

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Darah

Darah merupakan cairan tubuh yang sangat penting bagi kehidupan manusia, yang bersirkulasi dalam jantung dan pembuluh darah. Darah membawa oksigen dan nutrisi bagi seluruh sel dalam tubuh serta mengangkut produk-produk hasil metabolisme sel. Darah berada di dalam suatu pembuluh darah arteri ataupun vena, dan merupakan sebagian dari sistem organ tubuh manusia (Firani,2018). Darah bekerja sebagai sistem pengangkutan (sirkulasi, distribusi dan transportasi) dari tubuh dan mengantarkan semua bahan kimia (mineral, vitamin, hormone, enzim, dll.), oksigen dan zat-zat makanan, serta gizi yang dibutuhkan sel dan jaringan untuk melakukan aktivitas fisiologis serta hasil pembuangan sisa metabolisme dan sel lainnya ke luar tubuh. Darah juga berperan dalam pembekuan darah, melindungi dari pendarahan massif yang diakibatkan luka atau trauma (D'Hiru,2013).

Manusia rata-rata mempunyai volume darah sekitar 70 mL setiap kilogram berat badan, atau sekitar 3,5 liter untuk manusia dengan berat badan 50 kg. Sebanyak 50-60% darah terdiri atas cairan, sisanya berupa sel-sel darah. Komponen cairan darah disebut dengan plasma, yang

mengandung 90% air dan 10% sisanya adalah bahan-bahan yang terlarut, misalnya ion-ion, glukosa, asam amino, hormon dan berbagai macam protein. Serum juga sama dengan plasma, akan tetapi tidak mengandung fibrinogen yang merupakan faktor koagulasi/pembekuan darah. Sel-sel darah terdiri dari eritrosit (sel darah merah), leukosit (sel darah putih) yang terdiri dari beberapa jenis, dan trombosit (platelet) (Kiswari,2014).

a. Eritrosit (Sel Darah Merah)

Fungsi utama eritrosit adalah untuk pertukaran gas. Eritrosit membawa oksigen dari paru-paru menuju ke jaringan tubuh dan membawa karbon dioksida (CO_2) dari jaringan tubuh ke paru-paru. Eritrosit tidak mempunyai inti sel, tetapi mengandung beberapa organel dalam sitoplasmanya. Sebagian besar sitoplasma eritrosit berisi hemoglobin yang mengandung zat besi (Fe) sehingga dapat mengikat oksigen. Eritrosit berbentuk bikonkaf, berdiameter 7-8 μ . Jumlah eritrosit paling banyak dibandingkan dengan sel-sel darah lainnya. Dalam satu milimeter darah, terdapat kira-kira 4,5-6 juta eritrosit, itu sebabnya darah berwarna merah. Umur eritrosit kira-kira 120 hari, sehingga setiap hari, 1% dari jumlah eritrosit mati dan digantikan dengan eritrosit yang baru (Kiswari, 2014).

b. Leukosit (Sel Darah Putih)

Leukosit berwarna bening (*transculent*). Bentuknya lebih besar bila dibandingkan dengan eritrosit, akan tetapi jumlahnya lebih sedikit.

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 berbulir atau bergranula yang disebut dengan granulosit. Leukosit terdiri dalam beberapa komposisi bentuk sel yang meliputi : limfosit , monosit, basofil, eosionofil dan netrofil. Leukosit memiliki kemampuan fagositosis yaitu dapat memangsa bakteri yang masuk dalam peredaran darah dan kemampuan ameboid yaitu dapat keluar-masuk pembuluh darah serta mengitari seluruh bagian tubuh sebagai respons sistem antibodi. Dengan kemampuan ini leukosit dapat memiliki fungsi dalam melakukan perlawanan terhadap infeksi (D'Hiru,2013)

c. Trombosit (Keping Darah)

Trombosit adalah sel darah yang berperan dalam hemostasis. Trombosit melekat pada lapisan endotel pembuluh darah yang robek atau terjadi luka dengan membentuk plug trombosit. Trombosit tidak memiliki inti sel, berukuran 1-4 μ , dan sitoplasmanya berwarna biru dengan granula ungu-kemerahan. Trombosit merupakan derivat dan megakariosit, berasal dari fragmen-fragmen sitoplasma megakariosit. Jumlah trombosit adalah 150.000-350.000/mL darah. Granula trombosit mengandung faktor pembekuan darah, adenosin difosfat (ADP) dan adenosin trifosfat (ATP) , kalsium, serotonin, serta katekolamin. Sebagian besar diantaranya berperan dalam merangsang

mulainya proses pembekuan. Umur trombosit yaitu sekitar 10 hari (Kiswari,2014).

2. Plasma Darah

Di dalam darah mengandung sel-sel darah serta cairan yang disebut plasma darah. Sekitar 55% darah merupakan komponen cairan atau plasma, sisanya yang 45% adalah komponen sel-sel darah. Plasma darah merupakan komponen cairan yang mengandung berbagai nutrisi maupun substansi penting lainnya yang diperlukan oleh tubuh manusia, antara lain protein plasma seperti albumin, globulin, dan faktor-faktor pembekuan darah (Firani,2018).

Albumin berfungsi untuk mempertahankan tekanan osmotik koloid (onkotik). Apabila kadar albumin rendah dalam plasma akan berakibat penurunan tekanan onkotik, yang akan menyebabkan keluarnya cairan dari pembuluh darah atau ekstrasvasasi. Globulin merupakan protein yang berfungsi untuk membentuk immunoglobulin yang penting dalam sistem imunitas tubuh terhadap benda asing maupun mikroorganisme. Penurunan kadar globulin dalam plasma darah dapat menurunkan imunitas tubuh sehingga mudah terkena infeksi. Faktor-faktor koagulasi di dalam plasma darah berperan penting dalam proses pembekuan darah. Apabila terjadi defisiensi faktor-faktor pembekuan darah akan mengakibatkan terjadinya perdarahan dalam tubuh. Plasma darah juga berfungsi sebagai sistem penyangga tubuh atau sistem *buffer* yang penting untuk mempertahankan

keadaan asam-basa, melalui kandungan elektrolit yang terkandung didalamnya, antara lain ion hydrogen dan bikarbonat (Firani,2018).

3. Hemostasis

Hemostasis adalah proses penghentian peredaran darah secara spontan dari pembuluh darah yang mengalami kerusakan atau akibat robeknya pembuluh darah. Jika terjadi kerusakan pembuluh darah atau terjadinya luka, maka faal hemostasis, secara fisiologi memberikan respon terhadap kerusakan tersebut dengan melibatkan beberapa komponen yaitu sistem vaskuler, sistem trombosit, sistem koagulasi, dan sistem fibrinolisis (Durachim dan Astuti, 2018).

a. Sistem Vaskuler

Ketika terjadi cedera pada pembuluh darah arteri yang besar atau sedang atau vena akan memerlukan tindakan bedah yang cepat untuk mencegah terjadinya perdarahan. Hal ini berbeda ketika pembuluh yang lebih kecil, seperti arteriol, venula, atau kapiler terluka, maka akan terjadi kontraksi untuk mengurangi perdarahan. Kontraksi dari pembuluh darah tersebut disebut dengan vaskonstriksi (Kiswari,2014). Vasokonstriksi yaitu proses penyempitan pembuluh darah dengan menyempitkan diameter pembuluh darah yang terjadi pada daerah yang mengalami kerusakan atau luka. Jika terjadi kerusakan jaringan atau luka, maka akan terjadi keluarnya zat serotonin, epineprin, dengan adanya zat tersebut maka pembuluh darah menjadi mengkerut atau

menyempit dengan tujuan untuk mengurangi aliran darah yang menuju ke daerah luka (Durachim, dan Astuti, 2018)

b. Sistem Trombosit

Sistem trombosit merupakan salah satu komponen yang memiliki peran penting dalam mekanisme hemostasis yaitu dalam proses pembentukan dan stabilisasi sumbatan trombosit. Pembentukan sumbatan trombosit dilakukan melalui tiga tahap yaitu adesi trombosit, agregasi trombosit dan reaksi pelepasan (Setiabudy,2009).

Ketika pembuluh darah luka, maka sel endotel akan mengalami kerusakan, sehingga jaringan ikat di bawah endotel akan terbuka. Hal ini kemudian akan mencetuskan terjadinya adesi trombosit. Adesi trombosit adalah proses trombosit melekat pada permukaan asing terutama serat kolagen. Adesi trombosit sangat bergantung pada protein plasma yang disebut dengan faktor *von Willebrand's* (vWF) yang disintesis oleh sel endotel dan megakariosit. Faktor ini berfungsi sebagai jembatan antara trombosit dan jaringan subendotel (Setiabudy,2009).

Pada bagian luka tersebut trombosit aktif kemudian akan mengeluarkan ADP (*Adenosine Diphosphat*) yang dikeluarkan oleh trombosit yang melekat pada subendotel kemudian merangsang trombosit lain untuk menempel disebut dengan agregasi primer dan bersifat reversibel. Trombosit pada agregasi primer akan mengeluarkan

ADP sehingga terjadi agregasi trombosit sekunder yang bersifat irreversibel. Dalam agregasi trombosit juga diperlukan ion kalsium dan fibrinogen. Agregasi trombosit terjadi karena adanya pembentukan ikatan antara fibrinogen yang melekat pada dinding trombosit dengan perantara ion kalsium. Selama proses agregasi, terjadi perubahan bentuk trombosit dari bentuk cakram menjadi bulat disertai dengan pembentukan pseudopodi. Akibatnya, granula trombosit akan terkumpul di tengah dan akhirnya akan melepaskan isinya. Proses ini disebut sebagai reaksi pelepasan (Setiabudy,2009).

c. Sistem Pembekuan Darah (Koagulasi)

Pembekuan darah adalah suatu proses reaksi enzimatik yang melibatkan protein plasma, fosfolipid, dan ion kalsium. Bentuk aktif dari faktor enzimatik tersebut ditandai dengan angka romawi yang diikuti oleh akhiran-a, misalnya faktor XII (tidak aktif) , sedangkan XIIa berarti dalam keadaan aktif. Penunjukan angka romawi tidak menunjukkan urutan reaksi dalam proses pembekuan. Faktor pembekuan terdiri dari tiga kelompok yaitu kelompok fibrinogen yang terdiri dari faktor I, V, VIII dan XIII, yaitu faktor yang digunakan selama proses koagulasi. Kelompok prothrombin terdiri dari faktor II, VII, IX dan X, sintesis semua faktor ini tergantung pada vitamin K Serta kelompok kontak terdiri dari faktor XI dan XII (Kiswari,2014).

Menurut (Kiswari,2014) masing-masing faktor koagulasi memiliki karakteristik sendiri yang unik dan berbeda. Karakteristik ini meliputi :

1) Faktor I (Fibrinogen)

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

2) Faktor II (Protrombin)

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

3) Faktor V (Proaccelerin)

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

4) Tromboplastin Jaringan (Sebelumnya disebut Faktor III)

Tromboplastin jaringan merupakan 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 mengkonversi prothrombin menjadi trombin.

5) Faktor VII (Proconvertin)

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

6) Faktor VIII (Antihemofilik)

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

7) Faktor IX (*Plasma Thromboplastin Component*)

Faktor IX adalah faktor yang stabil dan tidak terpakai selama pembekuan. Faktor ini adalah komponen penting dari sistem pembangkit tromboplastin jalur instrinsik yang dapat mempengaruhi laju pembentukan tromboplastin.

8) Faktor X (*Stuart Factor*)

Faktor X merupakan faktor yang stabil. Bersama dengan faktor V, faktor X bereaksi dengan ion kalsium membentuk tromboplastin jalur akhir yang umum di mana produk-produk dari kedua jalur ekstrinsik dan instrinsik yang menghasilkan tromboplastin bergabung untuk membentuk tromboplastin akhir yang mengubah prothrombin menjadi trombin.

9) Faktor XI (Tromboplastin Plasma)

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

10) Faktor XII (Faktor Hageman)

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 instrinsik. Kallikrein(diaktifkan faktor Fletcher) memotong sebagian aktivitas molekul XIIa untuk menghasilkan bentuk yang lebih kinetik efektif XIIa karena mekanisme umpan balik.

11) Faktor XIII (*Fibrin-Stabilizing factor*, Faktor Penstabilisasi Faktor)

Faktor ini bersama dengan kalsium menghasilkan bekuan fibrin yang stabil.

Proses pembekuan darah dimulai melalui dua jalur yaitu jalur instrinsik yang dicetuskan oleh aktivasi kontak dan jalur ekstrinsik yang dicetuskan oleh tromboplastin jaringan. Kedua jalur ini akan bergabung menjadi jalur bersama yang melibatkan F X, F V, PF 3, protrombin dan fibrinogen (Setiabudy,2009)

1) Jalur Koagulasi Instrinsik

Jalur instrinsik meliputi fase kontak dan pembentukan kompleks activator F.X. Adanya kontak antara F.XII dengan permukaan asing seperti serat kolagen saat terjadi luka akan menyebabkan aktivasi F.XII menjadi F.XIIa. Dengan adanya kofaktor *High Molecular Weight of Kininogen* (HMWK), F.XIIa akan mengubah prekalikrein menjadi kallikrein yang akan meningkatkan aktivasi F.XII selanjutnya dengan adanya kofaktor HMWK. Disamping itu kallikrein akan mengaktifkan F.VII menjadi F.VIIa pada jalur ekstrinsik, lalu mengaktifkan plasminogen menjadi plasmin pada sistem fibrinolitik,serta megubah kininogen menjadi kinin yang berperan dalam reaksi inflamasi di tubuh. Sehingga aktivasi F.XII tidak hanya memicu pembekuan darah jalur instrinsik maupun ekstrinsik, namu juga

memicu sistem fibrinolitik dan kinin pada saat terjadinya inflamasi. Reaksi selanjutnya pada jalur instrinsik 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 instrinsik adalah interaksi nonenzimatik antara F.IXa, PF3, F.VIII dan ion kalsium membentuk kompleks yang mengaktifkan F.X. Walaupun F.IXa dapat mengaktifkan F.X, tetapi dengan adanya PF3, F.VIII dan ion kalsium maka reaksi ini akan dipercepat (Setiabudy,2009).

2) Jalur Koagulasi Ekstrinsik

Jalur ekstrinsik dimulai oleh masuknya tromboplastin jaringan ke dalam sirkulasi darah. Tromboplastin jaringan berasal dari fosfolipoprotein dan membran organel dari sel-sel jaringan yang terganggu. Namun, fosfolipid trombosit tidak dipakai untuk aktivasi pada jalur ekstrinsik, karena faktor jaringan memiliki persediaan fosfolipid tersendiri (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. Akhir-akhir ini terbukti bahwa aktivasi F.VII menjadi F.VIIa dapat terjadi karena adanya kallikrein. Hal ini membuktikan adanya hubungan antara

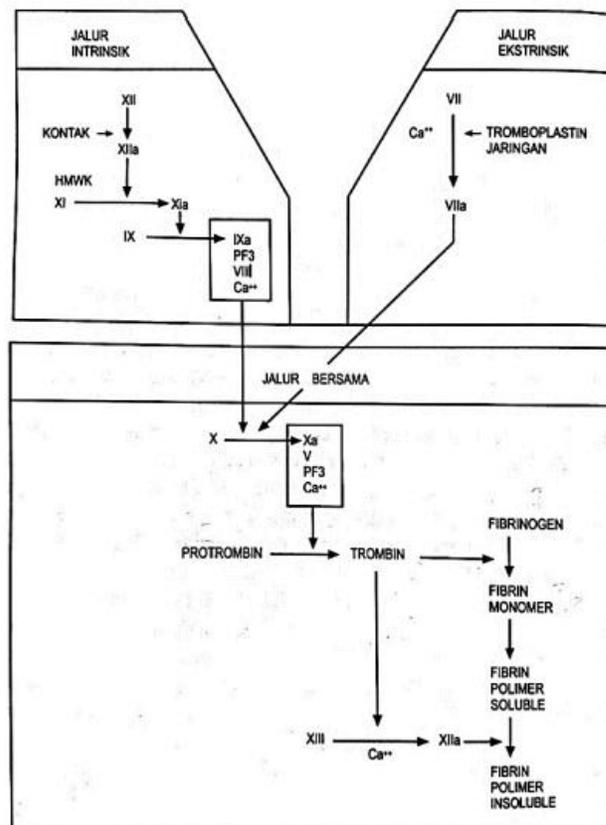
jalur instrinsik dan ekstrinsik. Selanjutnya F.VIIa yang terbentuk akan mengaktifkan F.X menjadi F.Xa (Setiabudy,2009).

3) Jalur Koagulasi Bersama

Setelah faktor X diaktifkan menjadi Xa, jalur ekstrinsik memasuki jalur bersama. Faktor II (prothrombin), diaktifkan menjadi trombin (faktor IIa), yang biasanya beredar dalam darah sebagai faktor yang aktif (Kiswari,2014).

Jalur bersama meliputi *prothrombin converting complex* (protombinase), aktivasi prothrombin dan pembentukan fibrin. Reaksi pertama pada jalur bersama yaitu 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 adalah 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 berikutnya 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 awalnya 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. 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

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

Pemeriksaan waktu tromboplastin parsial teraktivasi atau *Activated Partial Thromboplastin Time* (APTT) digunakan untuk menguji mekanisme pembekuan darah melalui jalur instrinsik dan jalur bersama yaitu faktor pembekuan XII, prekalinogen, kininogen, XI, IX, VIII, X, V, prothrombin dan fibrinogen. Pemeriksaan APTT juga digunakan untuk memantau pasien penerima terapi heparin yaitu obat pencegah penggumpalan darah (Setiabudy,2009).). Pemeriksaan APTT lebih sensitif dalam mendeteksi kelainan faktor pembekuan darah daripada pemeriksaan PT, karena aktivator yang ditambahkan secara *in vitro* akan memperpendek waktu pembekuan. Dengan memperpendek waktu pembekuan, kelainan pembekuan minor dapat dideteksi (Riswanto,2013).

Prinsip pemeriksaan APTT adalah mengukur lamanya terbentuk bekuan bila ke dalam plasma ditambahkan reagen tromboplastin parsial dan aktivator serta ion kalsium pada suhu 37°C (Setiabudy,2009). Tromboplastin parsial adalah fosfolipid yang berfungsi sebagai pengganti PF3 (*platelet factor 3*), yang dapat berasal dari manusia, tumbuhan, dan hewan, dengan penambahan aktivator seperti kaolin, asam elagik (*ellagic acid*), selit (*cellit*) atau *micronized silica* . Kaolin meningkatkan kecepatan pengaktifan kontak dimana fosfolipid membentuk permukaan yang terjadi pada reaksi substrat enzim koagulasi dapat berlangsung. Reagen komersil yang digunakan salah satunya didapat dari jaringan otak

kelinci yang mana kaolin bertindak sebagai aktivator. Ada juga yang menggunakan fosfolipid yang didapat dari tumbuhan dengan aktivator *micronized silica* (Setiabudy,2009).

Nilai acuan dari pemeriksaan APTT tergantung pada aktivator dan fosfolipid reagen yang digunakan pada masing-masing laboratorium. Rentang nilai normalnya adalah 20 s/d 35 detik, namun pada beberapa laboratorium mungkin berkisar antara 28 s/d 42 detik, dengan batas atas 42 s/d 46 detik (Kiswari,2014). Hasilnya bisa memanjang apabila terdapat kekurangan faktor pembekuan pada jalur intrinsik dan bersama atau bisa juga karena terdapat inhibitor (Setiabudy, 2009). Pada penyakit tertentu seperti *von Willebrand*, hemofilia, penyakit hati, defisiensi vitamin K, *Disseminated Intravascular Coagulation* (DIC) hasil pemeriksaan APTT mengalami peningkatan. Sedangkan pada DIC sangat awal, hemorrhagia akut, kanker meluas (kecuali mengenai hati) hasil pemeriksaan APTT mengalami penurunan (Herawati, dkk., 2011).

5. Praanalitik Pemeriksaan APTT

Pranalitik adalah seluruh proses yang berkaitan dengan persiapan sampel sebelum dilakukan pemeriksaan atau analisa. Kesalahan tahap pra analitik pada laboratorium terjadi mencapai 46-62,8% (Usman et al., 2015).

Berikut ini adalah beberapa praanalitik yang dapat mempengaruhi pemeriksaan APTT :

a. Persiapan Pasien

Untuk meminimalisir kesalahan interpretasi hasil dalam pemeriksaan, maka persiapan pasien juga harus dilakukan. Pengumpulan sampel pada pasien yang sudah disarankan puasa terlebih dahulu sebaiknya dilakukan saat pagi hari diantara pukul tujuh hingga sembilan pagi. Pasien juga tidak disarankan untuk beraktivitas berat dalam waktu 2 jam sebelum pengambilan sampel, dan pengambilan sampel dilakukan minimal 5 menit setelah pasien melakukan aktivitas (Guder,2015).

Sebelum pengambilan sampel darah, segala pengaruh makanan dan minuman yang menanngu harus dihindari. Salah satunya adalah pasien harus menghindari makanan yang memiliki kandungan lemak untuk menghindari pembentukan kilomikron dalam plasma, yang akan mengganggu transmisi cahaya agregometri. Makanan ringan tidak mempengaruhi pemeriksaan kogulasi. Namun akan lebih baik jika pasien disarankan untuk puasa selama 8 jam (lebih baik 12 jam) serta mengurangi aktivitas (Cattaneo,dkk., 2013). Aktivitas fisik dapat menyebabkan terjadinya kenaikan jumlah leukosit, penurunan pemeriksaan koagulasi (PT,APTT, dan fibrinolisis), serta peningkatan pada pemeriksaan D-Dimer. Olahraga berat juga memicu pelepasan mikropartikel trombosit sehingga memicu peningkatan pembentukan trombin, hiperaktivitas trombosit, peningkatan aktivitas faktor

pembekuan, serta peningkatan aktivitas fibrinolitik yang disebut dengan kondisi prokoagulan (Guder,2015).

b. Cara Pengambilan Darah

Pada saat pengambilan sampel darah menggunakan torniket, maka torniket tidak boleh dipasang lebih dari satu menit. Hal ini digunakan untuk menghindari terjadinya hemokonsentrasi yang dapat meningkatkan kadar fibrinogen, faktor VII,VIII,XII, serta mengaktivasi sel endothelial dan fibrinolisis. Proses pengambilan darah sebaiknya menggunakan spuit dan pemindahan darah ke tabung langsung sebaiknya tidak dilakukan dengan cara menusukkan jarum spuit pada karet penutup tabung karena dapat menyebabkan sampel menjadi hemolisis (Durachim, dan Astuti, 2018).

c. Penggunaan Antikoagulan

Salah satu cara yang lazim dilakukan agar sampel (darah) tidak membeku adalah dengan menambahkan antikoagulan, karena lebih mudah dilakukan, lebih hemat waktu dan lebih akurat dibandingkan penggunaan cara lainnya. Aktivitas zat antikoagulan pada dasarnya adalah dengan mengikat ion kalsium (Ca). Ion kalsium adalah salah satu faktor pembekuan (faktor IV). Tanpa kalsium maka pembekuan tidak akan terjadi, dan akan menghambat pembentukan thrombin. Trombin adalah enzim yang berperan dalam perubahan fibrinogen menjadi fibrin (Kiswari,2014).

Antikoagulan yang direkomendasikan oleh *International Committee for Standardization in Haematology* (ICSH) dan *International Society for Thrombosis and Haematology* pada pemeriksaan koagulasi adalah Natrium Sitrat (*Sodium Citrate*). Natrium sitrat yang digunakan dalam bentuk larutan pada konsentrasi 3,2% (0,109M) dengan perbandingan 9 bagian darah dan 1 bagian antikoagulan. Cara kerjanya adalah dengan mengendapkan ion kalsium, sehingga menjadi bentuk yang tidak aktif (Kiswari,2014).

d. Bahan Pemeriksaan

1) Sampel Hemolisis

Hemolisis merupakan keadaan pecahnya membran eritrosit sehingga hemoglobin tercampur ke dalam plasma atau serum (Durachim, dan Astuti, 2018). Sampel yang hemolisis dapat memengaruhi beberapa pemeriksaan hemostasis, karena adanya zat tromboplastik yang terbentuk ataupun karena pigmen hemoglobin yang mengganggu pada pemeriksaan yang menggunakan foto-optik sistem (Mackie, dkk., 2013). Lisis pada membran sel eritrosit dapat menyebabkan pelepasan isi dari sel darah merah (berbagai enzim intraseluler, dan ADP) kedalam plasma yang akan memicu aktivasi dari faktor koagulasi. Sehingga dapat menyebabkan nilai APTT menjadi pendek palsu, sedangkan pada

nilai PT, D-dimer, dan fibrinogen akan panjang palsu (Magnette, dkk., 2016).

2) Sampel Lipemik dan Ikterik

Pada penelitian Lippi, dkk. (2013) dalam jurnal (Magnette, dkk., 2016) disebutkan bahwa plasma lipemik dan ikterik dapat mempengaruhi hasil analitik yaitu dengan mengganggu absorbansi optik atau menghalangi transmisi cahaya. Plasma lipemik berwarna putih keruh seperti susu karena peningkatan kandungan lipoprotein, sedangkan plasma ikterik berwarna kuning coklat akibat adanya hiperbilirubinemia atau kadar bilirubin darah tinggi. *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) merekomendasikan untuk menghilangkan kelebihan lipoprotein tersebut dengan ultrasentrifugasi. Akan tetapi sebagian besar laboratorium rutin tidak memiliki alat tersebut dikarenakan biaya yang mahal. Selain itu ultrasentrifugasi dapat menyebabkan pengendapan besar protein molecular seperti fibrinogen atau faktor VIII. Alternatif lain adalah dengan sentrifugasi ganda atau ekstraksi lipid dengan menggunakan bahan pembersih lipid.

e. Sentrifugasi

Pengolahan sampel mencakup pada tiga tahap yang berbeda yaitu prasentrifugasi, sentrifugasi dan pascasentrifugasi. Umumnya, semua pengujian harus dilakukan dalam waktu 45 menit sampai 1 jam setelah

pengumpulan sampel. Darah harus tetap berada dalam wadah aslinya dengan kondisi tertutup sampai siap untuk pemisahan, untuk mencegah terjadinya penguapan air dalam plasma atau serum (Kiswari,2014).

Sampel plasma yang digunakan pada pemeriksaan APTT adalah *Platelet-Poor-Plasma* (PPP) yaitu plasma dengan jumlah trombosit $<10.000/\text{mm}^3$. Pembuatan PPP sangat dipengaruhi oleh kecepatan dan waktu sentrifugasi. Menurut . *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) pada penelitian Hardisari, dkk. PPP dapat diperoleh dengan cara sentrifugasi pada kecepatan 2000g (3500 rpm) selama 10 menit atau dengan kecepatan yang lebih rendah sealama 10-30 menit (Hardisari , dkk., 2020)

f. Penyimpanan dan Transportasi

Transportasi sampel baik darah, urin, cairan tubuh, dan spesimen jaringan dari situs koleksi ke laboratorium merupakan komponen yang penting dan pengolahan sampel. Sampel yang rusak atau bocor akan berbahaya apabila terjadi kontak, sehingga harus dilakukan pengambilan sampel baru. Sampel membutuhkan pendingin yang harus dipertahankan pada suhu 2-10°C dan disimpan dalam wadah yang terisolasi (Kiswari,2014).

Apabila spesimen darah sitrat pada suhu kamar untuk pemeriksaan APTT harus segera diperiksa dalam waktu 30 menit. Namun, jika terjadi kendala sehingga tidak bisa segera diperiksa dapat disimpan berupa

plasma sitrat pada suhu $20\pm 5^{\circ}\text{C}$ dan bisa tahan selama 4 jam. Untuk penyimpanan plasma sitrat pada suhu $2-8^{\circ}\text{C}$ dapat diperiksa dalam waktu 2 jam. Pada suhu $2-8^{\circ}\text{C}$ dapat menstabilkan faktor V pada jalur bersama, akan tetapi menyebabkan teraktivasinya faktor VII (prokonvertin) pada jalur ekstrinsik oleh sistem kallikrein (Riswanto,2013).

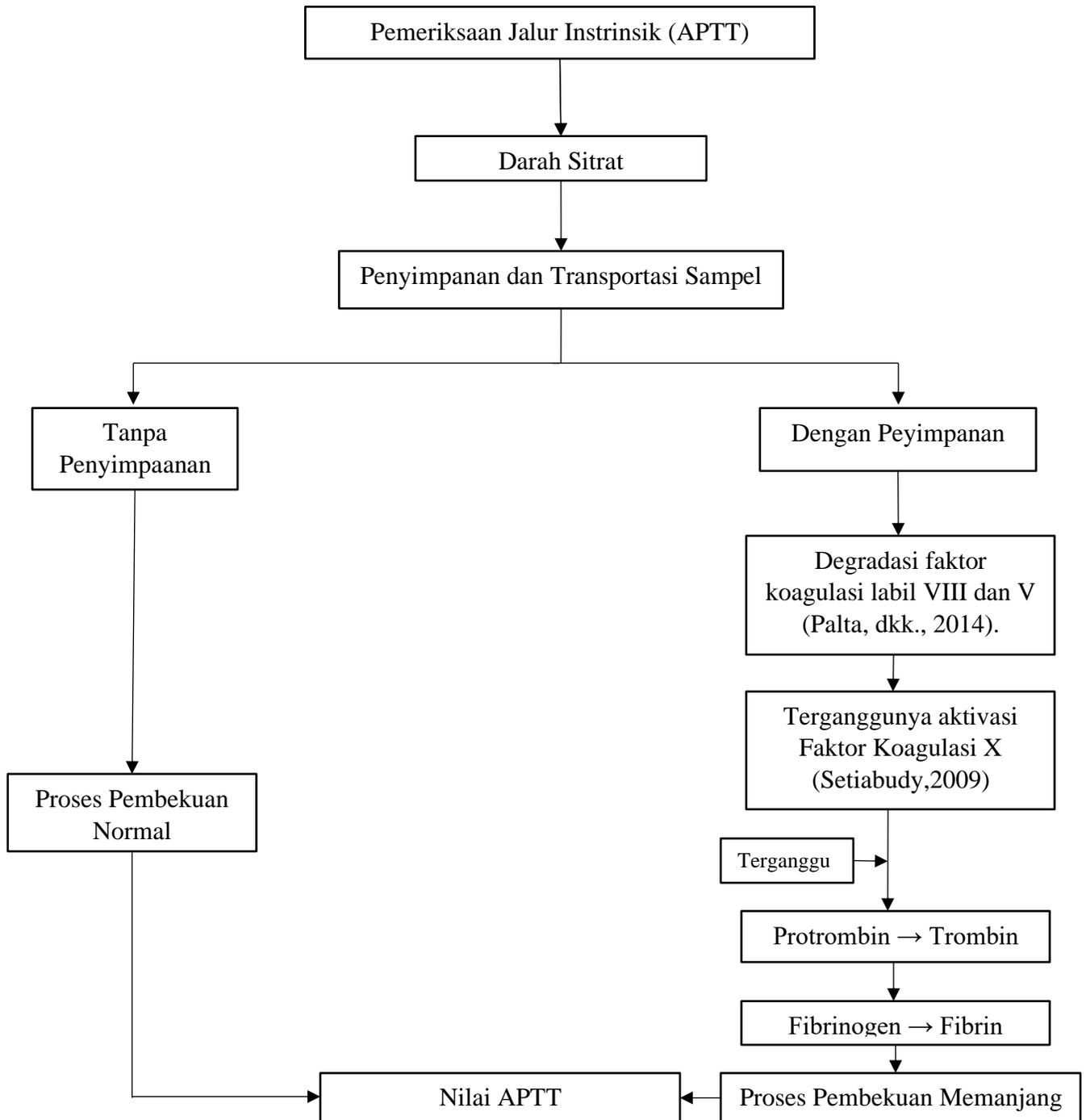
6. *Coagulation analyzer*

Coagulation analyzer atau *blood analyzer* merupakan alat yang dapat digunakan untuk mengukur kuantitas faktor-faktor yang berperan pada proses hemostasis. Fungsi utama alat ini adalah untuk mendeteksi kelainan pada sistem pembekuan darah yang berhubungan dengan penyakit tromboembolik, trombositopenia, fungsi hati yang buruk, hemofilia, penyakit von Willebrand serta kondisi lain. Selain itu alat ini juga digunakan untuk mengamati efek pemberian obat seperti heparin, antikoagulan oral, zat-zat trombolitik dan agen anti trombosit pada seluruh komponen darah serta mengamati efek terapi komponen darah (Sutjiady,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

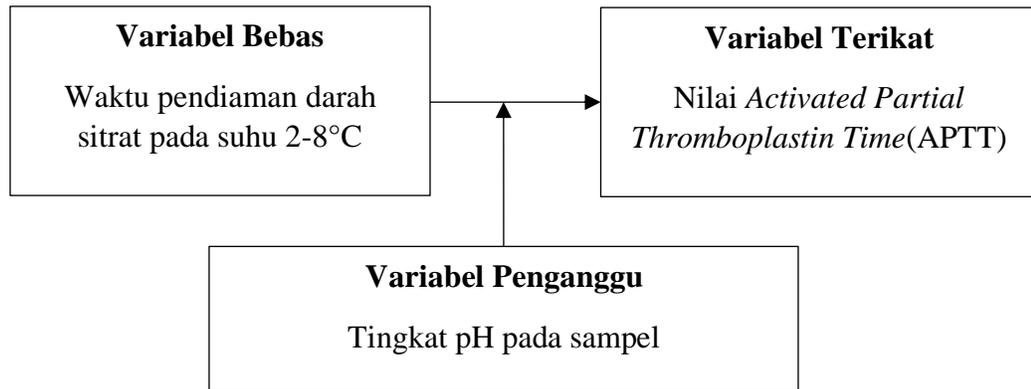
untuk memastikan gumpalan terkecil fibrin pun terbentuk di depan foto detektor. Setelah reagen ditambahkan, intensitas cahaya secara otomatis menyesuaikan naik atau turun sesuai dengan kekeruhan sampel. Tindakan pengadukan dan pengukuran optik merupakan prinsip dasar turbodensitometri.

B. Kerangka Teori



Gambar 2. Kerangka Teori

C. Hubungan Antar Variabel



Gambar 3. Hubungan Antar Variabel

D. Hipotesis

Ada pengaruh waktu pendiaman darah sitrat pada suhu 2 – 8° C terhadap nilai *Activated Partial Thromboplastin Time* (APTT).