

## **BAB 2**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Tinjauan Umum Darah**

##### **2.1.1 Pengertian Umum Darah**

Darah adalah jaringan tubuh yang berbeda dengan jaringan tubuh lain, berada dalam bentuk konsistensi cair, beredar dalam suatu sistem tertutup yang dinamakan sebagai pembuluh darah dan menjalankan fungsi transpor sebagai bahan serta fungsi hemostatis (Sadikin M, 2002). Darah terdiri dari 2 komponen yaitu plasma darah dan butir-butir darah. Plasma darah adalah bagian cair darah yang sebagian besar terdiri atas air, elektrolit dan protein darah. Butir-butir darah (Blood corpuscles) terdiri atas 3 elemen yaitu eritrosit (sel darah merah), leukosit (sel darah putih), dan trombosit (butir pembeku/platelet) (Sitompul J, 2001).

Darah merupakan bagian dari tubuh yang jumlahnya 60-80% dari berat badan, dengan viskositas darah 4,5 kali lebih besar dari pada air. Darah merupakan jaringan yang berbentuk cairan, terdiri dari dua bagian yaitu plasma darah dan sel darah. Plasma darah meliputi 55% volume darah merupakan substansi non seluler, sedangkan 45% dari volume darah meliputi sel darah. Sel darah terdiri dari sel darah merah, sel darah putih, dan trombosit (Johan Sitompul, 2001). Komponen cairan darah dinamakan plasma, 91-92% terdiri dari air sebagai medium transport dan 7-9% terdiri dari zat padat. Zat-zat padat itu adalah proteinprotein seperti albumin, globulin, dan fibrinogen serta unsure anorganik berupa natrium, kalsium, kalium, fosfor, besi, dan yodium. Unsur organik berupa zat-zat nitrogen, non protein, urea, asam urat, xantin, kreatinin, asam amino,

lemak netral, fosfolipid, kolesterol, glukosa, dan berbagai enzim. Fibrinogen yang hanya berjumlah 4% penting untuk pembentukan darah (Price A.Sylvia, 2005).

Fungsi utama darah adalah untuk transportasi sel darah merah tetap berada dalam sistem sirkulasi dan mengandung pigmen pengangkut oksigen hemoglobin. Sel darah putih bertanggung jawab terhadap pertahanan tubuh dan diangkut oleh darah ke berbagai jaringan tempat sel-sel tersebut melakukan fungsi fisiologisnya. Trombosit berperan mencegah tubuh kehilangan darah akibat perdarahan dan melakukan fungsi utamanya di dinding pembuluh darah. Protein plasma merupakan pengangkut utama zat gizi dan produk sampingan metabolik ke organ-organ tujuannya untuk penyimpanan atau ekskresi. Banyak protein besar yang tersuspensi di dalam plasma juga menarik perhatian ahli hematologi, terutama protei-protein yang berkaitan dengan pencegahan perdarahan melalui proses pembekuan darah (koagulasi) (Sacher, 2004).

### **2.1.2 Plasma**

Plasma darah terdiri dari air, plasma darah ini memiliki fungsi mengangkut sari makanan ke dalam sel dan membawa sisa pembakaran dari sel ke tempat pembuangan, plasma darah ini juga bermanfaat untuk menghasilkan zat antibodi untuk menjaga kekebalan tubuh dari penyakit.

Apabila jumlah volume darah ditambah dengan zat pencegah anti pembekuan darah secukupnya dalam satu wadah, misalnya tabung, kemudian diputar (setrifuge) dengan kecepatan 3000 rpm selama 20 menit maka setelah itu akan terdapat bagian cairan yang terpisah dari bagian korpuskuli yang terdapat pada bagian bawah. Cairan yang terdapat pada bagian atas disebut plasma. Plasma darah mengandung fibrinogen. Oleh karena itu dalam memperoleh plasma, darah

dicampur dengan antikoagulan untuk mencegah terjadinya pembekuan darah (Depkes RI, 2001).

Zat-zat yang terdapat dalam plasma darah adalah sebagai berikut :

1. Fibrinogen yang berguna dalam peristiwa pembekuan darah
2. Garam-garam mineral (garam kalsium, kalium, natrium, dll) yang berguna dalam metabolisme dan juga mengadakan osmotik
3. Protein darah (albumin, globulin) meningkatkan viskositas darah juga menimbulkan tekanan osmotik untuk memelihara keseimbangan cairan dalam tubuh
4. Zat makanan (asam amino, glukosa, lemak, mineral, dan vitamin)
5. Hormon, yaitu suatu zat yang dihasilkan dari kelenjar tubuh
6. Antibodi (Manucci, 1998)

Sisanya diisi oleh sejumlah bahan organik, yaitu : glukosa, asam amino, asam lemak, kolesterol, urea, asam urat dan kreatinin. Plasma juga berisi gas (oksigen dan karbondioksida), enzim, hormon, dan antigen (Pearce, 2000).

## **2.2 Pemeriksaan Hematologi**

Laboratorium hematologi berperan mendefinisikan sel darah atau pigmen darah yang normal dan abnormal serta menentukan sifat kelainan tersebut. Laboratorium koagulasi berperan mengevaluasi orang dengan gangguan hemostatis, baik perdarahan berlebihan maupun koagulasi abnormal atau trombosis. Pemeriksaan laboratorium sangat penting untuk mengetahui kesejahteraan pasien secara keseluruhan dan sering digunakan dalam pemeriksaan penapisan kesehatan (Sacher, 2004).

Pemeriksaan laboratorium hematologi yang meliputi penetapan kadar hemoglobin, hitung jumlah leukosit, eritrosit, trombosit, retikulosit, hematokrit, penetapan laju endap darah. Parameter-parameter tersebut dapat dilakukan dengan manual dan otomatis.

**Tabel 2.1. Nilai pemeriksaan darah lengkap pada populasi normal automatic**

| Parameter                                      | Laki-Laki        | Perempuan        |
|--|------------------|------------------|
| Hitung Leukosit ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )  | 7.8 (4.4–11.3)   |                  |
| Hitung eritrosit ( $\times 10^6/\mu\text{L}$ ) | 5.21 (4.52–5.90) | 4.60 (4.10–5.10) |
| Hemoglobin (g/dl)                              | 15.7 (14.0–17.5) | 13.8 (12.3–15.3) |
| Hematokrit (%)                                 | 46 (42–50)       | 40 (36–45)       |
| MCV (fL)                                       | 88.0 (80.0–96.1) |                  |
| MCH (pg)                                       | 30.4 (27.5–33.2) |                  |
| MCHC   | 34.4 (33.4–35.5) |                  |
| RDW (%)  | 13.1 (11.5–14.5) |                  |
| Hitung trombosit ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ ) | 311 (172–450)    |                  |

### 2.2.1 Penetapan kadar hemoglobin

Struktur Hb dinyatakan dengan menyebut jumlah dan jenis rantai globin yang ada. Terdapat 141 molekul asam amino pada rantai alfa, dan 146 mol asam amino pada rantai beta, gama dan delta. Molekul yang terdiri dari kandungan heme (zat besi) dan rantai polipeptida globin (alfa, beta, gama, dan delta) berada di dalam eritrosit dan bertugas untuk mengangkut oksigen. Kualitas darah ditentukan oleh kadar hemoglobin.

Terdapat berbagai cara untuk menetapkan kadar hemoglobin tetapi yang sering dikerjakan di laboratorium adalah yang berdasarkan kolorimeterik visual cara Sahli dan fotoelektrik cara sianmethemoglobin atau hemiglobinsianida. Cara Sahli kurang baik, karena tidak semua macam hemoglobin diubah menjadi hematin asam misalnya karboksihemoglobin, methemoglobin dan

sulfhemoglobin. Selain itu alat untuk pemeriksaan hemoglobin cara Sahli tidak dapat distandarkan, sehingga ketelitian yang dapat dicapai hanya  $\pm 10\%$ .

### **2.2.2 Hitung jumlah leukosit**

Hitung leukosit adalah menghitung jumlah leukosit per milimeter kubik atau mikroliter darah. Leukosit merupakan bagian penting dari sistem pertahanan tubuh, terhadap benda asing, mikroorganisme atau jaringan asing, sehingga hitung jumlah leukosit merupakan indikator yang baik untuk mengetahui respon tubuh terhadap infeksi. Leukosit mempunyai fungsi utama untuk melawan kuman yang masuk ke dalam tubuh, yaitu dengan cara memakannya yang disebut fagositosis. Jumlah leukosit dapat naik turun tergantung dari ada tidaknya infeksi kuman-kuman tertentu.

Leukosit dapat dibedakan menjadi dua kelompok, yaitu granulosit bila plasmanya bergranuler dan agranulosit bila plasmanya tidak bergranular. Jumlah Leukosit normal adalah  $4.000-11.000 / mm^3$  (Istamar, 2004).

### **2.2.3 Hitung jumlah trombosit**

Komponen sel darah yang dihasilkan oleh jaringan oleh jaringan hemopoetik, dan berfungsi utama dalam proses pembekuan darah. Penurunan sampai dibawah  $100.000 / \mu L$ . Berpotensi untuk terjadinya perdarahan dan hambatan pembekuan darah.

Trombosit atau platelet bukan merupakan sel, melainkan pecahan granular sel, berbentuk pipih dan tidak berinti. Trombosit juga merupakan bagian terkecil dari unsur selular sumsum tulang dan sangat penting perannya dalam hemostasis dan faktor pembekuan. Merupakan sel kecil kira-kira sepertiga ukuran sel darah

merah. Terdapat 300.000 trombosit dalam setiap millimeter kubik darah (Ganong, 2002).

Jumlah normal: 150.000-400.000/ $\mu$ L

#### **2.2.4 Hitung Retikulosit**

Retikulosit ialah sel yang mengandung sisa inti RNA yang tinggal di sitoplasma yang tersusun retikuler berupa fragmen, yang dapat terlihat bila di cat supravital (BCB=Brilliant Cresyl Blue) atau New Methylene Blue (Pestariati, 2013).

Ada 2 metode pewarnaan:

1. Metode dengan sediaan basah (cepat)
2. Metode dengan sediaan kering (untuk menyimpan sediaan)

Normal: 0.5 – 1.5 % dari jumlah Retikulosit

25.000-75.000 retikulosit per  $\mu$ L darah

#### **2.2.5 Hitung Hematokrit**

Hematokrit ialah volume semua eritrosit dalam 100 ml darah dan disebut dengan persen dan dari volume darah itu. Biasanya nilai itu ditentukan darah vena atau kapiler. Nilai normal untuk pria 40-48 volume % dan perempuan 37-43 volume %. Penetapan hematokrit dapat dilakukan sangat teliti, kesalahan metodik rata-rata  $\pm$  2%. Hasil itu kadang-kadang sangat penting untuk menentukan keadaan klinis yang menjurus kepada tindakan darurat (Soebrata R.Ganda, 2001).

Nilai hematokrit biasanya mulai meningkat pada hari ketiga dari perjalanan penyakit dan makin meningkat sesuai dengan proses perjalanan penyakit demam berdarah. Seperti telah disebutkan bahwa peningkatan nilai hematokrit merupakan manifestasi hemokonsentrasi yang terjadi akibat kebocoran

plasma. Akibat kebocoran ini volume plasma menjadi berkurang yang dapat mengakibatkan terjadinya syok hipovolemik dan kegagalan sirkulasi. Pada kasus-kasus berat yang telah disertai perdarahan, umumnya nilai hematokrit tidak meningkat bahkan malah menurun (Hadinegoro, 2000).

### **2.2.6 Laju endap darah**

Laju endap darah *ESR* (*erithrocyte sedimentation rate*) adalah kecepatan sedimentasi eritrosit dalam darah yang belum membeku, dengan satuan mm/jam. LED merupakan uji yang tidak spesifik. LED dijumpai meningkat selama proses inflamasi akut, infeksi akut dan kronis, kerusakan jaringan (nekrosis), penyakit kolagen, rheumatoid, malignansi, dan kondisi stress fisiologis (misalnya kehamilan).

Metode yang digunakan untuk pemeriksaan LED ada dua, yaitu metode wintrobe dan westergreen. Hasil pemeriksaan LED dengan menggunakan kedua metode tersebut sebenarnya tidak seberapa selisihnya jika nilai LED masih dalam batas normal. Tetapi jika nilai LED meningkat, maka hasil pemeriksaan dengan metode wintrobe kurang menyakinkan. Dengan metode westergreen bisa didapat nilai yang lebih tinggi, hal itu disebabkan panjang pipet westergreen yang dua kali panjang pipet wintrobe. *International Commitee for Standardization in Hematology (ICSH)* merekomendasikan untuk menggunakan metode westergreen.

**Tabel 2.2 Nilai Rujukan metode westergreen dan metode Wintrobe**

| Nilai Rujukan      |             |                 |             |
|--------------------|-------------|-----------------|-------------|
| Metode Westergreen |             | Metode Wintrobe |             |
| Laki-laki          | 0-15 mm/jam | Laki-laki       | 0-9 mm/jam  |
| Perempuan          | 0-20 mm/jam | Perempuan       | 0-15 mm/jam |

Mesin penghitung otomatis tidak dapat diandalkan dalam menghitung sel abnormal. Dalam hal ini diperlukan pemeriksaan manual terhadap hapusan darah. Pemeriksaan secara mikroskopik akan memberikan informasi mengenai lekosit-lekosit yang abnormal dan variasi bentuk eritrosit. Pemeriksaan manual juga dapat memberikan informasi mengenai adanya jenis sel lain yang biasanya tidak dijumpai dalam darah tepi, misalnya sel plasma. Selain itu, adanya trombosit yang menggerombol (*clumps*) yang menyebabkan rendahnya jumlah trombosit pada pemeriksaan otomatis dapat dikonfirmasi dengan pemeriksaan hapusan darah.

Dalam kasus jumlah sel yang sangat tinggi dimana analyzer tidak mampu menghitungnya, maka pemeriksaan manual menjadi pilihan untuk dilakukan. Pada pemeriksaan secara manual ini darah diencerkan dulu dengan tingkat pengenceran yang lebih tinggi.

## 2.3 Pembekuan Darah

### 2.3.1 Pengertian Pembekuan Darah (Hemostasis)

**Hemostasis** atau **haemostasis** berasal dari bahasa **Yunani**: *aimóstasis*, yang terdiri dari dua kata yaitu *áima* yang berarti “darah” dan *stásis* yang berarti “stagnasi”. Pembekuan darah adalah proses komponen cairan darah ditransformasi menjadi material semisolid yang dinamakan bekuan darah. Bekuan darah tersusun terutama oleh sel-sel darah yang terperangkap dalam jaring-jaring fibrin. Fibrin adalah suatu protein yang tidak larut berupa benang berbentuk

semacam jaring-jaring fibrin yang terbentuk berasal dari fibrinogen yang terdapat dalam plasma dalam keadaan larut. Berubahnya fibrin dari fibrinogen ini karena adanya trombin, yaitu suatu proteolitik enzim yang baru bisa bekerja apabila dalam keadaan aktif (Price, 2005).

Hemostasis bertujuan untuk menjaga agar darah tetap cair di dalam arteri dan vena, mencegah kehilangan darah karena luka, memperbaiki aliran darah selama proses penyembuhan luka. Jadi dalam proses hemostasis terjadi 3 reaksi yaitu reaksi vascular berupa vasokonstriksi pembuluh darah, reaksi selular yaitu pembentukan sumbat trombosit, dan reaksi biokimiawi yaitu pembentukan fibrin. Faktor-faktor yang memegang peranan dalam proses hemostasis adalah pembuluh darah, trombosit, dan faktor pembekuan darah. Selain itu faktor lain yang juga mempengaruhi hemostasis adalah faktor ekstrasvaskular, yaitu jaringan ikat disekitar pembuluh darah dan keadaan otot (Anonim, 2009)

Dua tes laboratorium yang digunakan umumnya untuk mengevaluasi gangguan koagulasi: Prothrombin time (PT) yang mengukur integritas sistem ekstrinsik serta faktor-faktor umum untuk kedua sistem dan Activated Partial Thromboplastin Time (APPT) yang mengukur integritas sistem intrinsik dan komponen umum (George, 2002).

Pemeriksaan faal hemostasis adalah suatu pemeriksaan yang bertujuan untuk mengetahui faal hemostatis serta kelainan yang terjadi. Pemeriksaan ini bertujuan untuk mencari riwayat perdarahan abnormal, mencari kelainan yang mengganggu faal hemostatis, riwayat pemakaian obat, riwayat perdarahan dalam keluarga (Bakta, 2007).

**Tabel 2.3. Pemeriksaan Faal Hemostasis**

| No. | Pemeriksaan Faal Hemostasis                   |                                    |
|-----|---|------------------------------------|
|     | Tes Penyaring                                 | Tes Khusus                         |
| 1.  | Percobaan pembendungan                        | Tes faal trombosit                 |
| 2.  | Masa Pendarahan                               | Tes <i>Ristocetin</i>              |
| 3.  | Hitung Trombosit                              | faktor spesifik (faktor pembekuan) |
| 4.  | Masa protrombin plasma(PT)                    | Pengukuran alpha-2 antiplasmin     |
| 5.  | Masa tromboplastin partial teraktivasi (APTT) |                                    |
| 6.  | Masa Trombin (TT)                             |                                    |

( Setiabudi, 2009)

Menurut Howell, proses pembekuan darah dibagi menjadi 3 stadium yaitu:

Stadium 1 : pembentukan tromboplastin

Stadium 2 : perubahan dari protrombin → trombin

Stadium 3 : perubahan dari fibrinogen → fibrin

Langkah-langkah faktor ekstrinsik dan intrinsik dalam pembekuan darah. Apabila jaringan mengalami cedera, jalur ekstrinsik akan diaktivasi dengan pelepasan substansi yang dinamakan tromboplastin Sesuai urutan reaksi, protombin mengalami konversi trombin yang pada gilirannya mengkatalisir fibrinogen→fibrin. Kalsium merupakan ko-faktor yang diperlukan dalam berbagai reaksi ini. Pembekuan darah melalui jalur (intrinsik diaktivasi saat lapisan kolagen pembuluh darah terpajan. Faktor pembekuan kemudian secara berurutan akan diaktifkan, seperti jalur ekstrinsik sampai pada akhirnya terbentuk fibrin (Anonim, 2011).

### 2.3.1 Faktor-faktor Pembekuan

Faktor-faktor pembekuan adalah prekursor enzim maupun kofaktor, yaitu kemampuan menghidrolisa ikatan peptide tergantung pada asam amino serin pada inti aktifnya. Pembekuan menyatakan serangkaian kompleks reaksi yang mengakibatkan pengawasan pendarahan melalui pembentukan bekuan trombosit dan fibrin ditempat cedera. Pembekuan disusul oleh resolusi atau lisis bekuan dan regenerasi endotel (Price, 2005).

Pembagian faktor-faktor pembekuan adalah sebagai berikut:

1. Faktor I : disebut fibrinogen, adalah suatu glikoprotein dengan berat molekul 330.000 dalton, tersusun atas 3 pasang rantai polipeptida. Kadar fibrinogen meningkat pada keadaan yang memerlukan hemostasis dan pada keadaan nonspesifik, misalnya inflamasi, kehamilan, dan penyakit autoimun.
2. Faktor II : Disebut dengan protrombin, dibentuk di hati dan memerlukan vitamin K. Faktor ini merupakan prekursor enzim proteolitik tromion dan mungkin asselerator konversi protrombin lain.
3. Faktor III : Merupakan tromboplastin Jaringan yang berupa lipoprotein jaringan activator protombin. Sifat produk jaringan ini dalam kaitannya dengan aktivitas pembekuan belum banyak diketahui, sehingga sulit dinyatakan sebagai faktor spesifik.
4. Faktor IV : Merupakan Ion kalsium yang diperlukan untuk mengaktifkan protrombin dan pembentukan fibrin.
5. Faktor V : Dikenal sebagai proasselerin atau faktor labil, protein ini dibentuk oleh hati dan kadarnya menurun pada penyakit hati. Faktor ini

merupakan faktor plasma yang mempercepat perubahan protrombin menjadi trombin.

6. Faktor VI : Istilah ini tidak dipakai
7. Faktor VII : Merupakan asselerator koversi protrombin serum, dibuat di hati dan memerlukan vitamin K dalam pembentukannya. Faktor ini merupakan faktor serum yang mempercepat perubahan protrombin.
8. Faktor VIII : Dikenal sebagai faktor antihemofili, tidak dibentuk di hati. Merupakan faktor plasma yang berkaitan dengan faktor III trombosit dan faktor chrismas (IX), mengaktifkan protrombin.
9. Faktor IX : Disebut dengan faktor chrismas, dibuat di hati memerlukan vitamin K. Merupakan faktor serum yang berkaitan dengan faktor III trombosit dan VII AHG mengaktifkan protrombin.
10. Faktor X : Disebut dengan faktor stuart-power, dibuat di hati dan memerlukan vitamin K. Merupakan kunci dari semua jalur aktivasi faktor-faktor pembekuan.
11. Faktor XI : Sebagai antisenden tromboplastin plasma, dibentuk di hati tetapi tidak memerlukan vitamin K.
12. Faktor XII : Disebut faktor Hageman. Merupakan faktor plasma mengaktifkan PTA (faktor XII)
13. Faktor XIII : Merupakan faktor untuk menstabilkan fibrin, diproduksi di hati maupun megakariosit. Faktor ini menumbulkan bekuan fibrin yang lebih kuat yang tidak larut dalam urea.

Faktor-faktor pembekuan dengan pengecualian faktor III (tromboplastin) dan faktor IV (ion Ca), merupakan protein plasma. Mereka bersirkulasi dalam darah

sebagai molekul-molekul nonaktif. Prekalikrein dan koninogen berat molekul besar, bersama-sama dengan faktor XI dan faktor XII dinamakan faktor kontak. Pengaktifan faktor pembekuan diduga terjadi karena enzim memecahkan fragmen. Bentuk prekursor yang tidak aktif karena alasan ini dinamakan “prokoagulan”. Tiap faktor yang sudah diaktifkan, kecuali V, VIII, dan XIII serta fibrinogen (faktor I), adalah enzim pemecah protein (protease serin), yang dengan demikian mengaktifkan prokoagulan berikutnya. Hati adalah tempat sintesis semua faktor pembekuan kecuali faktor VIII atau mungkin XI dan XIII. Vitamin K mempertahankan kadar normal atau sintesis faktor-faktor protrombin (faktor II, VII, IX, dan X) (Price, 2005).

### **2.3.3 Antikoagulan**

Darah membeku bila berada diluar tubuh, apabila didiamkan bekuan akan mengkerut dan serum terperas keluar. Antikoagulan digunakan untuk menghindari pembekuan darah. Untuk mencegah pembekuan, antikoagulan yang digunakan untuk pemeriksaan hematologi harus cocok dan tidak mempengaruhi hasil pemeriksaan. Sebaiknya pemeriksaan hematologi dikerjakan maksimal 2 jam setelah pengambilan (Pestariati, 2013).

Macam-macam antikoagulan: EDTA, Heparin, Double Oxalat, Natrium Oxalat, Natrium Citrat.

#### **2.3.3.1 EDTA (*Ethylene diamine tetra acetid acid*)**

EDTA yang dipakai yaitu dalam bentuk garam Natrium atau garam kaliumnya. Mengubah kalsium dalam darah menjadi bentuk ion. EDTA tidak mempengaruhi bentuk eritrosit, lekosit dan mencegah trombosit bergerombolan menggumpal, sehingga dapat digunakan untuk sebagian besar pemeriksaan

hematologi, tetapi tidak dapat digunakan untuk pemeriksaan elektrolit, NPN, Hemoragik dan pemeriksaan faal trombosit. EDTA bisa dipakai dalam bentuk kering atau bentuk larutan dengan perbandingannya sebagai berikut:

-Kering → 1 mg EDTA : 1 ml darah

-Larutan → 1 ml EDTA 10% : 5 ml darah

**Catatan :**

Untuk EDTA dalam bentuk kering selama pencampuran harus digoyang-goyang beberapa saat, karena EDTA bentuk kering lambat larutnya.

**2.3.3.2 Heparin**

Antikoagulan yang secara fisiologis ada dalam tubuh dalam jumlah kecil, tidak berpengaruh osmotik terhadap sel-sel darah, sehingga dapat digunakan untuk penentuan resistensi dari eritrosit dan PCV, juga eritrosit dan lekosit, bekerja sebagai antitrombin, jarang dipakai untuk pemeriksaan hematologi, Tetapi dalam prakteknya Heparin ini jarang sekali digunakan karena mahal dan jika dipakai untuk hapusan darah dasar biru kehitaman pada preparat yang dicat wright stain. Heparin biasanya digunakan dalam bentuk kering dengan perbandingannya adalah : 1 mg Heparin : 1 ml darah.

**2.3.3.4 Double Oxalate**

Antikoagulan dari Heller dan Paul atau Balance Oxalate Mixture. Dipakai campuran oksalat ini karena amonium oksalat ini berpengaruh terhadap eritrosit menjadi mengembang sedangkan kalium oksalat sendiri mempengaruhi eritrosit menjadi mengkerut, sehingga untuk menjaga dari kondisi yang demikian maka kedua antikoagulan ini dicampur menjadi satu sehingga disebut campuran oksalat. Perbandingan amonium oksalat sebaiknya tidak dipakai untuk pembuatan sediaan

hapusan karena bahan ini bersifat toksik dan menyebabkan perubahan morfologi dari sel-sel darah.

#### **2.3.3.4 Sodium Oxalate**

Bekerja mengikat  $\text{Ca}^{++} \rightarrow \text{Ca}$  oxalate yang mengendap, sehingga mencegah pembekuan. Digunakan untuk pemeriksaan PT (*Prothrombin Time*), faal hemostasis 9 volume darah : 1 volume antikoagulan.

#### **2.3.3.5 Natrium sitra 3,8%**

Natrium sitrat ini bersifat isotonis dengan darah dan tidak bersifat toksik, oleh karena itu biasa digunakan dinas pemindahan darah (Dinas donor darah).

Antikoagulan ini biasa digunakan dalam bentuk larutan dan paling sering dipakai untuk pemeriksaan laju endap darah dengan pendinginannya  $\rightarrow$  1 volume Natrium sitrat 3,8% : 4 volume darah.

### **2.4 Pemeriksaan Faal Hemostasis**

#### **2.4.1 PT (*Prothrombin Time*)**

PT prothrombin disintesis oleh hati dan merupakan prekursor tidak aktif dalam proses pembekuan. Mengukur secara langsung kelainan secara potensial dalam sistem tromboplastin ekstrinsik (fibrinogen, protrombin, faktor V, VII dan X). Tromboplastin jaringan (ekstrak otak) dan kalsium ditambahkan dalam plasma sitrat. Waktu normal untuk terjadi pembekuan adalah 10-15 detik. Sebuah tes PT juga dapat disebut tes INR. USD (*rasio normalisasi internasional*) singkatan cara standarisasi hasil tes waktu prothrombin, tidak peduli metode pengujian. Darah faktor pembekuan yang diperlukan untuk darah menggumpal (koagulasi). Prothrombin, atau faktor II, adalah salah satu faktor pembekuan dibuat oleh hati. Vitamin K dibutuhkan untuk membuat faktor-faktor pembekuan prothrombin dan

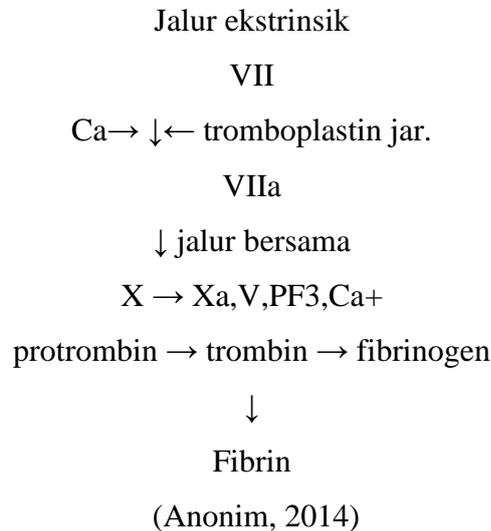
lainnya. Waktu prothrombin adalah tes yang penting karena memeriksa untuk melihat apakah lima faktor pembekuan darah yang berbeda (faktor I, II, V, VII, dan X).

Pemeriksaan ini digunakan untuk menguji pembekuan darah melalui jalur ekstrinsik dan jalur bersama yaitu faktor pembekuan VII, X, V, protrombin dan fibrinogen. Selain itu juga dapat dipakai untuk memantau efek antikoagulan oral karena golongan obat tersebut menghambat pembentukan faktor pembekuan protrombin, VII, IX, dan X. Protrombin (F II) dikonversi menjadi thrombin oleh tromboplastin untuk membentuk bekuan darah. Diinduksi penambahan tissue factor (tromboplastin jaringan) yang berlebihan sehingga terbentuk perubahan tidak fisiologis pada hubungan normal faktor-faktor koagulasi dan faktor VIIa dapat mengaktifkan faktor X secara langsung menjadi faktor X a tanpa melewati aktivasi faktor IX (intrinsik). Apabila ditambahkan ke plasma yang mengandung sitrat, reagen-reagen ini akan menggantikan faktor jaringan untuk mengaktifkan faktor X dengan keberadaan faktor VII tanpa melibatkan trombosit atau prokoagulan jalur intrinsik. Pemeriksaan ini dipakai untuk menguji faktor ekstrinsik. Sebagai tissue thromboplastin dipakai aceton dehydrated rabbit brain. Prinsip pemeriksaan ini adalah mengukur lamanya terbentuk bekuan bila ke dalam plasma yang diinkubasi pada suhu 37°C, ditambahkan reagens tromboplastin jaringan dan ion kalsium ( Setiabudi, 2009).

Mendeteksi adanya gangguan proses hemostasis (mekanisme keseimbangan tubuh) yang berkaitan dengan pendarahan dan pembekuan darah. Pemeriksaan ini bermanfaat untuk persiapan sebelum melakukan operasi dan

mendeteksi penyakit gangguan Faal Hemostasis (Hemofilia DIC, Von Willebrand factor, Idiopathic Trombocytopenic Purpura), (Carl,1997).

#### 2.4 Gambar Reaksi yang terjadi pada pemeriksaan PT (*Prothombin Time*)



##### Jalur Ekstrinsik

Produk-produk jaringan yang rusak menyebabkan darah cair mengalami koagulasi. Faktor jaringan (tromboplastin jaringan) adalah istilah yang digunakan untuk menjelaskan aktivitas berbagai lipoprotein pembentuk bekuan yang terdapat di semua jaringan. Faktor jaringan bekerja pada faktor VII, mengubahnya menjadi VIIa, yang secara langsung memengaruhi faktor X. Faktor VII dapat mengalami pengaktifan apabila terdapat kalikrein, yang mengisyaratkan adanya keterkaitan dengan fase kontak koagulasi.

##### Jalur Bersama

Baik jalur ekstrinsik maupun ekstrinsik akan bertemu untuk membentuk jalur “bersama” yang akhirnya mengaktifkan protein plasma protrombin(II) menjadi bentuk aktifnya, trombin (IIa). Pengaktifan faktor X memicu fase akhir

koagulasi dan seperti dijelaskan dapat diaktifkan oleh jalur ekstrinsik dan intrinsik. Reaksi faktor Xa dengan protrombin memerlukan ion kalsium dan fosfolipid serta sangat diperkuat oleh protein plasma yang lain, faktor V.

Jika hasil PT memanjang maka penyebabnya mungkin kekurangan faktor-faktor pembekuan di jalur ekstrinsik dan bersama atau adanya inhibitor. Untuk membedakan hal ini, pemeriksaan diulang sekali lagi dengan menggunakan campuran plasma penderita dan plasma kontrol dengan perbandingan 1:1. Bila ada inhibitor, masa protombin plasma tetap memanjang.

Selain dilaporkan dalam detik, hasil PT juga dilaporkan dalam rasio, aktivitas protombin dan indeks. Rasio yaitu perbandingan antara PT penderita dengan PT kontrol. Aktivitas protombin dapat ditentukan dengan menentukan dengan menggunakan kurva standart dan dinyatakan dalam %.

Nilai normal: 10 – 15 detik (dapat bervariasi secara bermakna antar laboratorium)

Implikasi klinik:

1. Nilai meningkat pada defisiensi faktor tromboplastin ekstrinsik, defisiensi
2. Vit.K, DIC (disseminated intravascular coagulation), hemorragia pada bayi baru lahir, penyakit hati, obstruksi bilier, absorpsi lemak yang buruk, lupus, intoksikasi salisilat. Obat yang perlu diwaspadai: antikoagulan (warfarin, heparin)
3. Nilai menurun apabila konsumsi vit.K meningkat

Pemeriksaan PT (*Prothrombin Time*) juga sering dipakai untuk memantau efek pemberian antikoagulan oral. Pemberian kepekaan reagen tromboplastin yang dipakai dan perbedaan cara pelaporan menimbulkan kesulitan bila pemantauan dikerjakan di laboratorium yang berbeda-beda. Untuk mengatasi

masalah tersebut ICTH (*International Committee on Thrombosis and Haemostasis*) dan ICSH (*International Committee for Standardization in Haematology*) menganjurkan agar tromboplastin jaringan yang akan digunakan harus dikalibrasi terlebih dahulu terhadap tromboplastin rujukan untuk mendapatkan ISI (*International Sensitivity Index*). Juga dianjurkan agar hasil pemeriksaan PT dilaporkan secara seragam dengan menggunakan INR (*International Normalized Ratio*), yaitu rasio yang dipangkatkan dengan ISI dari reagens tromboplastin. Menstandarkan nilai PT (*Prothrombin Time*) antar laboratorium. Digunakan untuk memantau penggunaan warfarin (Menkes, 2011).

Bahan pemeriksaan untuk uji PT (*Prothrombin Time*) adalah plasma sitrat yang diperoleh dari sampel darah vena dengan antikoagulan natrium sitrat 3,8% dengan perbandingan 9:1. Dipusingkan selama 10 menit dengan kecepatan 2500 rpm. Untuk Pemeriksaan PT yang disimpan pada suhu kamar, sampel harus diperiksa maksimal dalam 2 jam. Pemeriksaan dilakukan dengan menggunakan suhu inkubasi 37°C dan waktu inkubasi normal sampai 5 menit. Pengaruh penyimpanan sampel pemeriksaan plasma sitrat terhadap hasil pemeriksaan PT adalah dapat menghambat aktivitas faktor-faktor pembekuan sehingga hasilnya dapat memanjang. Hal ini disebabkan karena CO<sub>2</sub> akan keluar dari plasma sehingga pH meningkat. Dengan meningkatnya pH plasma sitrat terjadi perubahan faktor V dan VII karena kedua faktor ini mempunyai sifat yang sangat labil, sehingga dapat menghambat aktivitas faktor - faktor pembekuan lain dan hasil pemeriksaan PT dapat memanjang (Bakta, 2006).

Trombin adalah suatu enzim proteolitik yang memiliki potensi dasar dengan diskriminasi yang relatif kecil. Jumlah trombin yang terbentuk dari satu

militer plasma, apabila dibebaskan secara bersama-sama diseluh sirkulasi, dapat menggumpalkan keseluruhan aliran darah. Di bawah kondisi hemostatik normal, hanya sejumlah kecil trombin yang terbentuk setiap saat. Selain mengubah fibrinogen menjadi fibrin, trombin juga meningkatkan reaksi pembebasan trombosit seperti dijelaskan di atas, dan memperkuat pengaktifan faktor V dan faktor VIII serta faktor IX. Dengan demikian, proses bersifat otokatalitik dan regulatorik. Pada keadaan patologik, trombin dapat memutuskan ikatan-ikatan peptida di berbagai protein lain. Fibrinogen menjadi fibrin apabila trombin menghilangkan ujung dari dua pasang rantai peptida sehingga terbentuk fibrinopeptida A dan B. Molekul yang terbentuk, yang terdiri dari 97% molekul asli, adalah monomer fibrin, (Ronald, 2004).

Tujuan Tes untuk membantu mengetahui :

- a. Kemampuan darah untuk membeku selama pembedahan (operasi)
- b. Hemophilia Lupus Anticoagulant Syndrome atau Antiphospholipid Antibody Syndrome, ketika antibodi menyerang faktor penggumpalan darah
- c. Tingkat efektifitas dosis pengobatan Heparin bagi pasien

#### **2.4.2 APPT** (*Activated Partial Thromboplastin Time*)

Diinduksi aktivasi permukaan (kontak). Pada pemeriksaan ini terjadi autoaktivasi faktor XII dengan substansi bermuatan negative pada reagen. Hal tersebut kemudian memicu kaskade reaksi proteolitik pada system koagulasi. Tes ini memeriksa faktor XII, prekalkrein, HMWK, faktor XI, IX, dan VIII dari system intrinsic serta faktor X, V, protrombin dan fibrinogen dari jalur bersama, karena pengganti trombosit yang digunakan adalah

tromboplastin parsial dalam jumlah yang berlebih, trombosit tidak berpengaruh pada pemeriksaan ini, juga system ekstrinsik (faktor VII) yang memerlukan tromboplastin dari jaringan.

Uji ini dilakukan pada spesimen darah yang telah diberi sitrat. Plasma dikeluarkan dan diletakkan di tabung sampel, tempat zat ini direkalsifikasi dengan kalsium klorida, dan ditambahkan suatu reagen yang mengandung faktor aktif-permukaan (kaolin, fosfolipid). Kaolin meningkatkan kecepatan pengaktifan kontak, fosfolipid membentuk permukaan pada tempat di mana reaksi substrat enzim koagulasi dapat berlangsung, dan kalsium menggantikan kalsium yang dikelasi oleh sitrat. Waktu yang diperlukan untuk membentuk suatu bekuan adalah waktu tromboplastin parsial (APTT). APTT yang diaktifkan dalam keadaan normal bervariasi dari 28-40 detik. Kadar faktor di bawah 30% normal akan memperpanjang APTT (Schmaier, 2009).

#### **2.4.3 BT (*Bleeding Time*)**

Merupakan pemeriksaan terhadap pembuluh darah (kapiler), jumlah dan fungsi trombosit, pada luka yang kecil dan dangkal dengan menentukan kecepatan pembentukan sumbat trombosit sehingga mengetahui efisiensi fase vascular dan trombosit pada hemostasis. Untuk menilai faktor-faktor hemostasis ekstravaskular, yang juga dipengaruhi dinding kapiler dan jumlah trombosit. Karena itu, lebih sering digunakan untuk skrining pasien dengan kelainan trombosit, misalnya gejala perdarahan mukokutan (Rodgers, 1999).

Ada 2 Metode :

1. Cara Duke
2. Cara Iv

#### **2.4.4 CT (*Clothing Time*)**

Digunakan thrombin eksogen untuk memeriksa integritas substrat fibrinogen. Uji CT mengukur waktu yang diperlukan oleh spesimen darah yang diberi sitrat untuk membeku setelah ditambahkan kalsium dan sejumlah tertentu trombin. Uji ini mengevaluasi interaksi trombin-fibrinogen. Waktu trombin mungkin memanjang apabila terjadi defisiensi fibrinogen atau apabila terdapat antikoagulan dalam darah yang aktif dan mengintervensi kerja trombin, seperti heparin. Fibrinogen yang abnormal atau kelainan molekul fibrinogen juga dapat dievaluasi dengan uji ini. Pemeriksaan langsung menilai konversi fibrinogen menjadi fibrin. Diperlukan jumlah minimal  $\alpha$  thrombin (3000U/mg) yang dapat mereproduksi bekuan fibrinogen 4-6 U/mL, dalam  $\pm$  20 detik, (Rodgers, 1999).

Ada 2 Metode:

1. Metode Lee
2. Metode White

#### **2.5 Suhu**

Suhu adalah panas atau dinginnya udara yang dinyatakan dengan satuan derajat tertentu. Suhu udara dibedakan menjadi: suhu kering, yaitu suhu yang ditunjukkan oleh termometer suhu ruangan setelah diadaptasikan selama kurang lebih sepuluh menit, umumnya suhu kering antara 24-34°C. Suhu basah, yaitu suhu jenuh yang umumnya lebih rendah daripada suhu kering, yaitu antara 20-25°C.

Secara umum penilaian suhu ruangan dengan menggunakan termometer ruangan. Berdasarkan indikator pengawasan, suhu ruangan yang memenuhi syarat kesehatan adalah antara 20-25°C, dan suhu ruangan yang tidak memenuhi

syarat kesehatan adalah  $<20^{\circ}\text{C}$  atau  $>20^{\circ}\text{C}$ . Suhu dalam ruangan akan membawa pengaruh bagi penghuninya. Menurut Walton (1991), suhu berperan penting dalam metabolisme tubuh, konsumsi oksigen dan tekanan darah. Sedangkan Lennihan dan Fletter (1989), mengemukakan bahwa suhu ruangan yang tidak memenuhi syarat kesehatan akan meningkatkan kehilangan panas tubuh dan tubuh akan berusaha menyeimbangkan dengan suhu lingkungan melalui proses evaporasi. Kehilangan panas tubuh ini akan menurunkan vitalitas tubuh dan merupakan predisposisi untuk terkena infeksi saluran nafas oleh agen yang menular.

## **2.6 Pemeriksaan Laboratorium**

Pemeriksaan laboratorium sangat penting untuk membantu menegakkan diagnosis penyakit. Secara umum, pemeriksaan dan pengukuran laboratorium diminta berdasarkan lima alasan utama, yaitu:

1. Untuk mengonfirmasi suatu dugaan klinis atau untuk menetapkan suatu diagnosis
2. Untuk menyingkirkan suatu penyakit atau diagnose
3. Untuk mendapatkan informasi prognosis
4. Untuk mendapat pedoman terapeutis
5. Untuk penapisan suatu penyakit

Sekumpulan pemeriksaan laboratorium yang dirancang, untuk tujuan tertentu misalnya untuk mendeteksi penyakit, menentukan resiko, memantau perkembangan penyakit, memantau perkembangan pengobatan, dan lain-lain. Mengetahui ada tidaknya kelainan atau penyakit yang banyak di jumpai dan potensial membahayakan.

### **2.6.1 Uji Laboratorium**

Dengan pengukuran dan pemeriksaan laboratorium akan di dapatkan data ilmiah yang tajam untuk digunakan dalam menghadapi masalah yang diidentifikasi melalui pemeriksaan klinis dan merupakan pertimbangan terpenting dalam kedokteran laboratorium. Informasi laboratorium dapat digunakan untuk mendiagnosis atau memastikan suatu diagnosis awal yang dibuat berdasarkan riwayat penyakit dan pemeriksaan fisik. Analisis laboratorium jupa merupakan bagian integral dari penapisan kesehatan dan tindakan preventif kedokteran (Ronald, 2004).

### **2.6.2 Akurasi ( Ketepatan )**

Kemampuan mengukur dengan tepat sesuai dengan nilai benar (*true value*) disebut dengan akurasi (Sukorini, 2010). Secara kuantitatif, akurasi diekspresikan dalam ukuran inakurasi. Ketepatan diartikan kesesuaian hasil pemeriksaan laboratorium dengan nilai yang seharusnya (Musyaffa, 2008).

### **2.6.3 Ketelitian**

Dalam menggunakan data yang diperoleh melalui pengukuran laboratorium kita harus memahami betul pembatasan dan pemakaian data, terutama dengan istilah ketepatan dan ketelitian. Ketepatan menunjukkan seberapa dekat suatu hasil pengukuran dengan hasil sebenarnya (Ronald, 2004).

### **2.6.4 Kesalahan Pemeriksaan Laboratorium**

Hasil-hasil pemeriksaan laboratorium bisa merupakan dasar diagnosa, pengobatan, dan kemajuan dari kondisi suatu penyakit atau status kesehatan, atau keduanya. Pemeriksaan laboratorium merupakan suatu proses multiphase, yaitu mengidentifikasi kebutuhan dari pemeriksaan, permintaan pemeriksaan, sentral

suplai/permintaan laboratorium, persiapan pemeriksaan fisik dan edukasi klien dan keluarga, pengumpulan, pemberian label dan penyimpanan spesimen, serta pendidikan kesehatan. Pada dasarnya kesulitan proses ini tergantung pada banyak faktor dan hanya bukti-bukti yang spesifik dari pemeriksaan tertentu akan tampak dalam pemeriksaan.

Secara umum pemeriksaan dan pengukuran laboratorium diminta berdasarkan lima alasan utama, yaitu:

1. Untuk mengonfirmasi suatu dugaan klinis atau untuk menetapkan suatu diagnosis(misalnya hemoglobin untuk anemia).
2. Untuk menyingkirkan suatu penyakit atau diagnose.
3. Untuk mendapatkan informasi prognosis.
4. Untuk mendapat pedoman terapeutis.
5. Untuk penapisan suatu penyakit.

Nilai-nilai pemeriksaan laboratorium dapat berbeda-beda di setiap laboratorium. Oleh karena itu, penting untuk mengetahui nilai-nilai standar dari laboratorium institusi tempat kita bekerja. Namun, nilai standar laboratorium yang diberikan relative sama pada hampir semua laboratorium. Agar hasil pemeriksaan laboratorium akurat dan dapat dipercaya harus dilakukan pengendalian terhadap pra analitik, analitik, dan pasca analitik. Tahap pra analitik: persiapan pasien, pengambilan sampel darah, persiapan sampel, penyimpanan sampel, persiapan kertas kerja, tahap analitik: persiapan alat, kalibrasi alat, pengolahan sampel, interpretasi hasil, tahap pasca analitik: pencatatan hasil dan pelaporan ( Hardjono, 2003).

#### **2.6.4.1 Pra Analitik**

Kesalahan pada proses pra analitik dalam pemeriksaan laboratorium dapat memberikan kontribusi sekitar 62% dari total keseluruhan pemeriksaan Laboratorium (Mengko R, 2013).

Proses pra analitik meliputi persiapan pasien, pengambilan / pengumpulan spesimen, pengiriman spesimen ke laboratorium, penanganan spesimen dan termasuk dalam pemberian antikoagulan serta penyimpanan spesimen (Riswanto, 2010).

##### **1. Persiapan Pasien**

Ada beberapa sumber kesalahan yang kurang terkontrol dari proses pra analitik yang dapat mempengaruhi pemeriksaan laboratorium seperti aktivitas fisik, puasa, diet, stres, efek posisi, menstruasi, kehamilan, gaya hidup (konsumsi alkohol, rokok, kopi, obat), usia, jenis kelamin, pasca transfusi, pasca donasi, pasca operasi dan lainnya. Karena hal-hal tersebut memiliki pengaruh yang kuat terhadap beberapa pemeriksaan hematologi, maka pasien harus selalu dipertimbangkan sebelum pengambilan sampel (Riswanto, 2010).

##### **2. Persiapan Pengumpulan Sampel**

Spesimen yang akan diperiksa laboratorium haruslah memenuhi persyaratan yaitu volume mencukupi, kondisi baik/tidak lisis, dan segar/tidak kadaluarsa, pemakaian antikoagulan atau pengawet yang tepat, ditampung dalam wadah yang memenuhi syarat, dan identitas benar sesuai dengan data pasien (Riswanto, 2010).

### 3. Pengambilan Spesimen

Hal-hal yang harus diperhatikan pada pengambilan spesimen adalah :

a. Tehnik atau cara pengambilan. Pengambilan spesimen harus dilakukan dengan benar sesuai dengan *standard operating procedure (SOP)* yang ada.

b. Cara menampung spesimen dalam wadah/penampung.

- 1) Seluruh sampel harus masuk ke dalam wadah (sesuai kapasitas)
- 2) Wadah harus dapat ditutup rapat dan diletakkan dalam posisi berdiri
- 3) Darah harus segera dimasukkan dalam tabung setelah sampling.
- 4) Lepaskan jarum, alirkan darah lewat dinding tabung perlahan-lahan
- 5) Pastikan jenis antikoagulan dan volume darah tidak keliru.
- 6) Homogenisasi segera darah yang menggunakan antikoagulan.

c. Sumber-sumber kesalahan pada pengambilan spesimen darah :

- 1) Pemasangan tourniquet terlalu lama
- 2) Pengambilan darah terlalu lama, menyebabkan trombosit menurun.
- 3) Pengambilan darah pada jalur infus dapat menyebabkan eritrosit, leukosit, dan trombosit menurun.
- 4) Homogenisasi darah dengan antikoagulan yang tidak sempurna atau keterlambatan homogenisasi menyebabkan terbentuknya bekuan darah (Riswanto, 2010).