

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Hemostasis

Hemostasis adalah suatu mekanisme fisiologis atau mekanisme normal fungsi tubuh yang bertujuan untuk mempertahankan sistem sirkulasi darah sehingga darah tetap berada dalam sistem pembuluh darah dan tetap melakukan fungsinya di dalam tubuh. Saat pembuluh darah mengalami kerusakan akan terjadi proses penghentian perdarahan secara spontan (Durachim dan Astuti, 2018). Sistem yang berperan dalam hemostasis yaitu sistem vaskuler, trombosit, dan pembentukan darah (Setiabudy, 2009).

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, proses pertama kali adalah vasokonstriksi 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 (Setiabudy, 2009).

b. Sistem Trombosit

Trombosit mempunyai peran pembentukan dan stabilisasi sumbat trombosit dalam hemostasis. Pembentukan sumbat trombosit melalui tahap adhesi trombosit, agregasi trombosit, dan reaksi pelepasan. Apabila pembuluh darah luka, sel endotel akan rusak menyebabkan jaringan ikat dibahinya terbuka. Hal ini akan mengawali tahap adhesi trombosit yaitu proses trombosit melekat pada permukaan asing terutama kolagen (Setiabudy, 2009).

Selain melekat pada permukaan asing, trombosit akan melekat pada trombosit lain dan dikenal dengan proses agregasi trombosit. Agregasi yang terbentuk disebut agregasi trombosit primer dan bersifat reversibel. Trombosit pada agregasi primer akan mengeluarkan Adenosine diphosphate (ADP) sehingga terjadi agregasi trombosit sekunder yang bersifat irreversibel. Ion kalsium dan fibrinogen diperlukan untuk agregasi trombosit disamping ADP. Agregasi trombosit sekunder terjadi karena adanya pembentukan ikatan di antara fibrinogen yang melekat pada dinding trombosit dengan perantara ion kalsium. Mula-mula ADP akan terikat pada reseptornya di permukaan trombosit dan interaksi ini menyebabkan reseptor untuk fibrinogen terbuka sehingga memungkinkan ikatan antara fibrinogen dengan reseptor tersebut. Ion kalsium kemudian

akan menghubungkan fibrinogen tersebut sehingga terjadi agregasi trombosit (Setiabudy, 2009).

Selama proses agregasi, terjadi perubahan bentuk trombosit dari bentuk cakram menjadi bulat disertai pembentukan pseudopodi. Perubahan ini membuat granula trombosit terkumpul ditengah dan akhirnya akan melepaskan intinya. Proses ini disebut reaksi pelepasan dan memerlukan adanya energi. Zat agregator lain seperti trombin, kolagen, epiefrin dan TxA2 dapat menyebabkan reaksi pelepasan. Tergantung zat yang merangsang, akan dilepaskan bermacam-macam substansi biologik yang terdapat di dalam granula padat, alfa dan lisosom. Granula padat melepaskan ADP, ATP, ion kalsium, serotonin, epinefrin dan non-epinefrin. Granula alfa melepaskan fibrinogen, vWF, F.V, platelet factor 4(PF. 4), beta tromboglobulin (β TG). Sedangkan lisosom melepaskan bermacam-macam enzim hidrolase asam (Setiabudy, 2009).

Masa agregasi trombosit akan melekat pada endotel, sehingga terbentuk sumbat trombosit yang dapat menutup luka pada pembuluh darah. Tahap terakhir untuk menghentikan perdarahan adalah pembentukan sumbat trombosit yang stabil melalui pembentukan fibrin (Setiabudy, 2009).

c. Sistem Pembekuan Darah

Proses pembekuan darah terdiri dari rangkaian reaksi enzimatik yang melibatkan protein plasma yang disebut faktor pembekuan darah, fosfolipid, dan ion kalsium. Faktor pembekuan darah dinyatakan dengan urutan angka Romawi (Setiabudy, 2009). Nomenclature faktor pembekuan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Nomenclature Faktor Pembekuan Darah

Faktor	Nama	Sinonim
I	Fibrinogen	-
II	Prothrombin	-
III	Tissue factor	Tissue Thromboplastin
IV	Ion kalsium	-
V	Proaccelerin	Labile factor
VI	-	-
VII	Proconvertin	Stable factor
VIII	Antihemophilic factor (AHF)	Antihemophilic globulin (AHG)
IX	Plasma Thromboplastin Component (PTC)	Christmas factor
X	Stuart factor	Power factor
XI	Plasma Thromboplastin Antecedent (PTA)	Antihemophilic factor C
XII	Hageman factor	Contact factor
XIII	Fibrin Stabilizing Factor (FSF)	Fibrinase Laki Iorand factor
-	High Molecular Weight Kininogen (HMWK)	Fitzgerald factor
-	Pre Kallikrein	Flecher factor

Sumber: Setiabudy, 2009.

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

1) Faktor I (Fibrinogen)

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

2) Faktor II (Protrombin)

Protrombin adalah protein yang stabil (berat molekul 63.000). Protrombin memiliki waktu paruh hampir 3 hari dan digunakan kira-kira 70% selama pembekuan. Protrombin diubah menjadi trombin oleh aksi enzimatis tromboplastin dari kedua jalur ekstrinsik dan intrinsik dengan dipengaruhi kalsium terionisasi. Trombin (berat molekul 40.000) adalah bentuk aktif dari protrombin, yang biasanya ditemukan sebagai prekursor dalam sirkulasi. Sejumlah besar trombin digunakan selama proses konversi fibrinogen menjadi fibrin.

3) Faktor III (Tromboplastin Jaringan)

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

otak, paru-paru, endotel pembuluh darah, hati, plasenta, atau ginjal.

4) Faktor IV (Ion Kalsium)

Kalsium terionisasi adalah istilah untuk menggantikan faktor IV. Kalsium terionisasi adalah bentuk fisiologis aktif dari kalsium. Kalsium terionisasi diperlukan untuk aktivasi tromboplastin dan untuk konversi protombin menjadi trombin.

5) Faktor V (Proaccelerin)

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

6) Faktor VII (Proconvertin)

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

7) Faktor VIII (Faktor Antihemofilik)

Faktor ini adalah reaktan pada fase akut, digunakan selama proses pembekuan dan tidak ditemukan dalam serum. Faktor VIII sangat labil dan berkurang sebanyak 50% dalam 12 jam pada suhu 4° C *in vitro*.

8) Faktor IX (Plasma Thromboplastin Component)

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

9) Faktor X (Stuart Factor)

Merupakan alfa-globulin, faktor yang relatif stabil. Bersama dengan faktor V, faktor X bereaksi dengan ion kalsium membentuk jalur akhir yang umum di mana produk-produk dari kedua jalur ekstrinsik dan intrinsik yang menghasilkan tromboplastin bergabung untuk membentuk tromboplastin akhir yang mengubah protrombin menjadi trombin. Aktivitas faktor X tampaknya terkait dengan faktor VII.

10) Faktor XI (Tromboplastin Plasma)

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

11) Faktor XII (Faktor Hageman)

Faktor XII merupakan faktor yang stabil. Adsorpsi faktor XII dan kininogen (dengan prekallikrein terikat dan faktor XI) pada

permukaan pembuluh darah yang cedera akan memulai koagulasi dalam jalur intrinsik. Kallikrein (diaktifkan faktor Fletcher) memotong sebagian aktivitas molekul XIIa untuk menghasilkan bentuk yang lebih kinetik efektif XIIa karena mekanisme umpan balik.

12) Faktor XIII (Fibrin-Stabilizing Factor)

Faktor ini bersama kalsium terionisasi menghasilkan bekuan fibrin yang stabil.

Menurut teori *cascade* atau *waterfall* oleh Mac Farlane, Davie, dan Ratnoff, tiap faktor pembekuan darah diubah menjadi bentuk aktif oleh faktor sebelumnya dalam rangkaian reaksi enzimatik. Faktor pembekuan muta-mula bertindak sebagai substrat dan kemudian sebagai enzim. Faktor pembekuan beredar dalam darah sebagai prekursor yang akan diubah menjadi enzim apabila diaktifkan. Enzim ini akan mengubah prekursor selanjutnya menjadi enzim (Setiabudy, 2009).

Proses pembekuan darah dimulai melalui dua jalur, yaitu jalur intrinsik dan jalur ekstrinsik. Jalur intrinsik dicetuskan oleh aktivasi kontak dan melibatkan F.XII, F.XI, F.IX, F.VIII, HMWK, PK, platelet faktir 3 (PF3), dan ion kalsium. Sedangkan jalur ekstrinsik dicetuskan oleh tromboplastin jaringan dan melibatkan F.VII dan ion kalsium.

Kedua jalur ini kemudian bergabung menjadi jalur bersama yang melibatkan F.X, F.V, PF.3, protrombin, dan fibrinogen (Setiabudy, 2009).

1) Jalur intrinsik

Jalur intrinsik meliputi fase kontak dan pembentukan kompleks aktivator F.X. Kontak antara F.XII dengan permukaan asing seperti serat kolagen akan menyebabkan aktivasi F.XII menjadi F.XIIa. Dengan adanya kofaktor HMWK, F.XIIa akan mengubah prekalikrein menjadi kalikrein yang akan meningkatkan aktivasi F.XII. Kalikrein akan mengaktifkan F.VII menjadi F.VIIa pada jalur ekstrinsik, mengaktifkan plasminogen menjadi plasmin pada sistem fibrinolitik, serta mengubah kininogen menjadi kinin yang berperan dalam reaksi inflamasi. Reaksi selanjutnya pada jalur intrinsik adalah aktivasi F.XI menjadi F.XIa oleh F.XIIa dengan HMWK sebagai kofaktor. F.XIa dengan ion kalsium akan mengubah F.IX menjadi F.IXa. Reaksi terakhir pada jalur intrinsik adalah interaksi non enzimatis antara F.IXa, PF.3, F.VIII, dan ion kalsium membentuk kompleks yang mengaktifkan F.X. PF.3, F.VIII, dan ion kalsium akan mempercepat reaksi ini meskipun F.IXa dapat mengaktifkan F.X (Setiabudy, 2009).

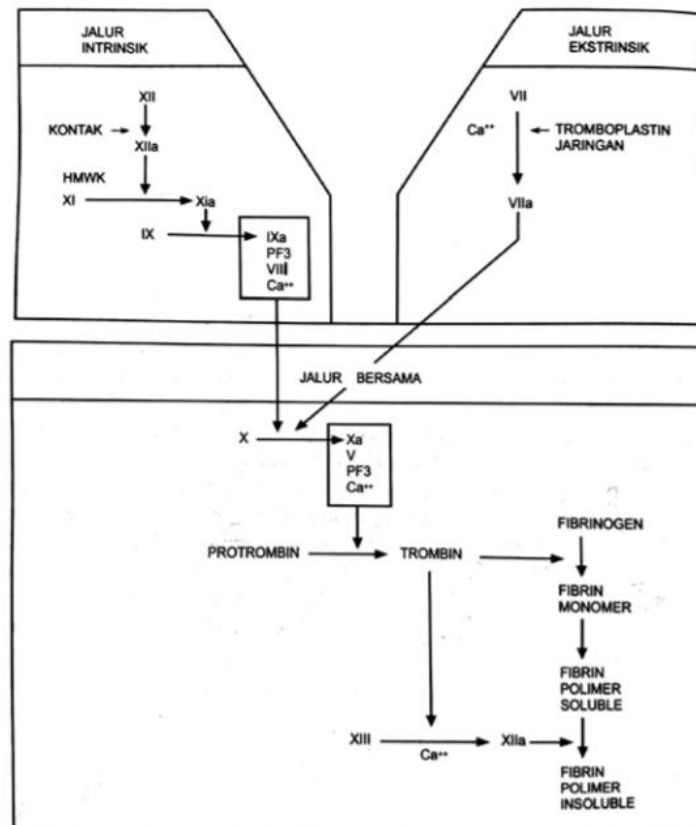
2) Jalur ekstrinsik

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 dapat juga terjadi dengan adanya kalikrein, hal ini membuktikan adanya hubungan antara jalur instrinsik dan ekstrinsik. Selanjutnya F.VIIa yang terbentuk akan mengaktifkan F.X menjadi F.Xa (Setiabudy, 2009).

3) Jalur bersama

Jalur bersama meliputi pembentukan *prothrombin converting complex* (protrombinase), aktivasi protrombin, dan pembentukan fibrin. Reaksi pertama pada jalur bersama adalah perubahan F.X menjadi F.Xa oleh adanya kompleks yang terbentuk pada jalur intrinsik dan atau F.VIIa dari jalur ekstrinsik. F.Xa bersama F.V, PF.3 dan ion kalsium membentuk *prothrombin converting complex* yang akan mengubah protrombin menjadi trombin. Trombin merupakan enzim proteolitik yang mempunyai beberapa fungsi yaitu mengubah fibrinogen menjadi fibrin, mengubah F.XIII menjadi F.XIIIa, meningkatkan aktivasi F.V dan F.VIII, merangsang reaksi pelepasan dan agregasi trombosit.

Reaksi selanjutnya yaitu trombin akan mengubah fibrinogen menjadi fibrin monomer. Fibrinogen terdiri dari 3 pasang rantai polipeptida yaitu 2 alfa, 2 beta dan 2 gama. Trombin akan memecah rantai alfa dan beta pada N-terminal menjadi fibriopeptida A, B, dan fibrin monomer. Fibrin monomer akan segera mengalami polimerisasi untuk membentuk fibrin polimer. Fibrin polimer mula-mula bersifat tidak stabil karena mudah larut oleh adanya zat tertentu seperti urea, sehingga disebut fibrin polimer soluble. Fibrin polimer soluble akan diubah menjadi fibrin polimer insoluble karena terbentuk ikatan silang antara 2 rantai gama dari fibrin monomer yang bersebelahan dengan adanya F.XIIIa dan ion kalsium. Aktivasi F.XIII menjadi F.XIIIa terjadi dengan adanya trombin. Skema pembekuan darah terdapat pada Gambar 1 (Setiabudy, 2009).



Gambar 1. Skema Pembekuan Darah
Sumber: Setiabudy, 2009.

2. Praanalitik Hemostasis

Istilah praanalitik menggambarkan semua tindakan dan aspek prosedur diagnostik laboratorium medis yang terjadi sebelum fase analisis (Guder, 2014). Tahap praanalitik dapat memberikan kontribusi kesalahan sekitar 46-68% dari total kesalahan laboratorium (Cornes dkk., 2016). Faktor-faktor praanalitik mencakup yang terkait dengan variabel pasien, koleksi, transportasi, pengolahan, penyimpanan dan pengawetan, serta penolakan spesimen (Kiswari, 2014).

a. Variabel Pasien

Faktor fisiologis pasien dapat mempengaruhi hasil uji laboratorium sehingga perlu dipersiapkan untuk meminimalisir faktor pengganggu. Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan diantaranya umur, ketinggian, dehidrasi, diet, variasi diurnal, terapi obat, olahraga, demam, jenis kelamin, ikterus, posisi tubuh, kehamilan, kelembapan, suhu, merokok, stres, dan lain-lain (Kiswari, 2014).

b. Variabel Koleksi Spesimen

Spesimen merupakan bahan dari manusia berupa cairan tubuh, swab (olesan), kerokan, tinja (*faeces*), dahak (sputum), jaringan/organ, dan sebagainya yang diperoleh dengan cara tertentu untuk diperiksa/diuji di laboratorium. Pemeriksaan hemostasis memerlukan spesimen berupa cairan tubuh yaitu darah. Teknik yang digunakan untuk memperoleh spesimen darah disebut dengan flebotomi (*phlebotomy*) (Riswanto, 2013). Menurut McCraw A, dkk tahun 2010 dalam (Magnette dkk., 2016), flebotomi (*phlebotomy*) adalah tindakan menusuk vena untuk tujuan pengambilan darah dan merupakan salah satu bagian paling kritis dari seluruh tahap praanalitik. Salah satu teknik flebotomi yang sering dilakukan adalah pengambilan darah vena (*venipuncture*). Metode pengambilan darah

meliputi tusukan vena (*venipuncture*), tusukan kulit (*skin/dermal/capillary puncture*), dan tusukan arteri (pembuluh nadi). *Venipuncture* merupakan cara pengambilan darah yang paling umum digunakan. Jenis spesimen untuk pemeriksaan hematologi berupa darah yang berasal dari pembuluh vena atau kapiler (Riswanto, 2013).

Darah merupakan komponen esensial makhluk hidup yang berfungsi sebagai pembawa oksigen, mekanisme pertahanan tubuh terhadap infeksi, dan mekanisme hemostasis. Komponen utama darah yaitu plasma darah dan butir-butir darah. Plasma darah merupakan bagian cair darah yang sebagian besar terdiri atas air, elektrolit, dan protein darah. Plasma darah dikurangi protein pembekuan darah disebut serum. Sedangkan butir-butir darah terdiri atas eritrosit, leukosit, dan trombosit (Bakta, 2006).

Eritrosit mempunyai jumlah yang paling banyak dibandingkan sel-sel yang lain. Sebagian besar sitoplasma pada eritrosit mengandung zat besi (Fe) sehingga dapat mengikat oksigen (O₂). Fungsi utama eritrosit adalah untuk pertukaran gas (Kiswari, 2014).

Leukosit dibagi menjadi granulosit (mempunyai granula khas) dan agranulosit (tidak mempunyai granula khas). Granulosit terdiri dari neutrofil, eosinofil, dan basofil, sedangkan agranulosit terdiri dari limfosit dan monosit. Apabila terjadi peradangan pada jaringan tubuh,

leukosit akan bermigrasi dengan cara menembus dinding pembuluh darah kapiler (Kiswari, 2014).

Trombosit tidak mempunyai inti sel, tetapi mempunyai sitoplasma yang berwarna biru dengan granula ungu-kemerahan. Granula trombosit mengandung faktor pembekuan darah, adenosin difosfat (ADP) dan adenosin trifosfat (ATP), kalsium, serotonin, dan katekolamin. Sebagian besar diantaranya berperan dalam merangsang mulainya pembekuan darah. Trombosit merupakan sel darah yang berperan penting dalam hemostasis dengan cara melekat pada lapisan endotel pembuluh darah yang luka dengan membentuk *plug* trombosit (Kiswari, 2014).

Sampel darah harus dikumpulkan pada waktu tertentu sesuai dengan pemeriksaan yang akan dilakukan. Kegagalan mengikuti jadwal waktu yang direncanakan dapat menyebabkan hasil yang keliru dan salah tafsir kondisi pasien (Kiswari, 2014). Sampel koagulasi sebaiknya dikumpulkan sebelum sampel uji lain diambil, seperti sampel dengan antikoagulan asam etilendiamintetraasetat (EDTA) dan litium-heparin, karena bahan ini dapat mencemari sampel uji koagulasi (Favaloro dkk., 2012). Pemeriksaan koagulasi sebaiknya menggunakan tabung dengan antikoagulan Natrium sitrat 3,2% (0,109 M) dengan perbandingan 9 bagian darah dan 1 bagian

Natrium sitrat, dianjurkan juga untuk memakai tabung urutan kedua untuk menghindari kontaminasi tromboplastin jaringan (Setiabudy, 2009).

c. Transportasi Spesimen

Menurut *Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI)*, transportasi sampel dilakukan dengan kondisi yang tidak didinginkan atau pada suhu kamar dalam waktu sesingkat mungkin. Sampel darah disimpan dalam suhu ruang untuk menghindari aktivasi dingin faktor VII dan gangguan trombosit, terutama dalam pemantauan antikoagulan (Polack dkk., 2001). Keterlambatan dalam transportasi dapat mempengaruhi khususnya faktor labil (FV, FVIII), menyebabkan waktu pembekuan yang berkepanjangan dan hilangnya aktivitas faktor in vitro (Favaloro dkk., 2012).

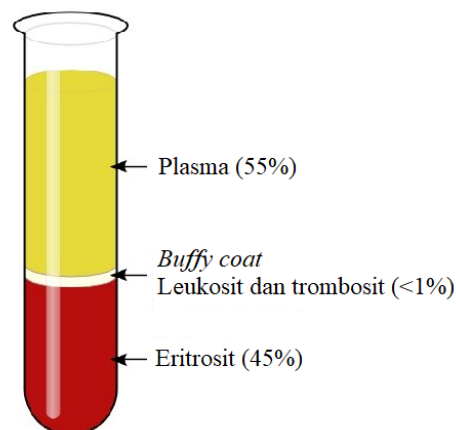
d. Pengolahan Spesimen

Waktu yang ideal untuk pengolahan sampel adalah 45 menit sampai 1 jam setelah pengumpulan (Kiswari, 2014). Sebagian besar sampel pemeriksaan koagulasi di-*sentrifuge* untuk memperoleh plasma (Favaloro dkk., 2012).

Sampel untuk pemeriksaan hemostasis yaitu plasma sitrat. Plasma didefinisikan sebagai bagian cair dari darah yang diberi antikoagulan (anti pembekuan darah). Darah yang ditambahkan

antikoagulan tidak akan terjadi pembekuan, apabila didiamkan beberapa menit atau setelah disentrifugasi akan terpisah menjadi tiga bagian, yaitu

- 1) Plasma: berada di lapisan paling atas, berupa cairan berwarna kuning
- 2) *Buffy coat*: berada di lapisan tengah dan tipis, merupakan lapisan sel leukosit dan trombosit
- 3) Eritrosit: berada di lapisan paling bawah. Komposisi darah dengan antikoagulan terdapat pada Gambar 2 (Kiswari, 2014).



Gambar 2. Darah dengan Antikoagulan
Sumber: Kiswari, 2014.

Plasma darah berperan dalam mendukung protein yang diperlukan untuk pembentukan jaringan, mendistribusikan cairan nutrisi sehingga semua sel tubuh menerima kebutuhan esensial, dan mentransportasikan bahan buangan (sisa metabolisme) ke berbagai

organ pengeluaran untuk dibuang. Protein dalam plasma darah diantaranya terdiri atas:

- 1) Antihemofilik, berguna untuk mencegah anemia
- 2) Tromboplastin, protrombin, dan fibrinogen, berguna dalam proses pembekuan darah (faktor pembekuan darah)
- 3) Albumin, berguna dalam pemeliharaan tekanan osmosis darah
- 4) Gammaglobulin, berguna dalam senyawa antibodi (D'Hiru, 2013).

Penambahan antikoagulan merupakan salah satu cara yang dilakukan agar spesimen darah tidak membeku selain cara defibrinasi (mengaduk-aduk sampel dengan butiran kaca) dan menggunakan peralatan yang dilapisi silikon. Penambahan antikoagulan dipilih karena lebih mudah dilakukan, lebih hemat waktu, dan hasil lebih akurat. Jenis antikoagulan yang dipilih disesuaikan dengan pemeriksaan. Antikoagulan yang biasa dipakai adalah Etilen Diamin Tetra Asetat (K_3EDTA), Natrium sitrat (*sodium citrate*), Oksalat, Heparin, Asam Citrate Dextrose (ACD), dan Sodium Polinetol Sulfonat (SPS) (Kiswari, 2014).

Antikoagulan yang digunakan dalam pemeriksaan hemostasis adalah Natrium sitrat konsentrasi 3,2% sesuai rekomendasi *International Committee for Standardization in Haematology (ICSH)*

dan *International Society for Thrombosis and Haematology* (Polack dkk., 2001). Antikoagulan berperan sebagai zat yang mencegah terjadinya penggumpalan darah dengan cara mengikat kalsium atau menghambat pembentukan trombin yang diperlukan untuk mengubah fibrinogen menjadi fibrin. Dasar penggunaan antikoagulan yaitu mencegah pembekuan darah dengan menghambat fungsi beberapa faktor pembekuan darah (Tahono dkk., 2012). Secara komersial tabung sitrat ditemukan dalam bentuk tabung hampa udara (vakum) dengan tutup berwarna biru terang (Riswanto, 2013).

e. Penyimpanan dan Pengawetan Spesimen

Selama proses penyimpanan dalam waktu yang singkat, sampel harus tetap tertutup dan berada dalam suhu kamar. Batas waktu penyimpanan disesuaikan dengan suhu, jenis antikoagulan, dan jenis pemeriksaan. Penundaan pemeriksaan dapat mempengaruhi hasil koagulasi, diantaranya nilai *Plasma Prothrombin Time* (PPT) dan *Activated Partial Thromboplastin Time* (APTT) memanjang, serta perubahan fibrinogen dan faktor koagulasi lain. Apabila perlu penundaan pemeriksaan, disimpan dalam bentuk plasma di suhu $20\pm 5^{\circ}\text{C}$ hingga 4 jam (Riswanto, 2013) atau $4-6^{\circ}\text{C}$ hingga lebih dari 4 jam (Kiswari, 2014).

f. Penolakan Spesimen

Penolakan spesimen terjadi apabila tidak sesuai dengan prosedur. Semua spesimen harus dikumpulkan, diberi label, diangkut, dan diproses dengan benar. Alasan penolakan spesimen diantaranya yaitu jenis spesimen yang tidak tepat, jenis antikoagulan yang salah, hemolisis, lipemia, ikterik, pembekuan, dan lain-lain (Kiswari, 2014).

3. Pemasangan *Tourniquet*

Kesalahan selama pengumpulan spesimen darah perlu dikurangi untuk menjaga kualitas spesimen tersebut dan diperoleh spesimen yang representatif secara biologis. *Tourniquet* adalah alat yang dipasang di lengan pasien dengan tujuan untuk mempermudah pengambilan spesimen darah vena. Namun karena beberapa sebab, vena sulit untuk ditemukan. Kesulitan mencari vena mungkin muncul karena kurang pengalaman atau tekanan waktu ketika dihadapkan dengan laboratorium yang sibuk dan banyak permintaan pemeriksaan (Favaloro dkk., 2012). Berdasarkan pengamatan peneliti di lapangan, pemasangan *tourniquet* yang lama biasa disebabkan saat pengambilan darah dari pasien obesitas, anak-anak dan orang tua. Sulitnya menemukan vena dari pasien menyebabkan pemasangan *tourniquet* menjadi lebih lama dan dapat menimbulkan masalah yang meragukan hasil pemeriksaan.

International Council for Standardisation in Haematology (ICSH) menyebutkan pemasangan *tourniquet* lebih dari 2-3 menit akan meningkatkan konsentrasi sel, molekul berukuran besar dan senyawa yang terikat protein secara bertahap seiring dengan lamanya pemasangan torniket, sehingga mempengaruhi hasil beberapa tes koagulasi termasuk protein hemostatis yang berada di lapisan endotelium pembuluh darah (Kitchen dkk., 2021). Pemasangan *tourniquet* yang lama dapat menyebabkan hemokonsentrasi, yaitu perpindahan cairan dari pembuluh darah ke jaringan sehingga mempengaruhi kualitas spesimen (Riswanto, 2013). Maka dari itu *torniquet* harus dipasang kurang dari satu menit untuk mencegah hemokonsentrasi, peningkatan fibrinogen dan faktor VII, VIII, XII serta aktivasi sel endotel (Magnetite dkk., 2016).

4. Pemeriksaan *Thrombin Time* (TT)

Pemeriksaan laboratorium hemostasis terdiri dari pemeriksaan rutin atau penyaring (*screening*) dan khusus. Pemeriksaan rutin atau penyaring yang dianjurkan yaitu hitung trombosit, waktu perdarahan, *Plasma Prothrombin Time* (PPT), *Activated Partial Thromboplastin Time* (APTT), dan *Thrombin Time* (TT) (Riswanto, 2013).

Waktu trombin (*Thrombin time*/TT) atau waktu pembekuan trombin (*Thrombin Clotting Time*/TCT) adalah waktu yang diperlukan trombin untuk mengubah fibrinogen menjadi fibrin. Trombin adalah enzim

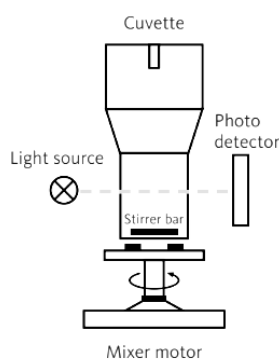
proteolitik yang mengubah fibrinogen menjadi fibrin. Uji TT melewati jalur intrinsik dan ekstrinsik, tetapi menilai tahap akhir jalur bersama. Pemeriksaan TT menguji kemampuan atau fungsi fibrinogen dan adanya zat penghambat (inhibitor) terhadap trombin (Riswanto, 2013).

Prinsip pemeriksaan TT yaitu mulanya ion kalsium dalam darah diikat dengan antikoagulan untuk mencegah pembekuan. Kemudian reagen trombin ditambahkan ke dalam plasma dan waktu terbentuknya fibrin dicatat sebagai waktu trombin (Riswanto, 2013). Reagen trombin biasanya dibuat dari plasma lembu (Kiswari, 2014).

Adanya kelainan fungsi fibrinogen (kadar fibrinogen <100 mg/dl) atau adanya inhibitor terhadap trombin, seperti heparin atau FDP (*fibrinogen degradation products*) dapat menyebabkan hasil pemeriksaan TT memanjang. Pada semua keadaan yang memperpanjang nilai TT secara bermakna, nilai PT dan PTT juga memanjang. Pemeriksaan sebaiknya dilakukan dua kali (duplo) dan perbedaan antara pemeriksaan tidak lebih dari 1,5 detik. Nilai rujukan *Thrombin Time* (TT) adalah 12-24 detik. Waktu trombin yang lebih dari 25 detik harus dilakukan percobaan ulang dengan menggunakan campuran plasma pasien dengan plasma kontrol normal dengan perbandingan 1:1. Hal ini dilakukan untuk membedakan hasil abnormal disebabkan karena defisiensi fibrinogen atau bukan (Kiswari, 2014).

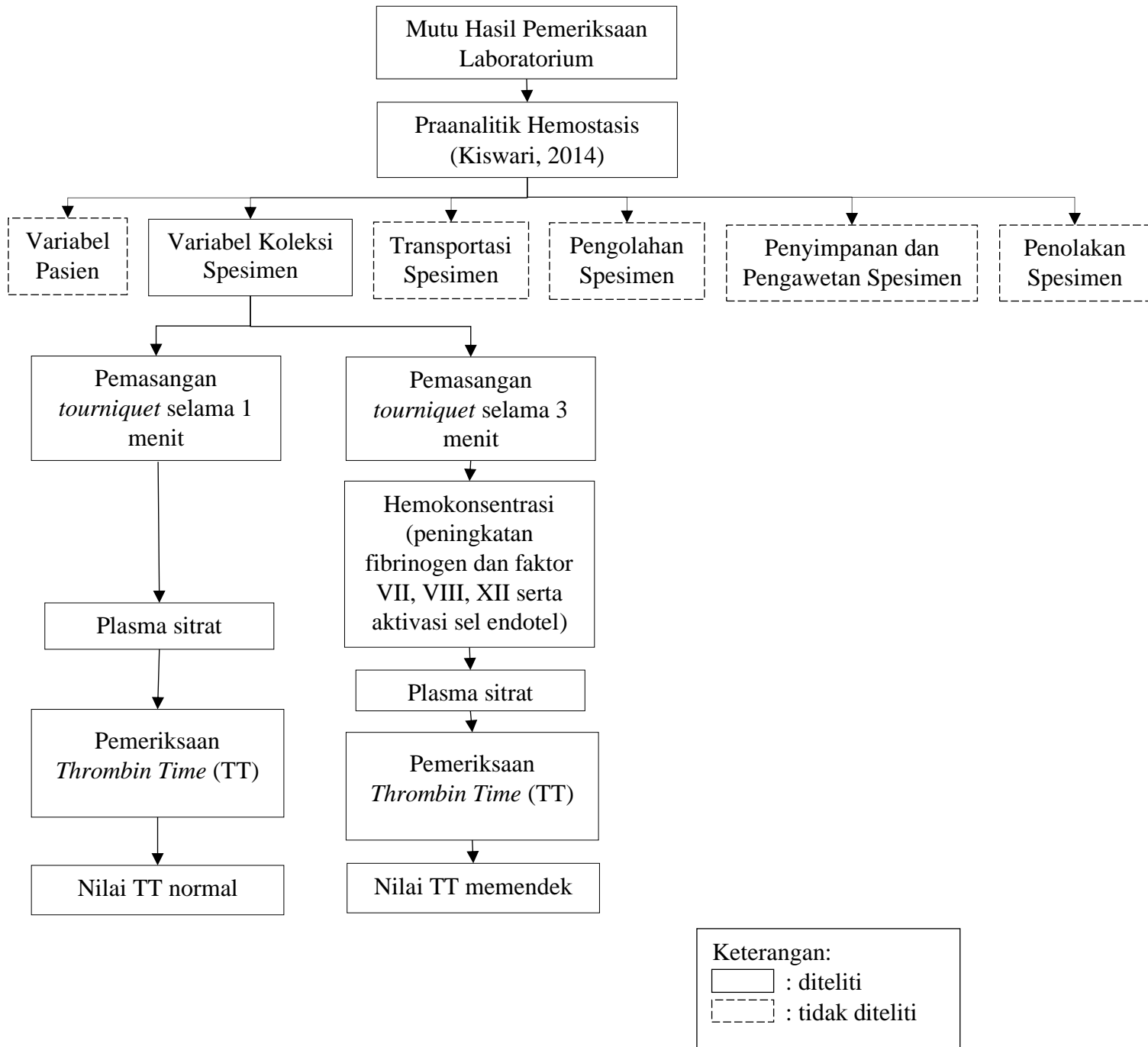
5. *Coagulation Analyzer*

Coagulation analyzer atau *blood coagulation analyzer* (koagulometer) merupakan alat yang mengukur faktor-faktor koagulasi. (Mengko, 2013). Metode yang digunakan oleh *coagulation analyzer* adalah turbodensitometri. Prinsip pengukuran metode ini yaitu berkas cahaya yang melewati kuvet berisi plasma akan ditangkap foto detektor. Intensitas cahaya yang ditransmisikan diubah menjadi sinyal listrik. Pengaduk mencampur reagen dan plasma dalam kuvet menciptakan pusaran kecil untuk memastikan gumpalan terkecil fibrin pun terbentuk di depan foto detektor. Setelah reagen ditambahkan, intensitas cahaya secara otomatis menyesuaikan naik atau turun sesuai dengan kekeruhan sampel. Tindakan pengadukan dan pengukuran optik merupakan prinsip dasar turbodensitometri (*Operational Manual Sysmex CA-104*).



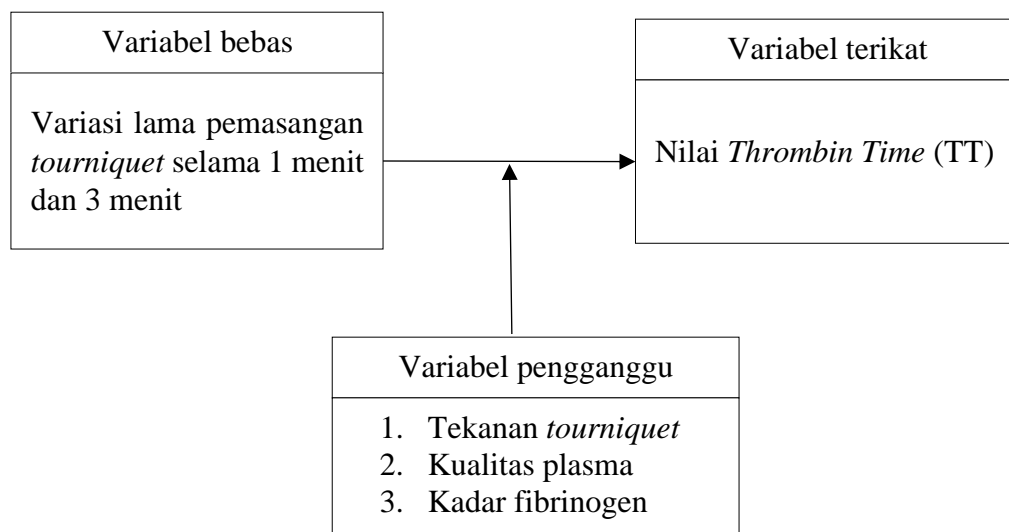
Gambar 3. Prinsip Pengukuran Turbidensitometri
Sumber: www.sysmex-ap.com

B. Kerangka Teori



Gambar 4. Kerangka Teori

C. Hubungan Antar Variabel



Gambar 5. Hubungan Antar Variabel

D. Hipotesis Penelitian

Ada perbedaan nilai *Thrombin Time* (TT) pada pengambilan darah vena dengan lama pemasangan *tourniquet* selama 1 menit dan 3 menit.