

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Darah Vena

Darah merupakan komponen esensial makhluk hidup, mulai dari binatang hingga manusia. Dalam keadaan fisiologik, darah selalu berada dalam pembuluh darah sehingga dapat menjalankan fungsinya sebagai pembawa oksigen, mekanisme pertahanan tubuh dan mekanisme hemostasis (I Made Bakta, 2006). Dalam keadaan fisiologik darah selalu berada dalam pembuluh darah yaitu pembuluh darah arteri, vena dan kapiler (Bakta,2013).

2.1.1 Pemilihan Vena

Vena yang paling mudah ditemukan yaitu vena mediana, vena cubiti mediana, dan vena cephalica mediana. Vena mediana biasanya menjadi pilihan untuk pengambilan darah vena karena vena mediana dekat dengan permukaan kulit, tidak bergerak saat dilakukan pengambilan, tidak beresiko dan tidak menimbulkan rasa yang tidak nyaman saat ditusuk (Arif, 2011).



Gambar 2.1 vena pada lengan (Mentari, 2011)

2.1.2 Peralatan pungsi vena

Peralatan ini digunakan untuk prosedur pungsi vena diantaranya adalah tourniquet. Tourniquet adalah alat yang diikatkan di lengan pasien sebelum pungsi vena untuk membatasi atau menahan aliran darah. Tujuan pemasangan 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).



Gambar 2.2: Tourniquet (Hendro, 2011)

2.2. Plasma Sitrat

Sitrat, oksalat, dan EDTA merupakan antikoagulan yang langsung mengikat Ca. Dalam pemeriksaan PPT antikoagulan yang dipakai adalah sitrat karena sitrat memiliki pH netral sedangkan EDTA yang memiliki pH basa yang akan mengakibatkan pemanjangan PPT negatif (Frances K. Widman, 1995).

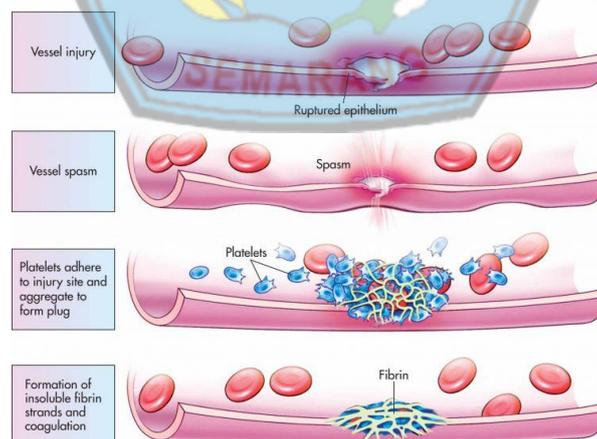
Natrium sitrat 3,8% merupakan larutan yang isotonik dengan darah, larutan isotonik secara sederhana adalah larutan yang memiliki kandungan garam mineral sama dengan sel tubuh dan darah (Rodak, 2007).

Natrium Sitrat 3,8% merupakan antikoagulan yang cara kerjanya mengikat kalsium. Jika konsentrasi antikoagulan tersebut dikurangi atau ditambah dapat menjadikan larutan tersebut tidak isotonic, jika konsentrasi antikoagulan kurang/ hipotonik, erisrosit akan membengkak, plasma berkurang, sehingga viskositas darah meningkat menjadikan darah sukar mengendap. Sebaliknya, jika konsentrasi antikoagulan terlalu tinggi/ hipertonic, eritrosit akan mengerut, plasma bertambah, sehingga viskositas darah menurun menjadikan darah mudah mengendap (Davey, 2006).

2.3. Hemostasis

2.3.1 Definisi Hemostasis

Hemostasis adalah penghentian perdarahan akibat pembuluh darah yang terpotong atau robek (Harper, 2006). Hemostasis melibatkan sistem vaskuler, trombosit, sistem koagulasi dan sistem fibrinolisis (Setiabudy, 2009).



Gambar 2.3 : Hemostasis (Anonymous,2018)

2.3.1.1 Sistem Vaskuler

Sistem vaskuler dimulai saat otot polos sirkuler yang tersusun pada dinding pembuluh darah akan berkontraksi dengan segera setelah terjadi kerusakan pada pembuluh darah arteri, yang disebut vasculer spasm. Mekanisme ini akan mengurangi kehilangan darah selama beberapa menit sampai jam sehingga mekanisme hemostatik lain terjadi. Spasme ini terjadi mungkin karena kerusakan pada otot polos, disebabkan oleh zat atau substansi yang dilepaskan dari trombosit teraktivasi (*activated platelets*) dan refleksi dari reseptor nyeri.

2.3.1.2 Sistem Trombosit

Trombosit diaktifkan pada lokasi cedera vaskuler untuk membentuk sebuah plug trombosit yang memberikan respon hemostatik awal untuk menghentikan pendarahan.

2.3.1.3 Sistem Pembekuan Darah (Koagulasi)

Proses koagulasi dapat dimulai melalui dua jalur, yaitu ekstrinsik (*extrinsic pathway*) dan jalur intrinsik (*intrinsic pathway*). Faktor – faktor pembekuan darah tersebut dinyatakan dalam angka romawi yang sesuai dengan urutan ditemukannya. Faktor yang aktif ditandai dengan adanya huruf a dibelakang simbol faktor.

Jalur intrinsik berawal dari “fase kontak” saat prakalikrein, kininogen HMWK, faktor XII, dan faktor XI terpajan oleh permukaan pemicu bermuatan negatif. Kaolin dapat digunakan untuk uji in vitro sebagai pemicu jalur intrinsik. Jika komponen – komponen dari fase kontak ini

tersusun pada permukaan pemicu tersebut, terjadi pengaktifan faktor XII menjadi XII a melalui proteolisis oleh kalikrein. Faktor XIIa ini, yang dihasilkan oleh kalikrein, menyerang prakalikrein untuk menghasilkan lebih banyak kalikrein sehingga terjadi pengaktifan timbal balik. Faktor XIIa, setelah terbentuk, akan mengaktifkan faktor XI menjadi Xia dan juga melepaskan bradikinin (suatu nonapeptida dengan efek vasodilatasi kuat) dari kininogen HMW. Faktor Xia dengan keberadaan Ca^{2+} mengaktifkan faktor IX menjadi serin protease, yaitu faktor Xa. Reaksi terakhir ini memerlukan penyusunan komponen – komponen, yang disebut kompleks tenase, pada permukaan membran: Ca^{2+} dan faktor VIIIa, serta faktor IXa dan X. Perlu dicatat bahwa dalam semua reaksi yang melibatkan zimogen berisi Gla (faktor II, VII, IX, dan X), residu Gla di regio terminal amino molekul berfungsi sebagai tempat pengikatan berafinitas tinggi untuk Ca^{2+} . Faktor VIII, suatu glikoprotein, bukanlah suatu prekursor protease tetapi kofaktor yang berfungsi sebagai reseptor untuk faktor IXa dan X pada permukaan trombosit. Faktor VIII diaktifkan oleh trombin dalam jumlah kecil untuk membentuk faktor VIIIa, yang pada gilirannya menjadi inaktif pada penguraian lebih lanjut (Murray, R. K., Granner, D. K., & Rodwell, V. W, 2006).

Berikut adalah faktor – faktor pembekuan yang berada pada jalur intrinsik adalah sebagai berikut: (Sacher, 2004)

- a. Faktor I : fibrinogen yang merupakan suatu glikoprotein yang di bentuk di hati. Dengan berat molekul 330.000 dalton tersusun atas 3 pasang

rantai polipeptida. Waktu paruhnya 3,5 – 4 hari. Kadar akan meningkat pada keadaan yang memerlukan hemostatis dan keadaan nonspesifik.

- b. Faktor II : protombin yang merupakan suatu glikoprotein. Faktor II sangat erat kaitannya dengan faktor VII, IX , X. Di bentuk di hati dan pada proses pembentukannya memerlukan faktor K. Faktor – factor tersebut tahan terhadap panas, jumlahnya tidak berubah dalam plasma atau darah simpan dan ada dalam serum setelah plasma membeku. Waktu paruh protombin adalah 0,5-3 hari.
- c. Faktor V : faktor labil, protein dengan rantai tunggal dengan berat molekul 330.000 dalton yang di bentuk di hati dan kadarnya menurun pada penyakit hati. Sifat protein ini belum diketahui dengan jelas , aktivitasnya cepat menurun bila darah atau plasma yang di beri antikoagulan di simpan dalam bentuk cair. Protein ini juga menghilang dari sirkulasi dalam waktu singkat. Waktu paruhnya hanya 15 jam . Faktor V juga merupakan kofaktor penting pada kemampuan protein C aktif yang berfungsi sebagai antikoagulan fisiologik.
- d. Faktor VIII : disebut sebagai faktor antihemofilia, melekul protein ini besar dengan berat molekul 330.000 dalton terdiri atas berbagai komponen fisiologis yang diatur oleh beberapa gen. Waktu paruh 9 – 18 jam. Menghilang dengan cepat dari plasma yang di simpan dalam suhu dingin. Faktor ini mampu menormalkan waktu pembekuan pada pasien hemophilia A.

- e. Faktor IX : disebut faktor Christmas, komponen tromboplastin plasma. Protein ini merupakan faktor hati yang memerlukan vitamin K untuk pembentukannya. Waktu paruhnya 24 jam tetapi kadarnya tetap tinggi bila plasma di simpan dalam keadaan cair. Faktor ini juga terdapat dalam serum.
- f. Faktor X : disebut faktor Stuart-Power, merupakan faktor hati yang memerlukan vitamin K. Faktor X merupakan kunci dari semua jalur – jalur aktivasi faktor – faktor pembekuan . Waktu paruhnya sekitar 40 hari.
- g. Faktor XI : disebut anteseden tromboplastin plasma, merupakan suatu glikoprotein dengan berat molekul 143.000 dalton yang di bentuk di hati dan beredar di dalam plasma dalam bentuk terikat (kompleks) dengan kininogen HMW. Namun, faktor ini tidak berkurang pada penyakit hati dan tidak memerlukan vitamin K serta stabil dalam darah atau plasma simpan. Waktu paruhnya sekitar 2 hari.
- h. Faktor XII : disebut faktor Hagemen yaitu suatu globulin beta rantai tunggal yang memiliki berat molekul 76.000 dalton, ada dalam plasma dengan kadar sangat rendah . Waktu paruh sekitar 2 hari. Faktor ini merupakan salah satu penghubung dengan jalur – jalur fisiologis lain, termasuk pengaktifan kontak pembekuan, pengaktifan jalur kinin, pengaktifan jalur komplemen, dan pengaktifan fibrinolisis.

Jalur ekstrinsik melibatkan faktor jaringan, faktor Xa. Jalur ini dimulai ditempat cedera jaringan dengan terpajannya faktor jaringan di sel endotel

aktif dan monosit. Faktor jaringan berinteraksi dengan dan mengaktifkan faktor VII, suatu glikoprotein berisi Gla dalam darah yang disintesis oleh hati. Faktor jaringan bekerja sebagai kofaktor untuk faktor VIIa yang meningkatkan aktivitas enzimatisnya untuk mengaktifkan faktor X. Ikatan faktor jaringan dan faktor VIIa disebut kompleks faktor jaringan. Faktor VIIa memutuskan ikatan Arg-Ile di faktor X yang sama dengan ikatan yang diputus oleh kompleks tenase pada jalur intrinsik. Pengaktifan faktor X adalah penghubung penting antara jalur intrinsik dan ekstrinsik.

Faktor Xa yang dihasilkan oleh kedua jalur (intrinsik dan ekstrinsik) mengaktifkan protombin (faktor II) menjadi trombin (faktor IIa) yang kemudian mengubah fibrinogen menjadi fibrin (Murray, R. K., Granner, D. K., & Rodwell, V. W, 2006).



Gambar 2.4 : Kaskade Koagulasi (Hana, 2010)

1.3.1.4 Sistem fibrinolisis

Proses fibrinolisis dimulai dengan masuknya aktivator ke sirkulasi. Aktivator plasminogen akan mengaktifkan plasminogen menjadi plasmin, baik plasminogen yang terikat fibrin maupun plasminogen bebas. Plasmin terikat fibrin akan menghancurkan fibrin menjadi *fibrin degradation products* (FDP). Plasmin bebas akan dinetralkan oleh antiplasmin, jika antiplasmin tidak cukup maka plasmin bebas dapat menghancurkan fibrinogen dan protein lain seperti FV, FVIII, hormon dan komplemen. Plasmin yang bebas akan menghancurkan dan jika yang dihancurkan adalah cross-linked fibrin maka akan dihasilkan D dimer, jadi D dimer dapat membedakan fibrinolisis dengan fibrinogenolisis.

Sistem-sistem tersebut harus bekerja sama dalam suatu proses yang berkeselimbangan dan saling mengontrol untuk mendapatkan faal hemostasis yang baik (Bakta,2013).

1.3.2 Faktor-faktor yang mempengaruhi pemeriksaan hemostasis

Beberapa kesalahan teknis yang paling umum terjadi dan dapat mempengaruhi pemeriksaan hemostasis yaitu sebagai berikut : (Manning R, 2006).

1. Kesalahan saat pengambilan sampel, menyebabkan koagulasi sudah terjadi sebagian (sehingga waktu pembekuan memendek).
2. Pengisian tabung tidak penuh atau terlalu penuh atau hematokrit yang rendah ataupun tinggi (dapat menyebabkan volume sitrat dengan perbandingan volume plasma tidak tepat).

3. Antikoagulan yang tidak sesuai seperti EDTA.
4. Pengambilan darah dilakukan melalui selang yang sebelumnya terdapat kontak dengan heparin (sehingga menyebabkan pemanjangan APTT dan TT).
5. Kontaminasi kaolin/trombosit substitute reagent dengan sisa tromboplastin (dapat menyebabkan APTT memendek).
6. Penundaan analisis sampel.
7. Pipetting yang tidak akurat.
8. Malfungsi alat.
9. Suhu waterbath tidak tepat.
10. Kalsium klorida tidak tepat konsentrasinya atau tidak segar.

2.4. Tromboplastin Jaringan

Tromboplastin jaringan (*Tissue factor, faktor III*), adalah suatu lipoprotein yang dalam jumlah besar terdapat dalam jaringan dan berfungsi dalam koagulasi dengan berinteraksi dengan faktor VII pada jalur ekstrinsik. Tromboplastin jaringan juga terdapat pada dinding pembuluh darah. Kerusakan yang terjadi pada pembuluh darah akan membuat berbagai sitokin menginduksi tromboplastin jaringan pada sel monosit dan sel – sel endotelium pembuluh darah. Tromboplastin jaringan yang diekskresikan oleh sel – sel ini kemudian menimbulkan respon koagulasi pada pembuluh darah (Levi M, Jonge ED, Poll TVD, Cate HT, 2000).

Tromboplastin jaringan manusia terdiri dari 263 asam amino, dan berat molekulnya bervariasi dari 53.000 – 425.000. tromboplastin jaringan yang

terdapat dalam jaringan otak, paru – paru dan plasenta, menunjukkan aktifitas spesifik yang lebih tinggi dibandingkan yang ada pada jaringan ginjal dan limpa, dan beberapa dianggap tidak mempunyai aktifitas antara lain trombosit dan otot. Ada beberapa jenis tromboplastin jaringan yang dimurnikan dan pembuatan reagen tromboplastin yang digunakan untuk test koagulasi di klinik (Warren JR, 1997). Tromboplastin jaringan yang berasal dari emulsi ekstrak organ otak, otak dan paru kelinci dalam larutan CaCl_2 dan pengawet sodium azida (mis Neoplastine CI plus). Tromboplastin jaringan yang berasal dari plasenta manusia dalam larutan CaCl dan pengawet (mis Thromborel S) (Bakta, 2006).

2.5 Pemeriksaan Masa Rekalsifikasi

Pemeriksaan rekalsifikasi digunakan untuk mencari adanya kekurangan faktor-faktor pembekuan darah pada jalur intrinsik, yaitu faktor pembekuan V, VIII, IX, X, XI, XII, protrombin dan fibrinogen. Dasar dari pemeriksaan ini adalah plasma rendah trombosit yang tidak mengandung ion Ca ditambahkan, lamanya waktu untuk menyusun fibrin adalah waktu rekalsifikasi (R.Gandasoebrata,2007).

Waktu rekalsifikasi juga dipengaruhi oleh jumlah trombosit, semakin banyak trombosit semakin singkat masa rekalsifikasinya. Cara meghilangkan pengaruh trombosit dianjurkan memakai plasma rendah trombosit yaitu dengan pemusingan selama 20 menit pada kecepatan 3000 rpm sehingga plasma hanya mengandung sedikit trombosit. Dalam keadaan normal waktu rekalsifikasi berkisar antara 90-250 detik (R.Gandasoebrata,2007).

Syarat yang harus dilakukan dalam pemeriksaan Rekalsifikasi antara lain adalah antikoagulan yang dipakai yaitu Na Sitrat 3,8% dengan perbandingan 1 : 9, mengontrol alat, reagen, suhu, bahan pemeriksaan rekalsifikasi, dan tabung yang digunakan adalah tabung plastik sekali pakai, jika menggunakan tabung kaca pencucian harus bersih dan tidak boleh ada sisa sabun atau detergent, sedangkan untuk penanganan sampel harus segera diperiksa dalam waktu maksimal 2 jam (Waterbury, Larry, 1998).

2.5.1 Faktor yang mempengaruhi masa rekalsifikasi

1. Antikoagulan Na Sitrat 3,8%.

Antikoagulan yang digunakan untuk pemeriksaan koagulasi adalah natrium sitrat 3,8% dengan perbandingan 9 bagian darah dan 1 bagian natrium sitrat. Natrium sitrat merupakan larutan yang isotonik dengan darah dan sering digunakan untuk pemeriksaan kelainan pembekuan dan pemeriksaan laju endap darah. Plasma sitrat tidak mengandung ion Ca^{2+} , karena ion Ca^{2+} diikat oleh sitrat pada proses sentrifugasi.

2. Suhu

Suhu yang dipakai pada pemeriksaan masa rekalsifikasi tidak boleh < 37°C karena jika tidak sesuai dengan suhu tubuh manusia plasma dan fibrin akan rusak oleh karena itu hasil masa rekalsifikasi akan lebih panjang.

3. Waktu Penyimpanan

Plasma sitrat yang disimpan dalam suhu kamar ($25-30^{\circ}\text{C}$) sebaiknya di periksa kurang dari 2 jam karena plasma mengandung semua jenis protein

yang ada di dalam darah. Setelah di simpan maka aktivitas faktor V dan VII akan menurun sehingga akan menghambat aktivitas pembentukan fibrin (Santosa, 2008).

4. Volume

Volume berpengaruh dalam pembentukan fibrin. Jika volume rendah maka dalam pembentukan fibrin akan semakin singkat karena pada volume 50% trombosit lebih mudah menyusun fibrin (Atmoko, 2014).

5. Plasma rendah trombosit

Dalam pemeriksaan rekalsifikasi digunakan plasma rendah trombosit. Untuk memperoleh plasma rendah trombosit dilakukan sentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 20 menit (Gandasoebrata, 2007).

2.6. Hubungan Pembendungan Vena Terhadap Masa Rekalsifikasi

Pembendungan darah vena bertujuan agar pembuluh darah tampak lebih melebar dan menonjol karena pembendungan, serta dindingnya menjadi lebih tipis sehingga lebih mudah ditembus oleh jarum (Kiswari, 2014). Pemasangan tourniquet sebaiknya tidak lebih dari 2 menit karena Pembendungan terlalu lama dan keras dapat menyebabkan hemokonsentrasi (Riswanto, 2009).

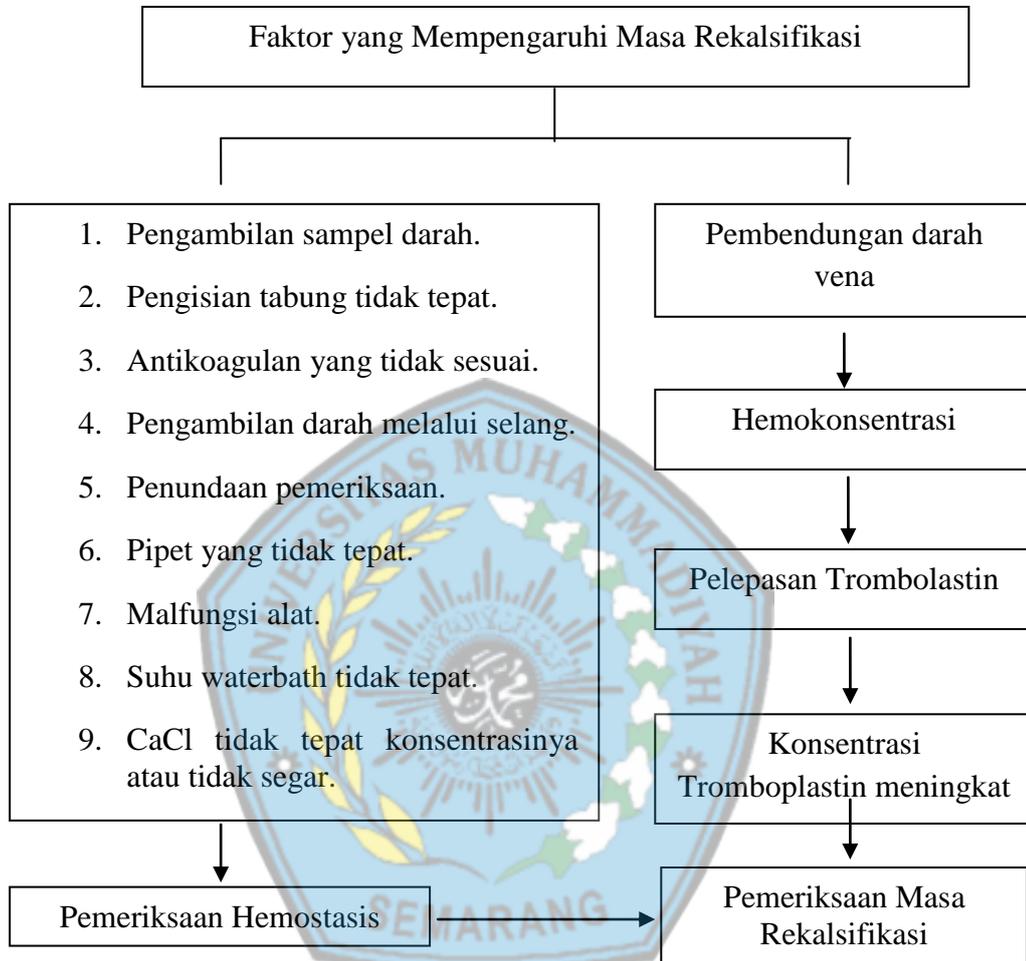
Pemasangan tourniquet yang terlalu lama saat pengambilan darah vena, menyebabkan terjadi pelepasan tromboplastin jaringan kedalam aliran darah dan masuk ke dalam sampel darah selama pungsi vena. Sampel yang sudah terkontaminasi ketika dilakukan penambahan reagen tromboplastin menyebabkan konsentrasi tromboplastin di dalam sampel meningkat akibatnya pengaktifan

koagulasi jalur ekstrinsik menjadi lebih cepat dan pada saat pemeriksaan masa protombin (PT) akan memendek (Lawrence J B, 2003 dan Kiswardi, 2014).

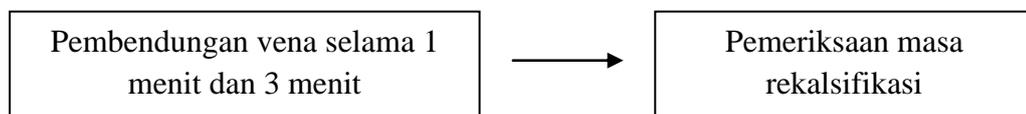
Pemeriksaan rekalsifikasi digunakan untuk mencari adanya kekurangan faktor-faktor pembekuan darah pada jalur intrinsik, yaitu faktor pembekuan V, VIII, IX, X, XI, XII, protrombin dan fibrinogen. Dasar dari pemeriksaan ini adalah plasma rendah trombosit yang tidak mengandung ion Ca^{2+} ditambahkan sejumlah CaCl_2 , lamanya waktu untuk menyusun fibrin adalah waktu rekalsifikasi. Pelepasan tromboplastin akibat terlalu lama pembendungan dikhawatirkan akan mempengaruhi pemeriksaan rekalsifikasi karena pemeriksaan rekalsifikasi juga dipengaruhi oleh jumlah trombosit, semakin banyak jumlah trombosit semakin singkat masa rekalsifikasinya (R.Gandasoebrata, 2007).



2.7 Kerangka Teori



2.8 Kerangka Konsep



2.9 Hipotesis

Masa rekalsifikasi dengan lama pembendungan vena 3 menit lebih pendek dibanding pembendungan vena 1 menit.