

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Darah

Darah merupakan cairan tubuh yang sangat vital 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 maupun vena, dan merupakan sebagian dari sistem organ tubuh manusia yang berperan penting bagi kelangsungan hidup manusia (Firani, 2018). Volume darah secara keseluruhan kira-kira merupakan satu per dua belas berat badan atau kira-kira 5 liter (Pearce, 2011).

Darah mengandung sel-sel darah serta cairan yang disebut plasma darah yang berisi berbagai zat nutrisi maupun substansi lainnya. Sekitar 55% darah merupakan komponen cairan atau plasma, sisanya 45% adalah komponen sel-sel darah. Komponen sel-sel darah yang paling banyak adalah sel darah merah atau eritrosit yaitu sejumlah 41%. Rasio volume sel-sel darah terhadap volume darah total hematokrit (Hct). Lebih dari 99% hematokrit dibentuk oleh eritrosit (Firani, 2018).

Komponen sel-sel darah manusia terdiri atas :

a. Eritrosit

Eritrosit atau sel darah merah mempunyai masa hidup kira-kira 120 hari. Setiap sel eritrosit mengandung 280 juta molekul hamoglobin yang membantu sel darah untuk membawa oksigen dari paru-paru ke seluruh tubuh dan membawa 23% dari total karbon dioksida di tubuh ke paru-paru (Doda dkk., 2020)

b. Leukosit

Leukosit atau sel darah putih mempunyai fungsi imunitas atau sistem pertahanan tubuh terhadap benda asing atau sel yang tidak normal yang dapat merusak sel-sel tubuh. Leukosit hanya dapat hidup beberapa hari saja, kecuali Limfosit yang dapat hidup selama beberapa bulan ataupun tahun. Jumlah leukosit pada orang dewasa normal berkisar 5.000-10.000 per mikroliter (μL) darah (Doda dkk., 2020).

c. Trombosit

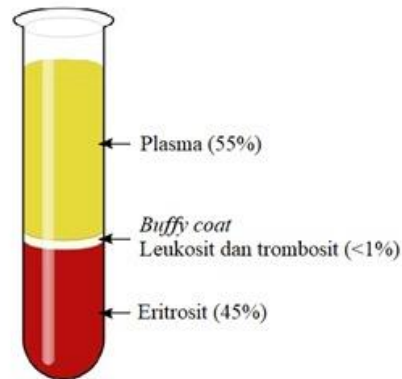
Trombosit atau keping darah merupakan fragmen sel yang berperan penting untuk pembekuan darah (koagulasi) pada hemostasis. Jumlah trombosit adalah sekitar 150.000-400.000 per *microliter* (μL) darah yang mempunyai masa hidup 5-9 hari (Doda dkk., 2020).

2. Plasma darah

Plasma darah merupakan komponen cairan darah yang berwarna kekuning-kuningan yang didalamnya terdiri dari air dan terdapat zat-zat terlarut yang bersifat organik dan sebagian lagi anorganik. Plasma darah *men-support* protein yang diperlukan untuk pembentukan jaringan, mendistribusikan cairan nutrisi sehingga semua sel tubuh menerima kebutuhan esensial, dan merupakan transportasi bahan buangan sisa metabolisme ke berbagai organ pengeluaran untuk dibuang. Selain itu, plasma juga mengandung senyawa penyangga (*buffer*) berupa hemoglobin, oksihemoglobin, bikarbonat, fosfat, dan protein plasma (D'Hiru, 2013).

Plasma darah adalah bagian cair dari darah yang diberi antikoagulan yang akan mempertahankan bentuk dari plasma darah tetap cair dan mencegah pembekuan darah. Darah yang ditambah antikoagulan tersebut setelah didiamkan beberapa menit atau setelah disentrifugasi akan terpisah menjadi tiga bagian, yaitu :

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



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

Plasma darah mengandung 91,5% air dan 8,5% zat-zat yang terlarut di dalamnya, dimana 7% nya adalah protein plasma. 8,5% zat-zat yang larut dalam plasma terdiri dari :

- a. Plasma protein yang disebut juga antibody atau immunoglobulin. Plasma protein ini juga ada beberapa jenis yaitu albumin 54%, globulin 38%, fibrinogen 7% yang diproduksi di sel hepatosit.
- b. Zat lain berupa elektrolit, nutrient, enzim, hormon, dan gas.
- c. Bahan hasil pembakaran seperti urea, ammonia, creatinine, bilirubin yang dikeluarkan dari tubuh.

Dari seluruh volume darah pada laki-laki 55% adalah plasma darah, sedangkan pada perempuan plasma lebih banyak yaitu 58% (Doda dkk., 2020).

3. Hemostasis

Hemostasis adalah mekanisme yang menyebabkan penghentian perdarahan dari pembuluh darah yang melibatkan beberapa langkah

yang saling terkait. Puncak dari mekanisme ini adalah terbentuknya “sumbat” yang menutup situs pembuluh darah yang rusak untuk mengendalikan perdarahan.

Hemostasis memfasilitasi serangkaian aktivasi enzimatik yang mengarah pada pembentukan gumpalan dengan trombosit dan polimer fibrin. Gumpalan ini menyegel area yang terluka, mengontrol, dan mencegah perdarahan lebih lanjut saat proses regenerasi jaringan berlangsung. Setelah cedera pembuluh darah mulai sembuh, bekuan perlahan-lahan berubah bentuk, dan larut dengan pemulihan jaringan normal di lokasi kerusakan. Terdapat berbagai komponen seluler dalam proses koagulasi, namun yang paling menonjol adalah proses-proses yang terkait dengan endothelium, trombosit, dan hepatosit (Doda dkk., 2020).

Pemeriksaan laboratorium hemostasis terdiri dari dua macam, yaitu pemeriksaan rutin atau penyaring (*screening*) dan pemeriksaan khusus. Pemeriksaan rutin atau penyaring yang dianjurkan adalah hitung trombosit (termasuk pemeriksaan apusan darah), waktu perdarahan (*bleeding time*), waktu protrombin (PPT), waktu tromboplastin parsial teraktivasi (APTT), dan waktu trombin (TT). Tujuan pemeriksaan hitung trombosit dan waktu perdarahan untuk mendeteksi kelainan trombosit. Pemeriksaan PPT untuk mendeteksi kelainan pada sistem koagulasi ekstrinsik. Pemeriksaan APTT untuk mendeteksi kelainan pada sistem koagulasi intrinsik kecuali faktor XIII dan trombosit.

Sedangkan pemeriksaan waktu trombin untuk mendeteksi fungsi fibrinogen dan perubahan fibrinogen menjadi fibrin (Riswanto, 2013).

Terdapat tiga langkah mekanisme hemostasis, yaitu sistem vaskuler (penyempitan pembuluh darah), sistem sumbat trombosit, dan sistem pembekuan darah (Doda dkk., 2020).

a. Sistem Vaskuler

Sistem vaskuler terjadi ketika terdapat cedera pada pembuluh darah arteri yang besar atau sedang atau vena yang memerlukan tindakan bedah secara cepat untuk mencegah perdarahan. Ketika pembuluh yang lebih kecil seperti arteriol, venula, atau kapiler terluka, maka akan terjadi kontraksi untuk kendali mengurangi perdarahan yang disebut dengan vasokonstriksi. Vasokonstriksi adalah reaksi refleks yang singkat dari otot polos pada dinding pembuluh yang berasal dari cabang simpatis dan syaraf sistem otonom (Kiswari, 2014). Vasokonstriksi terjadi secara reflektoris dan kemudian akan diperahankan oleh faktor local seperti 5-hidroksitriptamin (5-HT, serotonin) dan epinefrin. 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, 2009).

Pembuluh darah dilapisi oleh sel endotel yang mengandung jaringan ikat kolagen dan elastin. Matriks jaringan ikat ini

mengatur permeabilitas dinding pembuluh darah dan memberikan rangsangan utama terhadap cedera yang diikuti terjadinya trombosis pada pembuluh darah. Endotel juga kaya dengan activator plasminogen yang jika dirangsang akan dengan tepat dilepaskan untuk mengaktifkan plasminogen, yang selanjutnya melisis bekuan fibrin dengan cepat. Selain itu, endotelium menguraikan prostasiklin, yang disintesis oleh endotelium dari prekursor prostaglandin yang bersifat sangat menghambat agregasi dan adhesi trombosit (Kiswari, 2014).

b. Sistem Trombosit

Sistem trombosit merupakan sistem yang mempunyai peran penting dalam hemostasis yaitu dengan pembentukan dan stabilisasi sumbat trombosit. Pembentukan sumbat trombosit terjadi melalui tiga tahap yaitu adesi trombosit, agregasi trombosit, dan reaksi pelepasan. Apabila pembuluh darah luka, maka sel endotel akan rusak sehingga jaringan ikat di bawah sel endotel akan terbuka. Hal ini akan menyebabkan adesi trombosit, yaitu suatu proses dimana trombosit melekat pada permukaan asing terutama serat kolagen. Adesi trombosit sangat tergantung pada protein plasma yang disebut faktor von Willebrand's (vWF) yang disintesis oleh sel endotel dan megakariosit. Faktor ini berfungsi sebagai jembatan antara trombosit dan jaringan subendotel (Setiabudy, 2009).

Trombosit akan melekat pada trombosit lain yang disebut dengan agregasi trombosit. Agregasi trombosit bermula dicetuskan oleh ADP yang dikeluarkan oleh trombosit yang melekat pada serat subendotel. Agregasi yang terbentuk disebut agregasi trombosit sekunder yang bersifat irreversibl. Ion kalsium dan fibrinogen juga diperlukan untuk agregasi trombosit. Agregasi trombosit terjadi karena adanya pembentukan ikatan 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. Selanjutnya ion kalsium akan menghubungkan fibrinogen tersebut sehingga terjadi agregasi trombosit (Setiabudy, 2009).

Selama proses agregasi, terjadi perubahan bentuk trombosit dari bentuk cakram menjadi bulat disertai dengan pembentukan pseudopodi. Akibat dari perubahan bentuk ini maka granula trombosit akan terkumpul di tengah dan akhirnya akan melepaskan isinya. Proses ini disebut sebagai reaksi pelepasan (Setiabudy, 2009).

c. Sistem Pembekuan Darah

Pembekuan darah adalah suatu proses reaksi kimia yang melibatkan protein plasma, fosfolipid, dan ion kalsium. Sebagian

besar faktor beredar dalam sirkulasi darah berperan serta dalam proses koagulasi yang diberi tanda dengan angka romawi (Kiswari, 2014). Faktor pembekuan dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Nomenklatur 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	Prower factor
XI	Plasma Thromboplastin Antecedent (PTA)	Antihemophilic factor C
XII	Hageman factor	Contact factor
XIII	Fibrin Stabilizing factor (FSF)	Fibrinase Laki lorand factor
-	High Molecular Weight Kininogen (HMWK)	Fitzgerald factor
-	Pre Kallikrein (PK)	Fletcher factor

Sumber : Setiabudy, 2007.

Teori yang banyak dianut untuk menerangkan proses pembekuan darah adalah *cascade* atau *waterfall* yang dikemukakan oleh Mac Farlane, Davie dan Ratnoff. Menurut teori ini tiap faktor pembekuan darah diubah menjadi bentuk aktif oleh faktor sebelumnya dalam rangkaian reaksi enzimatik. Faktor pembekuan beredar dalam darah sebagai prekursor yang akan diubah menjadi enzim bila diaktifkan. Enzim ini akan mengubah prekursor selanjutnya menjadi enzim. Mula-mula faktor pembekuan darah

bertindak sebagai substrat dan kemudian menjadi enzim (Setiabudy, 2009).

Proses pembekuan darah dimulai melalui dua jalur yaitu jalur yaitu jalur intrinsik dan jalur ekstrinsik. Kedua jalur tersebut kemudian akan bergabung menjadi jalur bersama. Jalur intrinsik dicetuskan oleh aktivasi kontak dan melibatkan F.XII, F.XI, F.IX, F.VIII, HMWK, PK, platelet faktor 3(PF.3) dan ion kalsium. Jalur ekstrinsik yang dicetuskan oleh tromboplastin jaringan dan melibatkan F.VII, ion kalsium. Sedangkan jalur bersama melibatkan F.X, F.V, PF.3, Protrombin dan fibrinogen (Setiabudy, 2009).

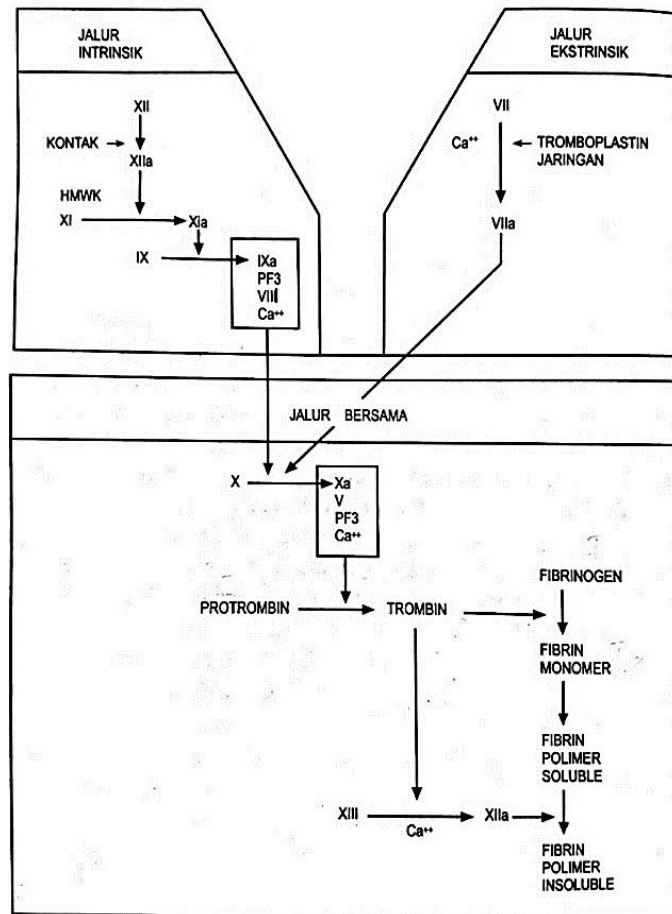
Jalur intrinsik meliputi fase kontak dan pembentukan kompleks aktivator F.X. Kontak antara F.XII dengan permukaan asing seperti serat kolagen akan menyebabkan aktivasi F.XII menjadi F.XIIa. dengan adanya kofaktor HMWK, F.XIIa akan mengubah prekalikrein menjadi kalikrein yang akan meningkatkan aktivasi F.XII. Kalikrein akan mengaktifkan F.VII menjadi 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 (Setiabudy, 2009).

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 kalikrein. Hal ini membuktikan adanya hubungan antara jalur intrinsik dan jalur ekstrinsik. Selanjutnya F.VIIa yang terbentuk akan mengaktifkan F.X menjadi F.Xa (Setiabudy, 2009).

Jalur bersama merupakan gabungan dari jalur intrinsik dan jalur ekstrinsik. 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

manjadi 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. Semula fibrin yang terbentuk bersifat tidak stabil karena mudah larut oleh adanya zat tertentu seperti urea, sehingga disebut fibrin polimer soluble. Adanya F.XIIIa dan ion kalsium, 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 (Setiabudy, 2009).



Gambar 2. Skema Pembekuan Darah
Sumber : Setiabudy, 2009.

4. Pemeriksaan *Plasma Prothrombin Time* (PPT)

Plasma Prothrombin Time (PPT) atau masa prothrombin merupakan uji koagulasi yang sering dilakukan. Pemeriksaan ini bertujuan untuk menilai kemampuan faktor koagulasi ekstrinsik, yaitu faktor I (fibrinogen), faktor II (prothrombin), faktor V (proakselerin), faktor VII (prokonvertin), dan faktor X (faktor stuart). Spesimen yang digunakan dalam pemeriksaan *Plasma Prothrombin Time* (PPT) adalah plasma sitrat 9:1. Antikoagulan yang digunakan dalam bentuk cair

trisodium sitrat dihidrat 3,2% (Riswanto, 2013). Pemeriksaan *Plasma Prothrombin Time* (PPT) membutuhkan reagen tromboplastin jaringan dan ion kalsium. Bila reagen ini dimasukkan ke dalam plasma yang telah diberi antikoaguan sitrat, maka reagen ini akan merangsang pembekuan melalui jalur ekstrinsik dengan mengaktifkan faktor X secara langsung tanpa melibatkan trombosit atau prokoagulan pada jalur intrinsik (Kiswari, 2014).

Plasma harus mengandung sedikitnya 100 mg/dL fibrinogen dan kadar faktor X, VII, V, dan prothrombin secara adekuat untuk menghasilkan masa prothrombin yang normal (Kiswari, 2014). Nilai rujukan pemeriksaan *Plasma Prothrombin Time* (PPT) adalah 11-18 detik dan untuk penderita terapi antikoagulan, hasil PPT penderita 1,5-2,0 kali kontrol normal (Riswanto, 2013). Hasil pemeriksaan ini dipengaruhi oleh kepekaan tromboplastin yang dipakai dan teknik pemeriksaan yang digunakan, sehingga pemeriksaan ini harus dilakukan secara duplo dan disertai kontrol dengan plasma normal (Setiabudy, 2009).

Masalah klinis pemeriksaan *Plasma Prothrombin Time* (PPT) dapat dilihat dari hasil pemeriksaan yang diperoleh. Masalah tersebut terbagi menjadi dua yaitu hasil PPT memanjang dan hasil PPT memendek. Hasil *Plasma Prothrombin Time* (PPT) memanjang dapat disebabkan kurangnya faktor-faktor pembekuan di jalur ekstrinsik dan bersama atau adanya inhibitor. Perbedaan ini dapat diketahui dengan

pemeriksaan diulang sekali dengan menggunakan campuran plasma penderita dan plasma kontrol dengan perbandingan 1:1. Bila ada inhibitor, maka hasil tetap memanjang (Setiabudy, 2009). Hasil PPT memanjang dapat dijumpai pada pasien penderita penyakit hati, afibrinogenemia, defisiensi faktor koagulasi (II, V, VII, X), *disseminated intravascular coagulation* (DIC), fibrinolisis, *hemorrhagic disease of the newborn* (HDN), serta gangguan reabsorpsi usus. Selain itu, penyebab hasil PPT memanjang juga disebabkan pengaruh obat-obatan seperti terapi vitamin K antagonis, antibiotik, antikoagulan oral, klorpromazin (Thorazine), klordiazepoksid (Librium), difenilhidantoin (Dilantin), heparin, metildopa (Aldomet), mitramisin, reserpin (Serpasil), fenilbutazon (Butazolidin), quinidin, salisilat (aspirin), dan sulfonamide. Hasil *Plasma Prothrombin Time* (PPT) memendek dapat dijumpai pada pasien penderita tromboflebitis, infark miokardial, dan embolisme paru. Selain itu, penyebab hasil PPT memendek juga disebabkan pengaruh obat-obatan seperti barbiturate, digitalis, diuretika, difenhidramin (Benadryl), kontrasepsi oral, rifampin, metaproterenol (Riswanto, 2013).

5. Pra Analitik Pemeriksaan Hemostasis

Kontribusi kesalahan terbesar di laboratorium klinik yaitu pada tahap pra analitik sebesar 62%, sedangkan tahap analitik dan pasca analitik yaitu 15 % dan 23% (R Mengko, 2013). Kualitas hasil

laboratorium tergantung pada penanganan yang tepat dari spesimen dalam fase pra analitik, yang mencakup semua langkah yang dilakukan sebelum pemeriksaan spesimen yang sebenarnya (Riswanto, 2013). Faktor – faktor pra analitik yang mempengaruhi hasil pemeriksaan hemostasis diantaranya adalah :

a. Identifikasi pasien

Mempersiapkan pasien penting dilakukan untuk meminimalkan faktor fisiologis yang berhubungan dengan kegiatan yang mungkin mempengaruhi hasil uji laboratorium (Kiswari, 2014). Sebaiknya sebelum melakukan pengambilan spesimen darah, pasien diberi penjelasan macam tindakan yang akan dilakukan untuk pengambilan darah dan persiapan apa yang perlu dilakukan sebelum pengambilan darah (Riswanto, 2013). Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan diantaranya umur, ketinggian, dehidrasi, diet, variasi diurnal, terapi obat, olahraga, demam, jenis kelamin, ikterus, posisi, kehamilan, merokok, stress, suhu dan kelembapan, dan lain-lain (Kiswari, 2014).

b. Pengumpulan spesimen

Pengumpulan spesimen merupakan salah satu tahapan yang penting untuk menentukan valid tidaknya sebuah hasil pemeriksaan. Spesimen merupakan bahan yang berasal dari penderitanya berupa cairan tubuh, swab (olesan), kerokan, tinja

(feses), dahak (sputum), jaringan/organ, dan sebagainya (Riswanto, 2013). Jenis spesien yang digunakan dalam pemeriksaan hematologi di dalamnya termasuk pemeriksaan hemostasis adalah darah.

Spesimen darah diperoleh melalui kegiatan flebotomi. Flebotomi merupakan tindakan pemotongan atau penusukan vena untuk mendapatkan darah. Lokasi yang paling sering dijadikan sebagai tempat pengambilan sampel adalah pada lengan (*fossa cubiti*) dan vena yang direkomendasikan sebagai tempat penusukan adalah pada vena cephalia, vena mediana cubiti, vena basilica, vena-vena lengan bawah, dan vena-vena pada punggung tangan. Tindakan flebotomi harus dilakukan secara aman (pasien dan petugas), benar, tepat, dan dengan komplikasi yang seminimal mungkin (Tahono dkk., 2012). Peralatan yang digunakan untuk pengambilan spesimen darah terdiri dari alat suntik (*syringe*) dengan jarumnya, peralatan sampling dengan sistem vakum (jarum, holder, tabung vakum), tali pembendung (*tourniquet*), tabung sampel darah, lanset, dan kapas (Riswanto, 2013).

1) Alat Suntik (*syringe*)

Alat suntik adalah sebuah pompa piston sederhana yang terdiri dari sebuah tabung silinder berskala dalam milimeter (ml), pendorong (*plunger*), dan jarum. Jarum yang digunakan untuk pengambilan sampel darah vena ada tiga macam, yaitu

jarum hipodermik (*hypodermic needles*), jarum multisampel (*multisampel needles*), dan jarum bersayap (*wing needles*). Jarum yang digunakan untuk pengambilan sampel dalam pemeriksaan hemostasis bisa menggunakan jarum multisampel (Riswanto, 2013).

Jarum multisampel digunakan untuk pengumpulan 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 didiselubungi oleh bahan dari karet sehingga dapat mencegah darah dari pasien mengalir keluar. Keuntungan menggunakan metode pengambilan ini adalah tidak perlu membagi-bagi sampel darah ke dalam beberapa tabung (Riswanto, 2013).

2) Tabung Penampung Sampel Darah

Tabung penampung sampel darah dibuat dari bahan gelas atau plastik dengan berbagai ukuran/ volume. Ukuran tabung disesuaikan dengan volume sampel darah yang diinginkan, jenis pemeriksaan, jenis sampel darah (vena atau kapiler), usia pasien, dan kondisi vena pasien. Tabung penampung darah biasanya berisi zat-zat aditif, misalnya zat penghambat

pembekuan darah (antikoagulan), dengan plastik penutup tabung berwarna-warni yang menunjukkan jenis antikoagulan (Riswanto, 2013).

3) *Holder*

Holder adalah tabung silinder berbahan plastik yang berfungsi sebagai tempat atau pegangan jarum multisampel, digunakan dalam pengambilan darah vena dengan menggunakan tabung vakum (Riswanto, 2013).

4) *Tourniquet*

Tourniquet merupakan alat yang diikatkan di lengan pasien sebelum pungsi vena untuk membatasi atau menahan aliran darah. Penggunaan *tourniquet* yang benar adalah cukup ketat untuk membatasi atau menahan aliran darah vena, tetapi tidak menghalangi atau membatasi aliran darah arteri (Kiswari, 2014).

c. Antikoagulan

Penambahan antikoagulan merupakan salah satu cara yang dapat dilakukan agar sampel darah tidak membeku. Aktivitas zat antikoagulan pada dasarnya adalah dengan mengikat atau mendendapkan ion kalsium (Ca). Ion kalsium adalah salah satu faktor pembekuan (faktor IV), tanpa kalsium pembekuan tidak terjadi, dan akan menghambat pembentukan trombin. Trombin adalah enzim yang berperan dalam perubahan fibrinogen menjadi

fibrin. Jenis- jenis antikoagulan di antaranya adalah kalium etilen diamin tetraasetat (K_3EDTA), natrium sitrat (*sodium citrate*), oksalat, heparin, asam sitrat dekstrosa (ACD), serta natrium polianetol sulfonate (SPS) (Kiswari, 2014).

Menurut *International Committee for Standarization in Hematology* (ICSH) dan *International Society for Thrombosis and Hematology*, antikoagulan yang direkomendasikan untuk pemeriksaan kosagulasi adalah antikoagulan natrium sitrat dengan konsentrasi 3,2%. Cara kerja antikoagulan ini yaitu dengan mengendapkan ion kalsium sehingga menjadi bentuk yang tidak aktif (Kiswari, 2014).

d. Transportasi Spesimen

Transportasi darah, urin, cairan tubuh, dan spesimen jaringan dari situs koleksi ke laboratorium merupakan komponen yang penting dari pengolahan. Perlakuan terhadap spesimen darah harus diperhatikan untuk menghindari hemolisis. Spesimen harus dilindungi dari kontak langsung dengan cahaya, yang menyebabkan kerusakan analit tertentu. Untuk pengujian konstituen yang tidak stabil maka spesimen harus disimpan pada suhu 4°C segera setelah pengumpulan. Stabilitas konstituen harus diketahui sebelum spesimen diangkut. Informasi tersebut biasanya disediakan oleh Laboratorium bersama dengan instruksi untuk persiapan spesimen dan pengiriman. Spesimen membutuhkan

pendinginan yang harus dipertahankan pada suhu 2-10°C dan disimpan dalam wadah yang terisolasi (Kiswari, 2014).

e. Pengolahan dan Penyimpanan Spesimen

Pengolahan spesimen mencakup tiga tahap yang berbeda, yaitu prasentrifugasi, sentrifugasi, dan pascasentrifugasi. Idelanya, semua pengujian harus dilakukan dalam waktu 45 menit sampai 1 jam setelah pengumpulan, dan sampel darah harus tetap berada dalam wadah tertutup aslinya sampai siap untuk pemisahan. Hal tersebut untuk mencegah penguapan air dalam serum atau plasma. Persiapan plasma dengan melakukan sentrifugasi darah maksimal 1 jam setelah pengumpulan dan harus disimpan pada suhu 4-5°C jika pengujian harus tertunda selama lebih dari 4 jam. Sentrifugasi paling sering dilakukan dalam pengolahan darah untuk mendapatkan plasma (Kiswari, 2014).

f. Penolakan Spesimen

Kegagalan dalam melakukan prosedur tertentu dapat mengakibatkan penolakan spesimen. Jenis spesimen yang tidak tepat, pengawet yang salah, hemolisis, lipemia, pembekuan, dan lain-lain, adalah beberapa alasan ditolaknya spesimen. Oleh karena itu, penting untuk benar-benar memperhatikan di semua aspek identifikasi pasien, pengumpulan spesimen, transportasi, dan pengolahannya.

6. Kesalahan dalam Pemakaian *Tourniquet*

Pengumpulan sampel darah vena merupakan tahap pra analitik yang sangat penting. Tahap ini memerlukan beberapa alat, salah satunya adalah *tourniquet*. Tujuan pemakaian *tourniquet* yaitu agar pembuluh darah tampak lebih melebar dan menonjol karena pembendungan, serta dindingnya menjadi lebih tipis sehingga lebih mudah ditembus oleh jarum (Kiswari, 2014). Kesalahan sering terjadi dalam penggunaan *tourniquet* pada pasien saat proses pengambilan sampel darah vena, diantaranya adalah pemakaian *tourniquet* yang terlalu lama. Berdasarkan pengamatan peneliti di lapangan serta hasil survey kepada beberapa teknisi laboratorium di Yogyakarta, pemasangan *tourniquet* yang terlalu lama biasa disebabkan karena faktor keadaan pasien seperti pasien obesitas, pasien anak-anak, dan pasien orang tua yang venanya sulit ditemukan atau vena yang terlalu tipis.

Menurut CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*) yang tercantum dalam jurnal Magnette,dkk. (2016) pemasangan *tourniquet* harus dilakukan kurang dari 1 menit untuk mencegah terjadinya hemokonsentrasi, peningkatan fibrinogen dan faktor VII, VIII, XII serta aktivasi sel endotel dan fibrinolisis. Selain itu, ICSH (*International Council for Standardisation in Haematology*) menyatakan bahwa apabila pemasangan *tourniquet* melebihi waktu 2-3 menit, maka akan meningkatkan konsentrasi elemen sel, molekul yang

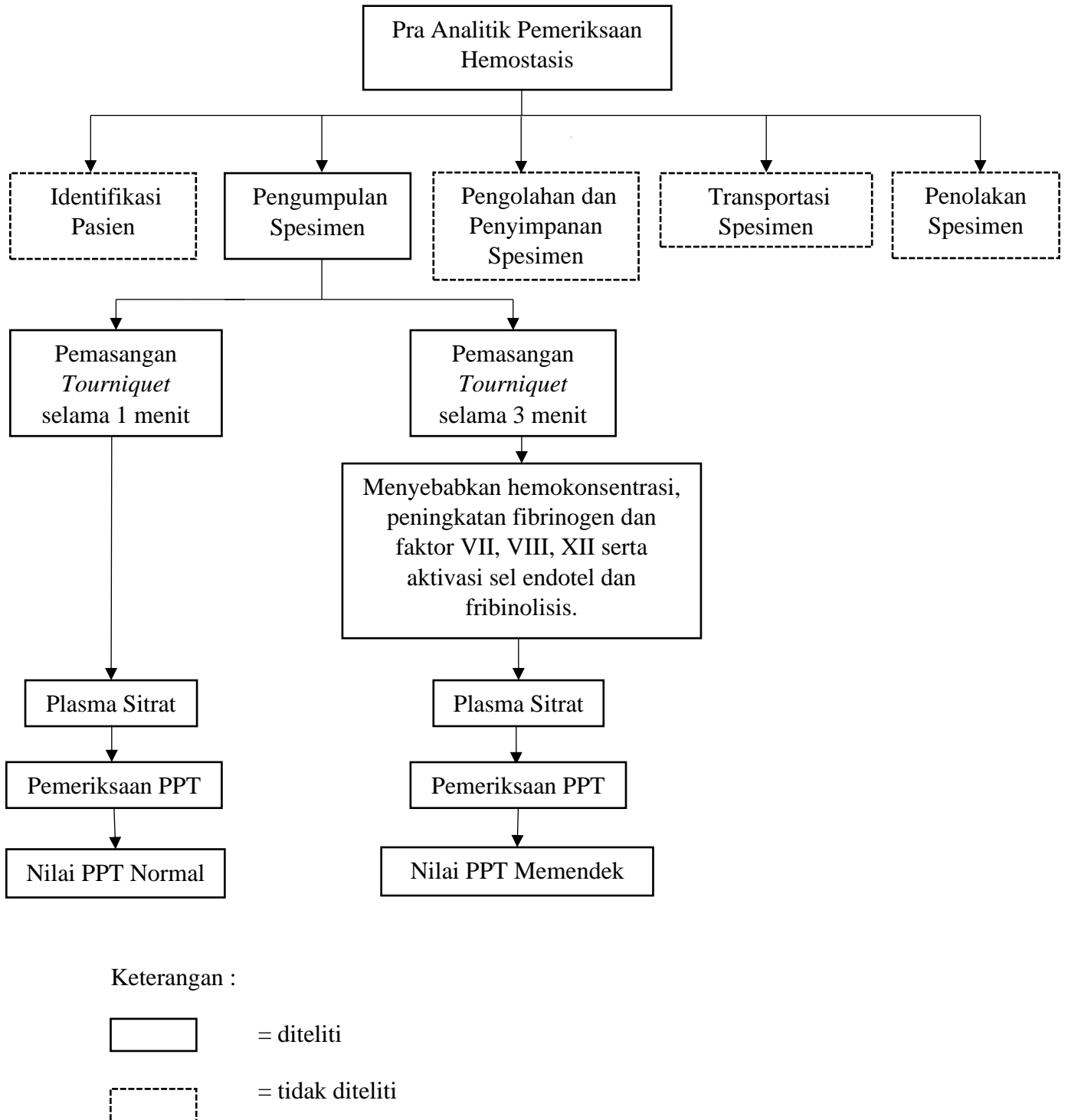
lebih besar dan senyawa yang terikat protein, yang dapat mempengaruhi hasil tes koagulasi. Pemasangan *tourniquet* yang terlalu lama juga dapat menghasilkan stasis vena yang tidak perlu atau hemolisis in vitro, yang bisa menimbulkan bias palsu dan bermakna secara klinis dalam pengukuran beberapa parameter hematologi, diantaranya dalam pemeriksaan hemostasis.

7. Alat *Coagulometer Analyzer*

Alat yang digunakan dalam pemeriksaan hemostasis adalah *Coagulometer Analyzer*. Alat ini digunakan terutama untuk mendeteksi kelainan pada pembekuan darah yang berhubungan dengan penyakit tromboembolitik, trombositopenia, fungsi hati yang buruk, hemofilia, dan kondisi lain (Mengko, 2013).

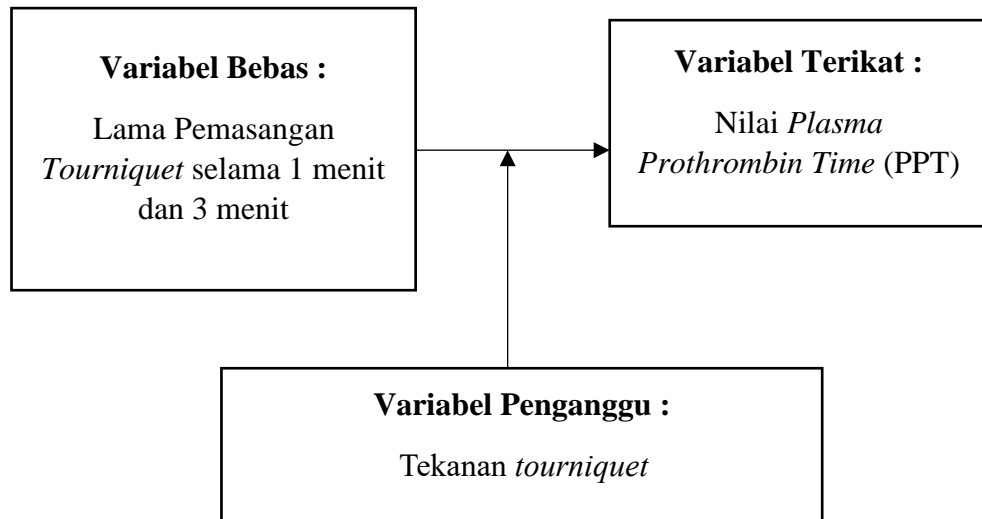
Metode yang digunakan alat *coagulation analyzer* adalah turbodensitometri. Prinsip pengukuran metode ini yaitu berkas cahaya yang melewati kuvet berisi plasma akan ditangkap foto detektor. Intensitas cahaya yang ditransmisikan diubah menjadi sinyal listrik. Pengaduk mencampur reagen dan plasma dalam 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 3. Kerangka Teori

C. Hubungan Antar Variabel



Gambar 4. Hubungan Antar Variabel

D. Hipotesis

Nilai *Plasma Prothrombin Time* (PPT) dengan lama pemasangan *tourniquet* selama 1 menit dan 3 menit memberikan hasil yang berbeda.