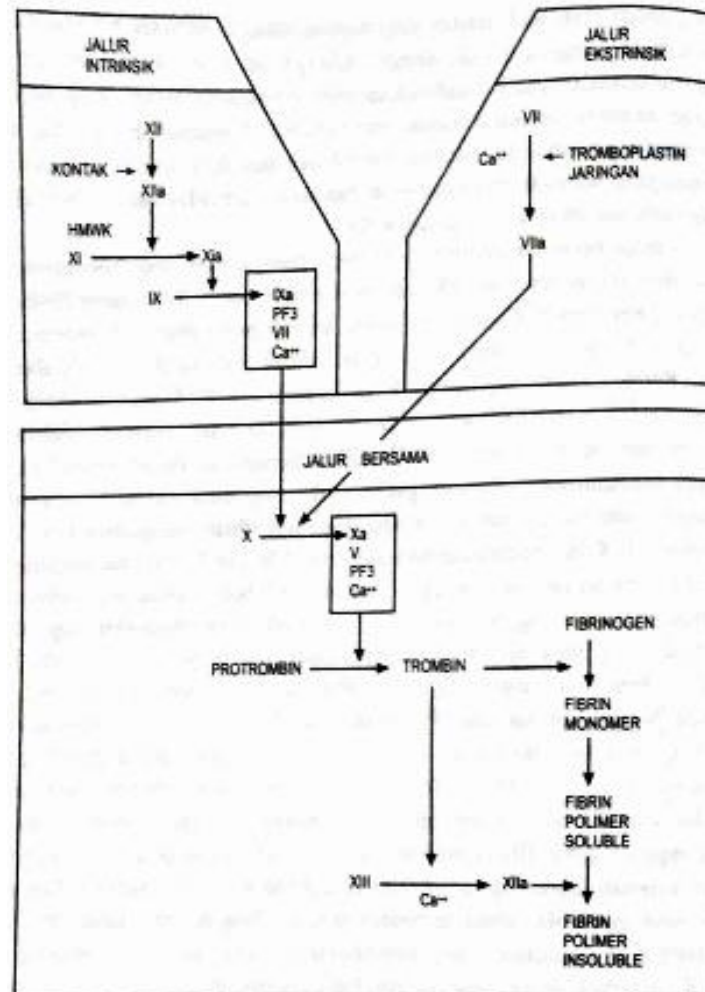
mengaktifkan F.X. Walaupun F.IXa dapat mengaktifkan F.X, tetapi dengan adanya PF.3, F.VIII dan ion kalsium maka reaksi ini akan dipercepat (Setiabudy, 2007)

Jalur ekstrinsik koagulasi merupakan jalur yang diawali oleh masuknya tromboplastin jaringan ke dalam sirkulasi darah. Tromboplastin jaringan merupakan substansi nonplasma yang mengandung kompleks lipoprotein jaringan. Tromboplastin jaringan berasal dari fosfolipoprotein dan membran organel dari sel-sel jaringan yang terganggu atau jenis jaringan yang mampu mengonversi prothrombin menjadi thrombin. Fosfolipid trombosit tidak diperlukan untuk aktivasi pada jalur ekstrinsik karena faktor jaringan mempunyai pasokan fosfolipid sendiri (Kiswari, 2014). Jalur ekstrinsik terdiri dari reaksi tunggal dimana F.VII akan diaktifkan menjadi F.VIIa dengan adanya ion kalsium dan tromboplastin jaringan yang dikeluarkan oleh pembuluh darah yang luka. Aktivasi F.VII menjadi F.VIIa terbukti dapat terjadi dengan adanya kallikrein. Hal ini membuktikan 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 (Setiabudy, 2007).

Fbrinogen terdiri dari 3 pasang rantai polipeptida yaitu 2 alfa, 2 beta dan 2 gama. Trombin akan memecah rantai ala 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 yan 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). Jalur koagulasi darah ditunjukkan pada gambar berikut :



Gambar 3. Jalur Koagulasi Darah
Sumber : Setiabudy, 2007.

6. Pemeriksaan PPT (*Plasma Prothrombin Time*)

a. Fisiologi

Prothrombin merupakan prekursor tidak aktif dalam proses pembekuan yang disintesis oleh hati. Prothrombin dikonversi menjadi trombin oleh tromboplastin yang diperlukan untuk membentuk bekuan darah. Pemeriksaan PPT digunakan untuk menguji pembekuan darah melalui jalur ekstrinsik yaitu faktor pembekuan I (fibrinogen), faktor II

(prothrombin), faktor V (proakselerin), faktor VII (prokonvertin) dan faktor X (stuart) (Riswanto, 2013).

Pemeriksaan PPT membutuhkan reagen tromboplastin jaringan dan ion kalsium. Reagen PPT berisi tromboplastin jaringan yang dilarutkan dalam CaCl_2 (Setiabudy, 2007). Bila reagen tersebut dimasukkan kedalam plasma sitrat, maka reagen ini akan merangsang pembekuan melalui jalur ekstrinsik dengan mengaktifkan faktor X secara langsung, tanpa melibatkan trombosit atau prokoagulan yang ada dalam jalur intrinsik. Plasma sedikitnya harus mengandung 100 mg/dL fibrinogen dan kadar faktor X, VII, V dan prothrombin secara adekuat untuk menghasilkan nilai PPT yang normal (Kiswari, 2014). *The Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI)* merekomendasikan bahwa 5 ml darah pertama sebaiknya digunakan untuk pemeriksaan lain yang bukan hemostasis karena 1 ml darah pertama dapat terkontaminasi oleh *tissue factor*.

Prinsip pemeriksaan ini adalah mengukur lamanya terbentuk bekuan bila ke dalam plasma yang diinkubasi pada suhu 37°C ditambahkan reagen tromboplastin jaringan dan ion kalsium. Hasil pemeriksaan ini dipengaruhi oleh kepekaan tromboplastin yang dipakai dan teknik pemeriksaan. Karena itu pemeriksaan ini selalu harus dilakukan duplo dan disertai kontrol dengan plasma normal (Setiabudy, 2007).

Pemeriksaan PPT juga sering dipakai untuk memantau efek pemberian antikoagulan oral. Perbedaan kepekaan reagen tromboplastin yang dipakai dan perbedaan cara pelaporan menimbulkan kesulitan bila pemantauan dikerjakan dilaboratorium yang berbeda-beda. Untuk mengatasi masalah tersebut ICTH (*International Committee on Thrombosis and Haemostasis*) dan ICSH (*International Committee for Standardization in Haematology*) menganjurkan supaya tromboplastin jaringan yang akan digunakan harus dikalibrasi terlebih dahulu terhadap tromboplastin rujukan untuk mendapatkan ISI (*International Sensitivity Index*). Juga dianjurkan agar hasil pemeriksaan PPT dilaporkan secara seragam dengan menggunakan INR (*International Normalized Ratio*), yaitu rasio yang dipangkatkan dengan ISI dari reagen tromboplastin yang digunakan (Setiabudy, 2007).

b. Nilai Rujukan

Hasil pemeriksaan yang dinyatakan dalam persen, nilainya kurang bermakna karena pengenceran yang terjadi pada prothrombin, faktor-faktor pembekuan lainnya dan dapat mengubah molaritas larutan. Penetapan hasil PPT sebaiknya dinyatakan dalam detik dan menyertakan hasilnya pada orang normal atau kontrol sebagai pembandingan (Kiswari, 2014). Nilai normal PPT adalah 11-14 detik (tergantung pada metode dan reagen yang digunakan), sedangkan pada

terapi antikoagulan, nilai PPT penderita 1,5-2,0 kali control normal. INR 2,0-3,0 (Riswanto, 2013).

c. Masalah Klinis

Hasil PPT yang memanjang disebabkan oleh kurangnya faktor-faktor pembekuan di jalur ekstrinsik dan bersama atau adanya inhibitor. Untuk membedakan hal ini, pemeriksaan diulang sekali lagi dengan menggunakan campuran plasma penderita dan plasma control dengan perbandingan 1:1. Bila ada inhibitor, masa prothrombin plasma tetap memanjang (Setiabudy, 2007). PPT memanjang dapat dijumpai pada penyakit hati (sirosis hati, hepatitis, abses hati, kanker hati, *jaundice*), afibrinogenemia, defisiensi faktor koagulasi (II, V, VII, X), *disseminated intravascular coagulation* (DIC), fibrinolysis, *hemorrhagic disease of the newborn* (HDN), gangguan reabsorpsi usus. PPT memendek dapat dijumpai pada tromboflebitis, infark miokardial, embolisme paru dan pengaruh obat-obatan tertentu (Riswanto, 2013).

6. *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).

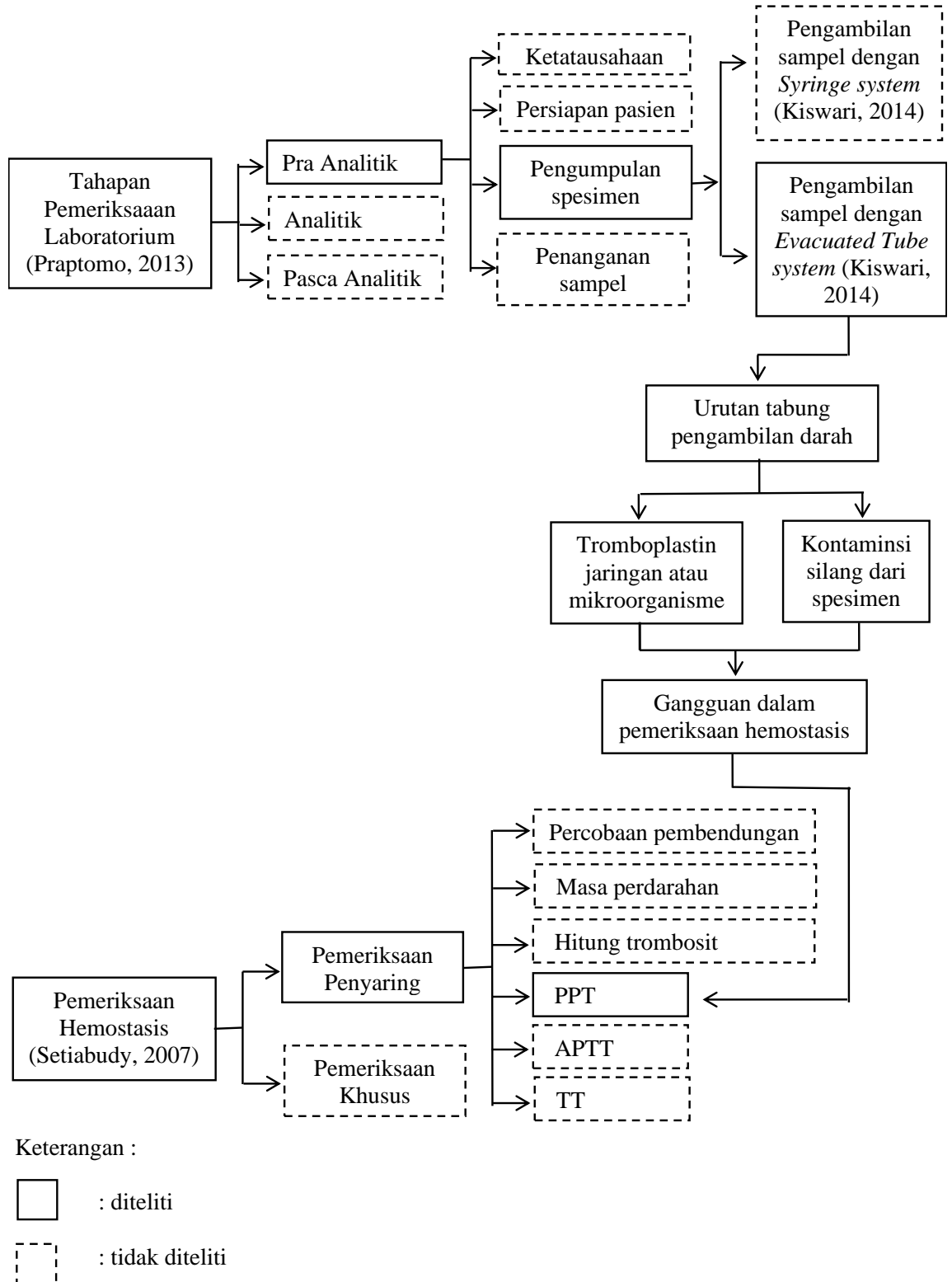
Metode yang digunakan oleh *coagulation analyzer* diantaranya deteksi mekanik, deteksi optik dan *amperometric detection*. Deteksi mekanik terdiri dari elektromekanis yang pengukurannya berdasarkan perubahan besaran arus oleh serat fibrin dan elektromagnetomekanis yaitu pengukuran yang dilakukan berdasarkan peningkatan viskositas plasma saat fibrin terbentuk (Mengko, 2013).

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

Prinsip deteksi optik yaitu campuran antara plasma dan reagen yang dipaparkan dengan cahaya dengan panjang gelombang 660 nm.

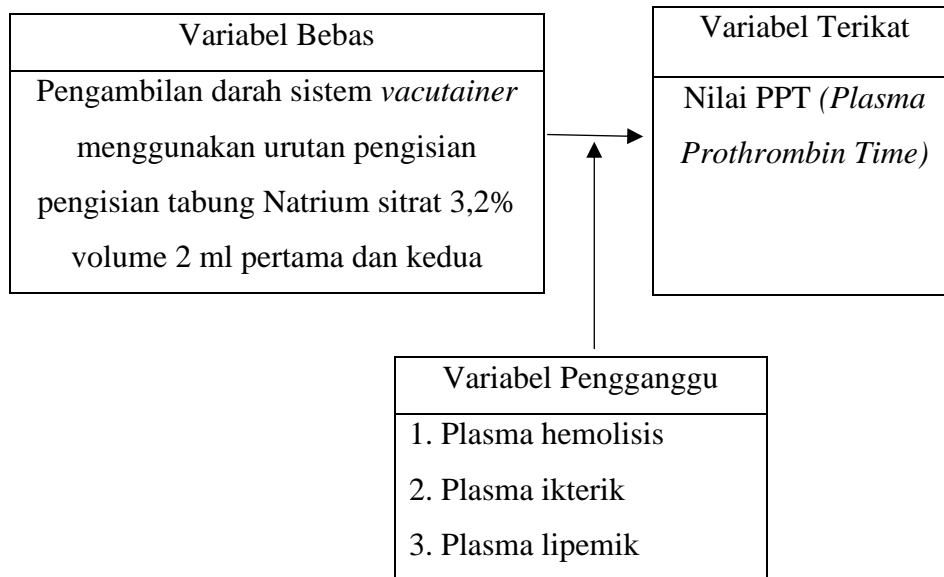
Selanjutnya kekeruhan darah selama proses koagulasi dideteksi sebagai perubahan pada intensitas cahaya yang terhambur. Perubahan intensitas ini digambarkan dengan kurva koagulasi hingga waktu koagulasi dapat ditemukan. Cahaya diemisikan oleh sumber cahaya mencapai campuran sampel dan reagen. Selanjutnya,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

B. Kerangka Teori



Gambar 4. Kerangka Teori

C. Hubungan Antar Variabel



Gambar 5. Hubungan Antar Variabel

D. Hipotesis

Ada perbedaan nilai PPT (*Plasma Prothrombin Time*) pada pengambilan darah sistem *vacutainer* menggunakan urutan pengisian tabung Natrium sitrat 3,2% volume 2 ml pertama dan kedua.