

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

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

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

Darah adalah suatu jaringan tubuh yang terdapat di dalam pembuluh darah yang berwarna merah. Warna merah pada darah dipengaruhi oleh banyaknya oksigen dan karbon dioksida di dalamnya. Darah kaya karbon dioksida berwarna merah tua (Syarifuddin, 2006). Darah kaya oksigen berwarna merah cerah (Watson, 2002). Darah adalah cairan tubuh yang berfungsi sebagai media transportasi oksigen, karbohidrat dan metabolit. Darah juga berfungsi untuk mengatur keseimbangan asam dan basa, mengatur suhu tubuh dengan cara konduksi (hantaran), membawa panas tubuh dari pusat produksi panas (hepar dan otot) untuk didistribusikan ke seluruh tubuh dan berfungsi sebagai pengaturan hormon dengan membawa dan mengantarkan kelenjar ke sasaran (Syarifuddin, 2002).

Darah manusia terbagi menjadi dua bagian, yaitu sel-sel darah dan plasma darah. Sel-sel darah meliputi sel darah merah (eritrosit), sel darah putih (leukosit) dan keping darah (trombosit). Sel-sel darah memiliki berbagai macam fungsi. Sel darah merah berfungsi untuk mengikat dan mendistribusikan oksigen dari paru-paru ke jaringan dan membawa karbon dioksida dari jaringan ke paru-paru (Syarifuddin, 2002). Sel darah putih berfungsi sebagai pertahanan tubuh melawan

zat asing dengan cara membunuh dan memakan zat asing yang masuk ke tubuh serta mengangkut zat lemak dari dinding usus melalui limpa terus ke pembuluh darah. Keping darah berfungsi dalam proses pembekuan darah (Syarifuddin, 2006). Plasma darah atau cairan darah adalah cairan jernih yang berwarna kekuningan (*straw-coloured*) (Watson, 2002). Plasma darah adalah bagian darah yang berfungsi sebagai media sirkulasi elemen-elemen darah yang membentuk sel darah merah, sel darah putih dan keping darah juga sebagai media transportasi bahan organik dan anorganik dari suatu organ atau jaringan tubuh. Plasma darah meliputi 91% air, 3% protein, 0,9% mineral dan 0,1% bahan organik. Plasma mengandung zat-zat, diantaranya fibrinogen, garam-garam mineral, protein darah, zat makanan, hormon dan antibodi/antitoksin (Syarifuddin, 2006).

## 2. Praanalitik Hematologi

Tahap praanalitik meliputi seluruh langkah yang harus dilakukan sebelum spesimen dapat dianalisis pada tahap analitik. Kemajuan teknologi mampu mengurangi jumlah kesalahan pada tahap analitik secara signifikan, sedangkan serangkaian penelitian menunjukkan bahwa kesalahan pengujian pada tahap praanalitik masih sebesar 32-75%. Beberapa sumber potensial kesalahan pada tahap praanalitik diantaranya jenis permintaan tes, kesalahan identifikasi sampel, penggunaan jenis antikoagulan dan perbandingan antikoagulan dengan darah yang tidak tepat serta spesimen yang tidak sesuai (Kiswari,

2014). Pencegahan kesalahan atau pengendalian kesalahan pada tahap praanalitik penting dilakukan, sehingga terdapat beberapa hal yang perlu diperhatikan pada pemeriksaan hemostasis, diantaranya adalah (Kiswari, 2014):

a. Variabel Pasien

Persiapan pasien untuk pengumpulan spesimen berupa perawatan dilakukan untuk meminimalkan faktor fisiologis yang berhubungan dengan kegiatan yang mungkin mempengaruhi hasil uji laboratorium. Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan diantaranya umur, ketinggian, dehidrasi, diet, variasi diurnal, terapi obat, olahraga, demam, jenis kelamin, ikterus, posisi, kehamilan, merokok, stres, suhu dan kelembapan (Kiswari, 2014).

b. Koleksi Spesimen dan Teknik Pelabelan

Koleksi spesimen darah dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya adalah penggunaan jarum suntik, penarikan plunger jarum suntik, penyemprotan spesimen darah ke dalam tabung, pengocokan atau homogenisasi spesimen darah, serta pengumpulan spesimen darah dilakukan sebelum alkohol kering. Selain itu, pengaplikasian torniquet dan volume pencampuran spesimen darah dengan antikoagulan pada tabung koleksi darah juga dapat mempengaruhi koleksi spesimen darah. Jika jarum suntik yang digunakan terlalu kecil, penarikan plunger jarum

suntik terlalu cepat, dilakukan penyemprotan spesimen darah ke dalam tabung, pengocokan atau homogenisasi spesimen terlalu kuat, serta pengumpulan spesimen darah dilakukan sebelum alkohol di daerah koleksi spesimen kering dapat menyebabkan hemolisis. Pengaplikasian torniquet yang lama dapat menyebabkan hemokonsentrasi dan kesalahan volume pencampuran darah dengan antikoagulan dapat mengakibatkan kegagalan untuk mencegah pembekuan darah sehingga bekuan kecil terbentuk dan menutup jalan atau mengganggu analisis otomatis (Kiswari, 2014).

Komputerisasi sistem informasi laboratorium digunakan untuk menghasilkan permintaan resmi dan label spesimen. Permintaan tes disediakan dengan sistem informasi tertulis atau komputerisasi medis, yang meliputi daftar tes yang tersedia, jenis spesimen yang dibutuhkan, metode pengumpulan spesimen, penggunaan tabung koleksi darah yang dibutuhkan, jumlah darah/cairan yang diperlukan, waktu penyelesaian, kadar normal, kode tes, biaya serta informasi diagnostik. Spesimen pemeriksaan laboratorium juga harus diberi label yang jelas. Label yang disertai *barcode* diterapkan setelah identifikasi pasien tepat dan setelah pengumpulan spesimen untuk menghindari kesalahan transkripsi tahap praanalitik (Kiswari, 2014).

c. Pengawet Spesimen dan Antikoagulan

Terdapat beberapa cara yang digunakan untuk mencegah pembekuan spesimen darah, yaitu menggunakan antikoagulan, defibrinisasi dan menggunakan peralatan yang dilapisi silikon. Diantara tiga cara tersebut, cara yang lazim digunakan adalah penggunaan antikoagulan. Hal ini dikarenakan cara tersebut lebih mudah dilakukan, lebih hemat waktu dan hasil pemeriksaan lebih akurat dibandingkan penggunaan kedua cara lainnya. Aktivitas zat antikoagulan pada prinsipnya adalah pengikatan atau pengendapan ion kalsium yang merupakan salah satu faktor pembekuan (faktor IV). Tanpa adanya kalsium maka pembekuan tidak terjadi dan akan menghambat pembentukan trombin. Jika pembentukan trombin terhambat, maka pembentukan bekuan fibrin juga terhambat.

Antikoagulan yang direkomendasikan untuk pemeriksaan pembekuan darah oleh *International Committee for Standardization in Haematology* (ICSH) dan *International Society for Thrombosis and Haematology* adalah natrium sitrat 3,2% (0,109M). Antikoagulan natrium sitrat bekerja dengan cara mengendapkan ion kalsium, sehingga menjadi bentuk yang tidak aktif (Kiswari, 2014).

#### d. Transportasi Spesimen

Transportasi spesimen berupa darah, urin, cairan tubuh dan spesimen jaringan merupakan hal yang penting untuk diperhatikan. Perlakuan terhadap spesimen darah harus diperhatikan untuk menghindari hemolisis. Spesimen harus dilindungi dari paparan atau kontak cahaya secara langsung yang dapat menyebabkan kerusakan analit tertentu. Stabilitas konstituen harus diketahui sebelum spesimen diangkut. Spesimen juga membutuhkan pendinginan yang harus dijaga pada suhu 2-10°C dan disimpan dalam wadah yang terisolasi apabila akan diangkut (Kiswari, 2014).

#### e. Pengolahan dan Penyimpanan Spesimen

Pengolahan spesimen terdiri dari tiga cakupan, yaitu prasentrifugasi, sentrifugasi dan pascasentrifugasi. Idealnya, seluruh pengujian spesimen dilakukan dalam waktu 45 menit sampai dengan 1 jam setelah spesimen dikumpulkan. Jika pengujian harus tertunda selama lebih dari 4 jam, maka serum atau plasma harus disimpan pada suhu 4-6°C. Spesimen darah yang telah dikumpulkan harus disentrifugasi setelah 1 jam pengumpulan. Pemilihan mesin *sentrifuge* harus memperhatikan kekuatan sentrifugal yang tertinggi, bukan kecepatan rotasi. Beberapa hal yang harus diperhatikan untuk menghindari kerusakan pada sentrifugasi atau spesimen adalah penempatan

posisi tabung spesimen dan keseimbangan tabung spesimen (Kiswari, 2014).

Konsentrasi konstituen darah pada spesimen dapat berubah selama penyimpanan spesimen. Hal tersebut dapat disebabkan oleh berbagai proses, diantaranya adsorpsi tabung kaca atau plastik, denaturasi protein, penguapan senyawa volatil, pergerakan air ke dalam sel yang mengakibatkan hemokonsentrasi dan aktivitas metabolisme sel darah. Penyimpanan spesimen bervariasi yaitu pada suhu kamar, selama pendinginan serta pembekuan (Kiswari, 2014).

### 3. Mekanisme Hemostasis

Hemostasis bertujuan untuk mencegah perdarahan yang tergantung pada beberapa komponen yaitu sistem vaskular, trombosit, faktor pembekuan darah, fibrinolisis dan perbaikan jaringan. Secara fungsional beberapa proses yang terlibat dalam hemostasis akibat cedera pembuluh darah kecil adalah konstriksi pembuluh darah (vasokonstriksi), pembentukan *plug* (sumbat) trombosit, kontak antara pembuluh darah yang rusak, keping darah, dan faktor koagulasi, perkembangan bekuan darah di sekitar cedera, dan fibrinolitik yaitu menghilangkan kelebihan bahan hemostatik selama membangun kembali keutuhan pembuluh darah (Kiswari, 2014). Hemostasis adalah mekanisme tubuh untuk menghentikan perdarahan secara spontan. Proses hemostasis meliputi tiga reaksi yaitu reaksi vaskuler

berupa vasokonstriksi pembuluh darah, reaksi seluler berupa pembentukan sumbat trombosit dan reaksi biokimiawi berupa pembentukan fibrin (Setiabudy, 2007). Tiga reaksi tersebut dijelaskan lebih rinci dalam tiga sistem dibawah ini:

a. Sistem vaskuler

Sistem vaskuler berperan untuk mencegah perdarahan yang meliputi proses kontraksi pembuluh darah (vasokonstriksi) serta aktivasi trombosit dan pembekuan darah. Apabila pembuluh darah mengalami luka, maka akan terjadi vasokonstriksi yang mula-mula secara reflektoris dan kemudian akan dipertahankan oleh faktor lokal seperti serotonin dan epinefrin. Vasokonstriksi akan menyebabkan pengurangan aliran darah pada daerah luka, sehingga perdarahan dapat dihentikan pada pembuluh darah kecil. Namun, perdarahan tidak dapat dihentikan pada pembuluh besar dikarenakan diperlukannya sistem lain untuk membantu proses pembekuan darah, yaitu sistem trombosit dan sistem pembekuan darah. Apabila pembuluh darah luka maka jaringan ikat seperti serat kolagen, serat elastin dan membran basalis akan terbuka sehingga trombosit teraktivasi yang menyebabkan adhesi trombosit dan pembentukan sumbat trombosit di daerah luka. Selain itu, faktor pembekuan darah berupa faktor jalur instrinsik dan faktor jalur ekstrinsik teraktivasi sehingga bekuan darah berupa fibrin terbentuk (Setiabudy, 2007).



b. Sistem trombosit

Trombosit atau keping darah berperan penting dalam hemostasis dikarenakan trombosit membentuk dan menstabilkan sumbat trombosit. Pembentukan sumbat trombosit terjadi melalui beberapa tahap, yaitu adhesi trombosit, agregasi trombosit dan reaksi pelepasan. Apabila pembuluh darah terluka, maka jaringan ikat di bawah endotel akan terbuka dan terjadi adhesi trombosit yang kemudian dilanjutkan agregasi trombosit (primer dan sekunder) serta reaksi pelepasan. Adhesi trombosit merupakan proses dimana trombosit melekat pada permukaan asing terutama serat kolagen. Adhesi trombosit sangat tergantung pada faktor yang berperan sebagai jembatan antara trombosit dengan jaringan subendotel yaitu faktor von Willebrand's (vWF) yang disintesis oleh sel endotel dan megakariosit. Agregasi trombosit adalah melekatnya trombosit dengan trombosit lainnya. Agregasi trombosit terdiri dari dua fase, yaitu agregasi trombosit primer yang bersifat *reversible* dan agregasi trombosit sekunder yang bersifat *irreversible*. Reaksi pelepasan merupakan reaksi dilepaskannya granula trombosit yang dapat dirangsang oleh zat agregator, seperti trombin, kolagen, epinefrin dan tromboksan A<sub>2</sub>. Substansi biologik yang dilepaskan tergantung dari zat agregatornya. Trombin dan kolagen menyebabkan pelepasan isi granula padat, granula alfa dan lisosom. Substansi biologik dari

granula padat adalah *Adenosine Diphosphate* (ADP), *Adenosine Triphosphate* (ATP), ion kalsium, serotonin, epinefrin dan norepinefrin. Substansi biologik dari granula alfa adalah fibrinogen, faktor von Willebrand's (vWF), faktor V, *platelet factor 4* (PF.4) dan beta tromboglobulin ( $\beta$ TG). Substansi biologik dari lisosom adalah bermacam-macam enzim hidrolase asam. Sumbat trombosit yang terbentuk masih *permeable* terhadap cairan, sehingga sumbat trombosit ini hanya dapat menutup luka pada pembuluh darah kecil, namun tidak dapat menutup luka pada pembuluh darah besar. Sumbat trombosit yang stabil dan mampu menghentikan perdarahan adalah pembentukan sumbat trombosit melalui pembentukan fibrin (Setiabudy, 2007).

c. Sistem pembekuan darah atau koagulasi 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 dalam angka romawi yang sesuai dengan urutan ditemukannya (Setiabudy, 2007). Bentuk aktif dari faktor enzimatik tersebut ditandai dengan angka romawi yang diikuti akhiran-a. Penunjukkan angka romawi tidak menunjukkan urutan reaksi dalam proses pembekuan (Kiswari, 2014). Faktor pembekuan disajikan pada tabel 1.

Tabel 1. Nomenklatur Faktor Pembekuan Darah

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

Sumber: Setiabudy, 2007.

Teori *cascade* atau *waterfall* yang dikemukakan oleh Mac Farlane, Davie dan Ratnoff merupakan teori yang banyak dianut untuk menerangkan proses pembekuan darah. Teori ini menjelaskan bahwa tiap faktor pembekuan darah diubah menjadi bentuk aktif oleh faktor sebelumnya dalam rangkaian reaksi enzimatik. Faktor pembekuan darah beredar dalam darah sebagai prekursor yang akan diubah selanjutnya menjadi enzim, sehingga faktor pembekuan mulanya bertindak sebagai substrat dan kemudian bertindak sebagai enzim (Setiabudy, 2007).

Rangkaian proses pembekuan darah dimulai melalui dua jalur, yaitu jalur intrinsik dan jalur ekstrinsik. Jalur instrinsik meliputi

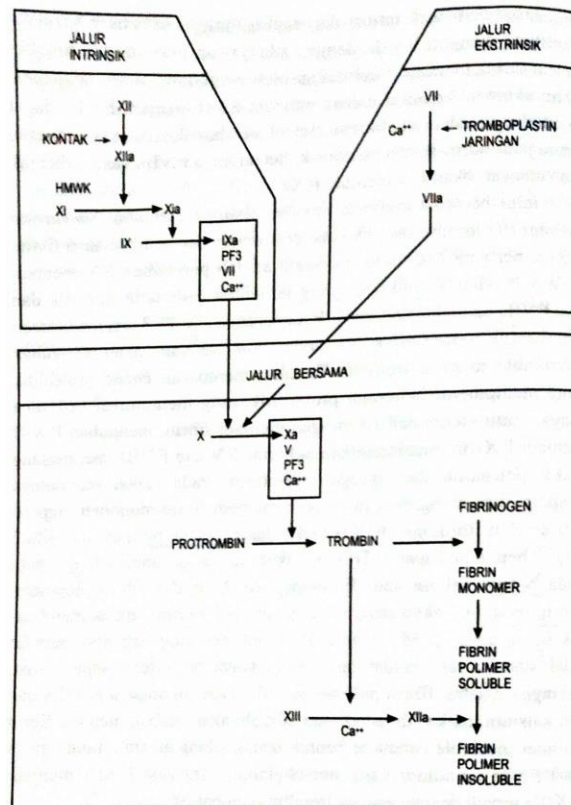
fase kontak dan pembentukan kompleks aktivator faktor X. Adanya kontak faktor XII dengan permukaan asing akan mengaktivasi faktor XII menjadi faktor XIIa. Adanya kofaktor HMWK menyebabkan faktor XIIa mengubah prekalikrein menjadi kalikrein yang akan meningkatkan aktivasi faktor XII selanjutnya dengan adanya kofaktor HMWK. Kalikrein akan mengaktifkan faktor VII menjadi faktor VIIa pada jalur ekstrinsik, mengaktifkan plasminogen menjadi plasmin pada sistem fibrinolitik, serta mengubah kininogen menjadi kinin yang berperan dalam reaksi inflamasi. Reaksi jalur intrinsik dilanjutkan dengan teraktivasinya faktor XI menjadi faktor XIa oleh faktor XIIa dengan HMWK sebagai kofaktor. Faktor XIa dengan adanya ion kalsium akan mengubah faktor IX menjadi faktor IXa. Reaksi terakhir pada jalur instrinsik adalah interaksi nonenzimatik antara faktor IXa, *platelet factor 3*, faktor VIII dan ion kalsium membentuk kompleks yang mengaktifkan faktor X lebih cepat (Setiabudy, 2007).

Jalur ekstrinsik terdiri dari reaksi tunggal dimana faktor VII diaktifkan menjadi faktor VIIa dengan adanya ion kalsium dan tromboplastin jaringan yang dikeluarkan dari pembuluh darah yang luka. Aktivasi faktor VII menjadi faktor VIIa juga dapat terjadi dengan adanya kalikrein yang membuktikan hubungan

jalur intrinsik dan jalur ekstrinsik. Faktor VIIa yang terbentuk akan mengaktifkan faktor X menjadi faktor Xa (Setiabudy, 2007).

Jalur bersama meliputi pembentukan *prothrombin converting complex* (protrombinase), aktivasi protrombin dan pembentukan fibrin. Reaksi pertama pada jalur bersama adalah perubahan faktor X menjadi faktor Xa oleh adanya kompleks yang terbentuk dari jalur intrinsik dan/atau faktor VIIa dari jalur ekstrinsik. Faktor Xa bersama faktor V, *platelet factor 3* dan ion kalsium membentuk *prothrombin converting complex* (protrombinase) yang akan mengubah protrombin menjadi trombin. Trombin merupakan enzim proteolitik yang berfungsi mengubah fibrinogen menjadi fibrin, mengubah faktor XIII menjadi faktor XIIIa, meningkatkan aktivitas faktor V dan faktor VIII, merangsang reaksi pelepasan dan agregasi trombosit. Pada reaksi berikutnya, trombin akan mengubah fibrinogen menjadi fibrin monomer dengan cara trombin memecah rantai alfa dan beta dari 3 pasang rantai polipeptida fibrinogen (meliputi 2 rantai alfa, 2 rantai beta dan 2 rantai gama) menjadi fibrinopeptida A, B dan fibrin monomer. Fibrin monomer akan mengalami polimerisasi untuk membentuk fibrin polimer yang bersifat tidak stabil atau fibrin polimer *soluble* karena bersifat mudah larut oleh adanya zat tertentu seperti urea. Adanya faktor XIIIa dan ion kalsium mengubah fibrin polimer *soluble* menjadi fibrin polimer *insoluble*

karena terbentuk ikatan silang antara 2 rantai gama dari fibrin monomer yang bersebelahan. Aktivasi faktor XIII menjadi faktor XIIIa terjadi dengan adanya trombin (Setiabudy, 2007). Mekanisme pembekuan darah disajikan pada gambar 1.



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

Mekanisme selanjutnya adalah mekanisme kontrol pembekuan darah. Trombin yang bertindak sebagai prokoagulan, menginduksi aktivasi trombosit dan agregasi. Trombin mengaktifkan kofaktor VIII menjadi VIIIa yang mengubah fibrinogen menjadi fibrin dan mengaktifkan faktor XIII menjadi XIIIa. Konversi protrombin menjadi trombin melalui autokatalis. Penghambatan koagulasi yang disebabkan oleh aktivitas trombin

adalah pengikatan antitrombin III (AT-III) untuk menghambat serin protease dan mengikat trombomodulin untuk mengaktifkan protein C. Aktivitas lain dari inhibitor pembekuan ini adalah mendukung pelepasan sel endotel dari *tissue plasminogen activator* (t-PA). Trombin memperantarai perbaikan jaringan dengan merangsang proliferasi otot polos dan sel endotel (Kiswari, 2014).

Fibrinolisis ialah proses fisiologis yang berfungsi untuk menghilangkan timbunan fibrin. Saat perbaikan jaringan telah selesai, maka gumpalan fibrin dan fibrinogen akan dilisiskan oleh plasmin dengan cara hidrolisis untuk diubah menjadi fragmen yang semakin kecil. Proses ini secara bertahap melarutkan bekuan saat perbaikan jaringan sedang berlangsung, dengan difagosit oleh sistem fagositik mononuklear. Pemusnahan gumpalan oleh plasmin terjadi tanpa proteolisis luas protein lainnya. Melalui lisis fibrin atau fibrinogen, plasmin bertanggung jawab untuk membentuk degradasi atau produk pemecahan fibrin terdiri dari fragmen X menengah dan Y serta fragmen D dan E. Fragmen ini mengerahkan efek antitrombin, menghambat sistem hemostasis melalui gangguan dengan fibrin monomer polimerisasi dan mengganggu agregasi trombosit (Kiswari, 2014).

#### 4. Pemeriksaan Hemostasis

Pemeriksaan hemostasis bertujuan untuk menegakkan diagnosa kelainan sistem pembekuan darah. Pemeriksaan hemostasis berfokus pada pengujian fungsi hemostasis dan pemantauan pengobatan atau pemantauan suatu penyakit. Pemeriksaan hemostasis ditujukan bagi penderita yang memiliki komplikasi perdarahan dan penderita dengan kelainan hemostasis. Pemeriksaan hemostasis dibagi menjadi dua, yaitu pemeriksaan rutin atau penyaring dan pemeriksaan khusus (Riswanto, 2013). Pemeriksaan penyaring hemostasis harus meliputi pemeriksaan vaskuler, trombosit dan koagulasi. Hal ini dikarenakan perdarahan diakibatkan oleh kelainan pembuluh darah, trombosit atau sistem pembekuan darah (Setiabudy, 2007).

Pemeriksaan rutin atau penyaring hemostasis meliputi pemeriksaan hitung trombosit (termasuk pemeriksaan apusan darah tepi), waktu perdarahan (*bleeding time*), waktu protrombin plasma (*Plasma Prothrombin Time*), waktu tromboplastin parsial teraktivasi (*Activated Partial Thromboplastin Time*) dan waktu trombin (*Trombin Time*). Beberapa fungsi pemeriksaan rutin atau penyaring adalah untuk mendeteksi kelainan trombosit melalui pemeriksaan hitung trombosit dan pemeriksaan waktu perdarahan, untuk mendeteksi kelainan pada sistem koagulasi jalur ekstrinsik melalui pemeriksaan waktu protrombin plasma, untuk mendeteksi kelainan pada sistem koagulasi jalur intrinsik kecuali faktor XIII dan trombosit melalui pemeriksaan



waktu tromboplastin parsial teraktivasi, serta untuk mendeteksi fungsi fibrinogen dan perubahan fibrinogen menjadi fibrin melalui pemeriksaan waktu trombin. Pemeriksaan khusus bertujuan untuk menguatkan hasil pemeriksaan penyaring, biasanya pemeriksaan membutuhkan waktu yang lama dan memiliki prosedur yang lebih rumit (Riswanto, 2013).

#### 5. Pemeriksaan Waktu Protrombin Plasma atau *Plasma Prothrombin Time* (PPT)

Waktu protrombin plasma atau *Plasma Prothrombin Time* (PPT) merupakan salah satu pemeriksaan penyaring hemostasis yang bertujuan untuk mendeteksi kelainan pada sistem koagulasi jalur ekstrinsik dan jalur bersama yang meliputi beberapa faktor koagulasi sebagai berikut, yaitu faktor I berupa fibrinogen, faktor II berupa protrombin, faktor V berupa proakselerin, faktor VII berupa prokonvertin dan faktor X berupa faktor Stuart. Reagen yang digunakan untuk pemeriksaan ini adalah tromboplastin jaringan dan kalsium terionisasi yang jika ditambahkan ke plasma sitrat maka reagen-reagen tersebut dapat menggantikan tromboplastin jaringan yang berfungsi mengaktifkan faktor X dengan keberadaan faktor VII tanpa melibatkan trombosit atau prokoagulan jalur intrinsik (Riswanto, 2013).

Hasil pemeriksaan waktu protrombin plasma atau *Plasma Prothrombin Time* (PPT) normal dapat diperoleh jika fibrinogen di

dalam plasma memenuhi kadar minimal yaitu 100 mg/dl dan kadar faktor II, V, VII dan X memadai. Perubahan kadar faktor V dan VII akan memperpanjang nilai pemeriksaan selama 2 detik atau 10% dari nilai normal. Selain itu, defisiensi faktor koagulasi ekstrinsik dan bersama dengan kadar <30% dapat memperpanjang waktu protrombin plasma atau *Plasma Prothrombin Time* (PPT). Protrombin yang tidak dapat disintesis oleh sel hati juga dapat menyebabkan hasil pemeriksaan memanjang. Hal ini dikarenakan protrombin yang akan dikonversi menjadi trombin oleh tromboplastin untuk membentuk bekuan darah tidak tersedia dengan kadar yang memadai di plasma (Riswanto, 2013).

Pemeriksaan waktu protrombin plasma atau *Plasma Prothrombin Time* (PPT) dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu cara manual dan cara elektronik. Cara manual dilakukan dengan teknik *tilt tube* yaitu dengan menggoyangkan tabung yang berisi campuran plasma dan reagen dengan interval waktu tertentu sampai terbentuk benang fibrin atau mengaduk campuran plasma dan reagen dalam tabung menggunakan ose bulat sampai tampak bekuan fibrin. Teknik ini memerlukan penggunaan *waterbath* dan *stopwatch*. Cara elektronik dilakukan dengan menggunakan koagulometer (*Coagulation analyzer*) yang bersifat semi otomatis atau *full automatic* dengan metode foto optikal atau elektromekanik. Metode foto optikal melalui pengukuran intensitas perpendaran cahaya menilai kekeruhan (*turbidity*) akibat

terbentuknya bekuan fibrin yang terjadi setelah plasma dicampur dengan reagen. Metode elektromekanik mendeteksi pembentukan bekuan fibrin di antara pergerakan elektroda. Reagen yang digunakan adalah kalsium tromboplastin yaitu tromboplastin jaringan yang dilarutkan dalam  $\text{CaCl}_2$  (Riswanto, 2013).

Prinsip pemeriksaan waktu protrombin plasma atau *Plasma Prothrombin Time* (PPT) adalah ion kalsium di dalam darah diikat dengan antikoagulan natrium sitrat untuk mencegah terjadinya pembekuan darah. Plasma sitrat yang terbentuk mengandung faktor-faktor koagulasi ekstrinsik kecuali kalsium. Saat tromboplastin jaringan ditambahkan ke plasma sitrat yang telah diinkubasi, maka akan terbentuk bekuan fibrin. Waktu yang diperlukan untuk terbentuknya bekuan dicatat sebagai waktu protrombin plasma atau *Plasma Prothrombin Time* (PPT) (Riswanto, 2013). Kepekaan tromboplastin dan teknik pemeriksaan yang digunakan sangat mempengaruhi hasil pemeriksaan waktu protrombin plasma atau *Plasma Prothrombin Time* (PPT), oleh sebab itu pemeriksaan waktu protrombin plasma atau *Plasma Prothrombin Time* (PPT) harus dilakukan berulang (duplo) dan disertai kontrol dengan plasma normal (Setiabudy, 2007).

Nilai normal waktu protrombin plasma atau *Plasma Prothrombin Time* (PPT) adalah 11-14 detik. Nilai rujukan tersebut tergantung pada metode, reagen, cara pemeriksaan dan alat yang digunakan dalam

pemeriksaan. Hasil pemeriksaan yang memanjang dapat disebabkan oleh penyakit hati (sirosis hati, hepatitis, abses hati, kanker hati, *jaundice*), afibrinogenemia, defisiensi faktor koagulasi II, V, VII dan X, *Disseminated Intravascular Coagulation* (DIC), fibrinolisis, *Hemorrhagic Disease of the Newborn* (HDN), gangguan reabsorpsi usus bahkan akibat pengaruh obat-obatan tertentu seperti terapi vitamin K antagonis, antibiotik, (penisilin, streptomisin, karbenisilin, kloramfenikol, kanamisin, neomisin, tetrasiklin), antikoagulan oral (warfarin, dikumarol), klorpromazin (thorazine), klordiazepoksid (librium), defenilhidantoin (dilantin), heparin, metildopa (aldomet), mitramisin, reserpin (serpasil), fenilbutazon (butazolidin), quinidin, salisilat (aspirin), sulfonamide. Hasil pemeriksaan yang memendek dapat disebabkan oleh tromboflebitis, infark miokardial, embolisme paru dan pengaruh beberapa obat tertentu seperti barbiturat, digitalis, diuretika, difenhidramin, (benadryl), kontrasepsi oral, rifampin, metaproterenol (alupent, metaprel) (Riswanto, 2013). Terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi pemeriksaan waktu protrombin plasma atau *Plasma Prothrombin Time* (PPT), yaitu (Riswanto, 2013):

- a. Sampel darah membeku akibat pengambilan tidak sekali tusuk kena, lambat bekerja atau pencampuran sampel dengan antikoagulan kurang sempurna
- b. Salah penggunaan antikoagulan, misal penggunaan antikoagulan *Ethylene Diamine Tetra-Acetat* (EDTA)

- c. Perbandingan darah dengan antikoagulan tidak sesuai, misal antikoagulan natrium sitrat berlebih atau darahnya kurang
- d. Sampel darah sitrat melebihi batas waktu penyimpanan maksimal yang dianjurkan
- e. Kesalahan teknis seperti suhu dan pemipetan tidak tepat.

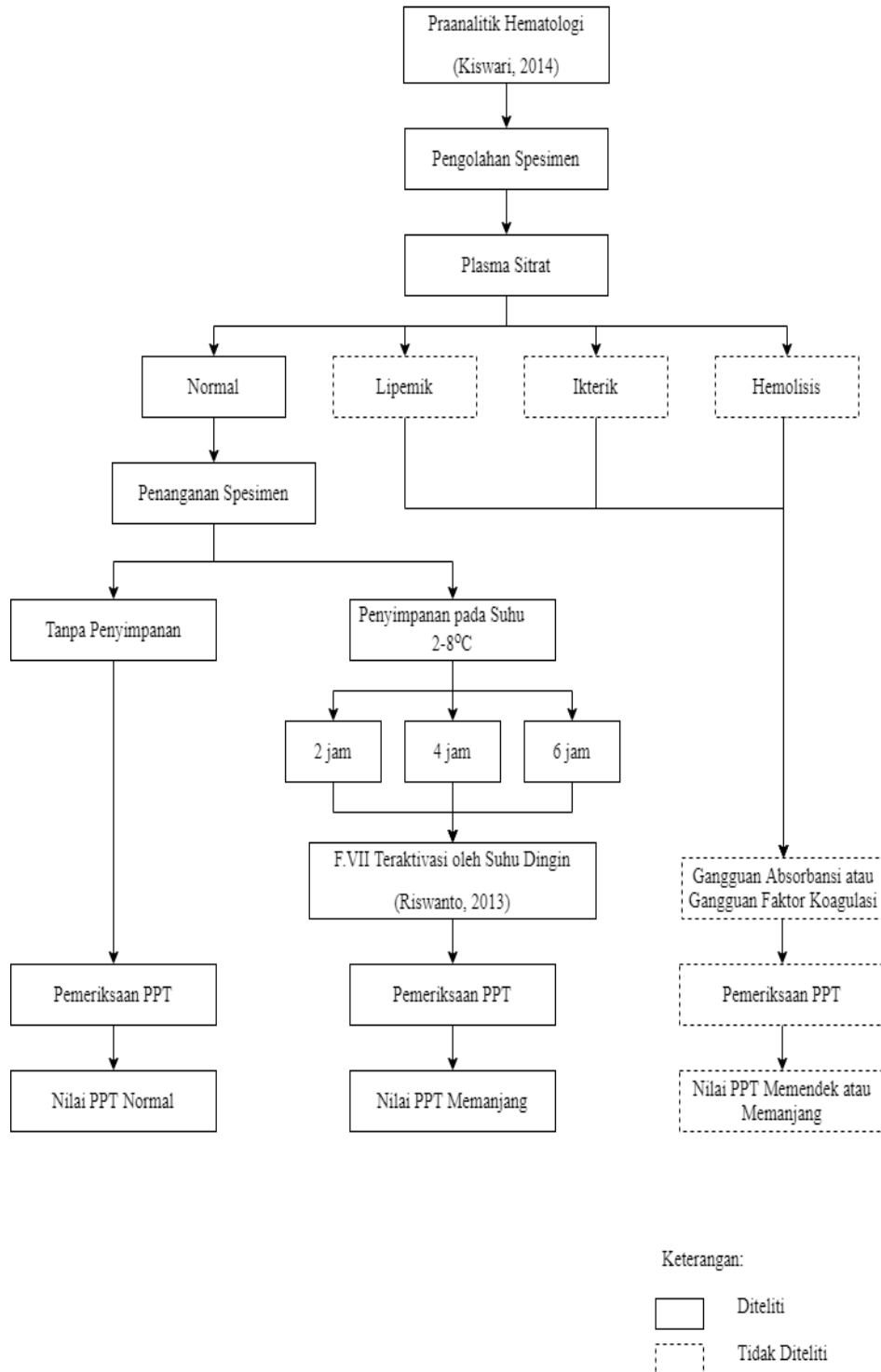
#### 6. Koagulometer (*Coagulation Analyzer*)

Koagulometer atau *coagulation analyzer* adalah alat yang digunakan untuk mengukur kuantitas faktor-faktor koagulasi yang berperan dalam proses hemostasis atau pembekuan darah. Koagulometer biasa digunakan untuk mendeteksi kelainan pada pembekuan darah dan juga untuk mengamati efek obat serta mengamati efek terapi komponen darah. Metode pengukuran alat ini adalah metode deteksi mekanik atau kimia dengan prinsip plasma darah diinkubasi dalam jumlah dan waktu tertentu, kemudian dicampur dengan reagen tertentu sehingga terjadi proses pembekuan yang dideteksi melalui terbentuknya fibrin (Mengko, 2013).

Beberapa metode yang digunakan dalam pengukuran menggunakan koagulometer atau *coagulation analyzer* adalah deteksi mekanik dan deteksi optik. Deteksi mekanik terbagi menjadi tiga, yaitu elektromekanis berupa pengukuran berdasarkan perubahan arus oleh serat fibrin, elektromagnetomekanis berupa pengukuran berdasarkan peningkatan viskositas plasma saat fibrin terbentuk serta *amperometric detection* berupa pengukuran elektrokimia dari

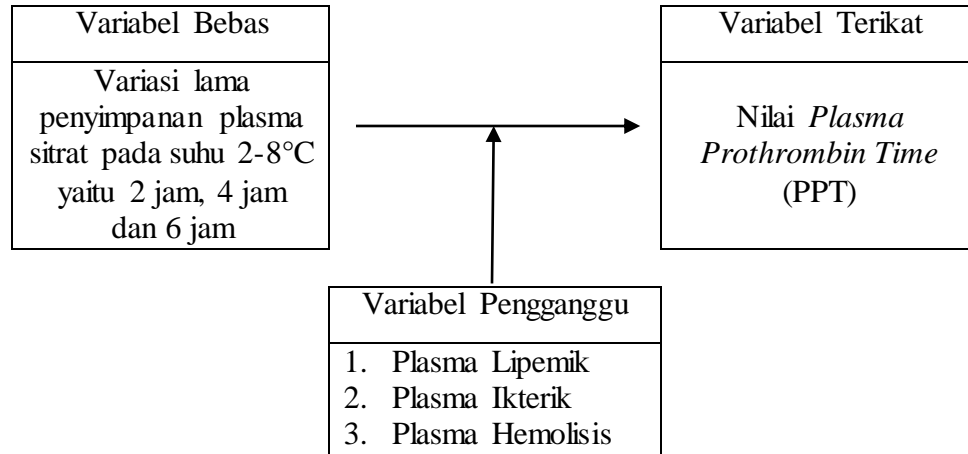
*prothrombin time* setelah aktivasi koagulasi darah dengan tromboplastin rekombinan dari manusia. Deteksi optik terbagi menjadi dua, yaitu fotooptis berupa pengukuran berdasarkan fenomena cahaya yang terhambur oleh formasi serat fibrin dan fotometrik berupa pengukuran berdasarkan absorbansi (densitas optik) dari cahaya monokromatik (menggunakan filter) yang melewati kuvet saat reaksi (Mengko, 2013).

## B. Kerangka Teori



Gambar 2. Kerangka Teori

### C. Hubungan antar variabel



Gambar 3. Hubungan Antar Variabel

### D. Hipotesis Penelitian

Ada pengaruh lama penyimpanan plasma sitrat pada suhu 2-8°C terhadap nilai *Plasma Protrombin Time* (PPT)