

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Hemostasis

Faal hemostasis adalah suatu fungsi tubuh yang bertujuan untuk mempertahankan keenceran darah sehingga darah tetap mengalir dalam pembuluh darah dan menutup kerusakan dinding pembuluh darah sehingga mengurangi kehilangan darah pada saat terjadinya kerusakan pembuluh darah. Faal hemostasis melibatkan sistem vaskuler, sistem trombosit, sistem koagulasi, dan sistem fibrinolisis.

Sistem vaskuler, sistem trombosit, sistem koagulasi, dan sistem fibrinolisis harus bekerja sama dalam suatu proses yang berkeselimbangan dan saling mengontrol untuk mendapatkan faal hemostasis yang baik. Kelebihan atau kekurangan suatu komponen akan menyebabkan kelainan. Kelebihan fungsi hemostasis akan menyebabkan thrombosis, sedangkan kekurangan faal hemostasis akan menyebabkan perdarahan (*hemorrhagic diathesis*) (Bakta, I.M., 2007).

B. Faktor Koagulasi

Faktor koagulasi atau faktor pembekuan darah adalah protein yang terdapat dalam darah (plasma) yang berfungsi dalam proses koagulasi. Proses pembekuan darah bertujuan untuk mengatasi *vascular injury* sehingga tidak terjadi perdarahan berlebihan, tetapi proses pembekuan darah ini harus dilokalisasi

hanya pada daerah *injury*, tidak boleh menyebar ke tempat lain karena akan membahayakan peredaran darah (Bakta, I.M., 2007).

Faktor-faktor koagulasi :

a. Faktor Kontak Aktivasi, meliputi :

1. Faktor XII (*Hageman factor*)

Merupakan faktor plasma yang berfungsi untuk mengaktifkan faktor XII dan PK

2. HMW Kininogen (*high molcolar weight kininogen, Prekalikrein*)

Berfungsi untuk membawa faktor XII dan PK pada suatu permukaan

3. Faktor XI (PTA)

Sebagai antisenden tromboplastin plasma, dibentuk di hati tetapi tidak memerlukan vitamin K. Berfungsi untuk mengaktifkan faktor XII dan faktor IX

b. *Vitamin K-dependent proenzymes*, meliputi :

1. Faktor II (*Prothrombin*)

Disebut dengan protrombin, dibentuk di hati dan memerlukan vitamin K. Faktor ini merupakan prekursor *enzim proteolitik tromion* dan mungkin asselerator konversi protrombin lain.

2. Faktor X (*Stuart-Prower factor*)

Dibuat di hati dan memerlukan vitamin K. Berfungsi untuk mengaktifkan protrombin.

3. Faktor IX (*Christmas factor*)

Dibuat di hati dan memerlukan vitamin K. Berfungsi untuk mengaktifkan faktor X.

4. Faktor VII (*proconvertin*)

Merupakan asselator koversi protrombin serum, dibuat di hati dan memerlukan vitamin K dalam pembentukannya. Faktor ini merupakan faktor yang mempercepat perubahan protrombin. Berfungsi untuk mengaktifkan faktor IX dan faktor X.

5. Protein C

Berfungsi untuk menonaktifkan Faktor Va dan Faktor VIIa.

c. Kofaktor, meliputi :

1. Faktor III (*Tissue factor*)

Berfungsi sebagai kofaktor untuk faktor VII dan faktor VIIa.

2. *Platelet procoagulant phospholipid* (PF 3)

Berfungsi sebagai kofaktor untuk faktor IXa dan faktor Xa.

3. Faktor VIII (*anti hemophilic factor*)

Berfungsi sebagai kofaktor untuk faktor IXa.

4. faktor V (*proaccelerin*)

Protein ini dibentuk oleh hati dan kadarnya menurun pada penyakit hati. Faktor ini merupakan faktor plasma yang mempercepat perubahan protrombin menjadi trombin. Berfungsi sebagai kofaktor untuk faktor IXa.

5. Protein S

Berfungsi sebagai kofaktor untuk protein C.

d. Faktor untuk deposisi fibrin, meliputi :

a. Faktor I (*Fibrinogen*)

adalah suatu glikoprotein dengan berat molekul 330.000 dalton, tersusun atas 3 rantai polipeptida. Kadar fibrinogen meningkat pada keadaan yang memerlukan hemostasis dan pada keadaan nonspesifik, misalnya inflamasi, kehamilan, dan penyakit autoimun.

b. Faktor XIII (*fibrin stabilizing factor*)

Merupakan faktor untuk menstabilkan fibrin, diproduksi di hati maupun megakariosit. Faktor ini menimbulkan bekuan fibrin yang lebih kuat yang tidak larut dalam urea.

C. Pemeriksaan Faal Hemostasis

Pemeriksaan faal hemostasis adalah suatu pemeriksaan yang bertujuan untuk mengetahui faal hemostasis serta kelainan yang terjadi. Pemeriksaan faal hemostasis sangat penting dalam mendiagnosis diatesis hemoragik (kelainan perdarahan). Pemeriksaan ini terdiri dari:

1. Anamnesis dan pemeriksaan fisik bertujuan untuk :

a. Mencari riwayat perdarahan abnormal

- b. Mencari kelainan yang mengganggu faal hemostasis, misalnya penyakit hati kronik, SLE (*systemic lupus erythematosus*), gagal ginjal kronik, keganasan hematologik, dll
 - c. Riwayat pemakaian obat
 - d. Riwayat perdarahan dalam keluarga
2. Tes penyaring
- Tes penyaring terdiri atas :
- a. Tes untuk menilai pembentukan hemostatic plug, seperti: hitung trombosit, apusan darah tepi, bleeding time, tes torniquet (*Rumple-Leede*).
 - b. Tes untuk menilai pembentukan trombin terdiri atas tes PT (*Prothrombin Time*) dan aPTT (*Activated Partial Thromboplastin Test*).
 - c. Tes untuk menilai reaksi trombin-fibrinogen terdiri atas thrombin time dan stabilitas bekuan dalam saline fisiologik dan 5 M urea.
 - d. Tes prakoagulasi
3. Tes Khusus

Tes khusus lanjutan, yaitu tes untuk mengetahui penyebab kelainan faal hemostasis tersebut. Tes ini dilakukan sesuai petunjuk tes penyaring yaitu: tes faal trombosit, tes Ristocetin, pengukuran faktor spesifik (faktor pembekuan), dan pengukuran *alpha-2 antiplasmin* (Bakta, I.M., 2007).

D. Waktu Protrombin

1. Pengertian Waktu Protrombin

Waktu Protrombin adalah pemeriksaan hemostasis yang pertama kali diperkenalkan oleh Quick pada tahun 1935. Pemeriksaan ini dipakai untuk menyaring adanya kelainan hemostasis pada jalur ekstrinsik yang meliputi faktor pembekuan fibrinogen, protrombin, V, VII, X, dan dapat dipakai pula untuk memantau pemberian antikoagulan oral. Prinsip pemeriksaan waktu protrombin adalah mengukur lamanya waktu yang dibutuhkan dalam detik untuk pembentukan fibrin dari plasma sitrat, setelah penambahan tromboplastin jaringan dan ion Ca dalam jumlah optimal (Utama, H., 2007).

Pemeriksaan PT dilakukan bersama aPTT sebagai titik awal untuk menyelidiki perdarahan yang berlebihan atau gangguan pembekuan, dengan mengevaluasi hasil PT dan aPTT bersama-sama, dokter dapat memperoleh petunjuk tentang penyebab gangguan pembekuan atau perdarahan. Tes ini bermakna sebagai diagnosa dalam memberikan informasi apakah diperlukan pemeriksaan lebih lanjut atau tidak (Hillman, et al., 2011).

Protrombin disintesis oleh hati dan merupakan prekursor tidak aktif dalam proses pembekuan. Protrombin dikonversi menjadi trombin oleh tromboplastin yang diperlukan untuk membentuk bekuan darah. PT memanjang karena defisiensi faktor koagulasi ekstrinsik dan bersama jika kadarnya < 30 %. Pemanjangan PT dijumpai pada penyakit hati (sirosis hati, hepatitis, abses hati, kanker hati, ikterus), *afibrinogenemia*, defisiensi faktor koagulasi (II, V, VII, X), *disseminated intravascular coagulation* (DIC), fibrinolisis, *hemorrhagic disease*

of the newborn (HDN), gangguan reabsorpsi usus, penggunaan alkohol, pada penyakit hati PT memanjang karena sel hati tidak dapat mensintesis protrombin. Pemanjangan PT juga dapat disebabkan oleh pengaruh obat-obatan: vitamin K, antibiotik (penisilin, streptomisin, karbenisilin, kloramfenikol, kanamisin, neomisin, tetrasiklin), antikoagulan oral (warfarin, dikumarol, klorpromazin, klordiazepoksid, difenilhidantoin, heparin, metildopa), mitramisin, reserpin, fenilbutazon, quinidin, salisilat/aspirin, sulfonamide. PT memendek pada *tromboflebitis, infark miokardial, embolisme pulmonal*, dan diet tinggi lemak. Pengaruh obat: barbiturate, digitalis, diuretik, difenhidramin, kontrasepsi oral, rifampisin dan metaproterenol (Wiyata, B., 2014).

Reagen tromboplastin jaringan dibuat dengan memakai jaringan otak, paru atau plasenta dari bermacam-macam spesies seperti kelinci, kera, atau manusia. Hal ini akan memberikan kepekaan yang berbeda-beda, sehingga menimbulkan kesulitan dalam menilai hasil pemeriksaan waktu protrombin, terutama untuk memantau penderita yang menggunakan antikoagulan oral (Utama, H., 2007).

Perbedaan kepekaan reagen thromboplastin yang dipakai dan cara pelaporan hasil pemeriksaan PT menimbulkan kesulitan bila pemantauan dikerjakan di laboratorium yang berbeda-beda, untuk mengatasi masalah tersebut ICTH (*International Committee on Thrombosis and Haemostasis*) dan ICSH (*Internatioanl Committee on Standardization in Haemostasis*) merekomendasikan agar tromboplastin jaringan yang akan digunakan harus dikalibrasi terlebih dahulu terhadap tromboplastin rujukan dari WHO (*World Health Organisation*) agar mendapatkan nilai ISI (*International Sensitivity Index*). Nilai ISI diberikan untuk

reagen tromboplastin komersial untuk menentukan slope komparasi atau kepekaan relatifnya, serta perbandingannya dengan tromboplastin rujukan. Semakin rendah nilai ISI, maka semakin sensitif reagen tersebut. Hasil pemeriksaan PT dapat dilaporkan secara seragam dengan menggunakan INR (*International Normalized Ratio*) yang didapatkan dari nilai ratio dipangkatkan dengan nilai ISI dari reagen thromboplastin yang digunakan (Utama, H., 2007).

2. Pemeriksaan PT

Instruksi dari pabrik untuk alat dan reagen harus diikuti dengan teliti agar mendapatkan hasil yang baik. Reagen yang akan dipakai diinkubasi terlebih dahulu pada suhu 37°C, lamanya inkubasi untuk reagen sesuai dengan petunjuk dari pabrik. Setiap kali akan melakukan pemeriksaan harus dilakukan kontrol dengan menggunakan plasma kontrol normal dan abnormal. Pastikan nilai kontrol yang didapat sesuai dan tidak ada penyimpangan sebelum sampel pasien diperiksa.

Pemeriksaan waktu protrombin dapat dilaporkan dalam 4 bentuk, yaitu :

1. Waktu protrombin plasma pasien dan kontrol dalam detik

$$\frac{\text{waktu protrombin plasma pasien}}{\text{waktu protrombin plasma kontrol}}$$
2. Ratio $\frac{\text{waktu protrombin plasma kontrol}}{\text{waktu protrombin plasma pasien}}$
3. Aktivitas protrombin dalam %

$$\frac{\text{waktu protrombin plasma kontrol}}{\text{waktu protrombin plasma pasien}} \times 100 \%$$
4. Indeks protrombin $\frac{\text{waktu protrombin plasma kontrol}}{\text{waktu protrombin plasma pasien}} \times 100 \%$

Cara pelaporan yang bermacam-macam ini akan menimbulkan kesulitan dalam menilai hasil pemeriksaan. Kesulitan lain juga timbul karena setiap laboratorium memakai tromboplastin yang berbeda sensitivitasnya, sehingga didapatkan hasil yang bervariasi.

Poller pada tahun 1960 telah berusaha mengadakan standarisasi tromboplastin jaringan dengan menggunakan tromboplastin rujukan (IRP). Tromboplastin yang mula-mula dipakai oleh Poller dinamakan "*Manchester Comparative Reagent*" (MCR) yang kemudian dikenal sebagai "*British Comparative Thromboplastin*" (BCT) dan pada tahun 1983 oleh WHO dipakai sebagai tromboplastin rujukan. BCT ini diproduksi oleh "*United Kingdom Reference Laboratory for Anticoagulant Reagent and Control*" dan sudah banyak dipakai untuk kalibrasi reagent tromboplastin komersial, maupun tromboplastin yang dibuat secara nasional.

Sensitivitas reagen tromboplastin ini dinyatakan sebagai ISI dan sensitivitas suatu reagen tromboplastin dianggap baik apabila ISI tidak lebih dari 2,5. Hasil waktu protrombin sebaiknya dilaporkan sebagai rasio dengan membandingkan masa protrombin plasma pasien terhadap masa protrombin plasma kontrol untuk memantau efek antikoagulan oral. Rasio ini dapat diseragamkan bila pelaporan dilakukan dalam INR. INR adalah rasio masa protrombin plasma yang dipangkatkan dengan ISI dari reagen tromboplastin yang dipakai. $INR = R^{ISI}$ (Utama, H., 2007).

3. Penggunaan INR

INR dipakai untuk memantau efek antikoagulan oral pada penderita yang melakukan pengontrolan pada laboratorium yang berbeda atau yang bepergian ke tempat lain, dengan demikian maka hasil pemeriksaan waktu protrombin yang dilaporkan dalam INR dapat dibandingkan antara satu laboratorium dengan laboratorium yang lain dan juga dapat dipakai untuk pemantauan antikoagulan oral walaupun laboratorium tersebut memakai reagen tromboplastin yang berbeda. Selain itu INR ini dapat dipakai pula untuk mengetahui apakah dosis obat antikoagulan oral yang dipakai telah optimal atau belum.

Komplikasi berupa perdarahan mungkin dapat terjadi pada saat pemantauan. Penyebab perdarahan biasanya disebabkan oleh beberapa hal yaitu :

1. Hasil pemeriksaan laboratorium yang tidak sesuai dengan keadaan penderita yang dapat disebabkan karena kesalahan dalam pengambilan sampel, pemeriksaan waktu protrombin, dan pelaporan.
2. Efek obat antikoagulan berlebihan, hal ini dapat disebabkan karena interaksi dengan obat yang mempunyai efek potensiasi atau karena penghentian obat yang bekerja antagonis terhadap antikoagulan oral.
3. Perubahan patologik yang dapat menimbulkan efek potensiasi seperti penyakit jantung, intoksikasi alkohol, gangguan faal hati, hipoalbuminuria, malnutrisi, kolestasis, gangguan faal ginjal.

Selain perdarahan pada pemantauan mungkin didapatkan INR yang tidak stabil, hal ini disebabkan karena :

1. Penderita tidak patuh dalam menggunakan obat

2. Faktor makanan, makanan penderita banyak mengandung vitamin K seperti brocoli, lobak, kol, kentang, kapri, dan sayur-sayuran hijau (Utama, H., 2007).

E. Spesimen Pemeriksaan PT

Pemeriksaan Waktu Protrombin menggunakan spesimen darah vena. Komposisi darah vena lebih bervariasi tergantung aktifitas metabolik di organ / jaringan. Darah vena mempunyai kandungan O₂, pH, dan glukosa lebih rendah dibandingkan darah arteri. Perbedaan nilai O₂ pada darah arteri dan vena disebut *arterial venous oxygen difference* (Tahono, et al. 2012).

Sedangkan bahan untuk uji pemeriksaan waktu protrombin yaitu plasma sitrat yang diperoleh dari sampel darah vena dengan antikoagulan natrium sitrat 3,8% dengan perbandingan 9:1. Kemudian dipusing selama 15 menit dengan kecepatan 2000-2500 g (Kit InsetNeoplastin®CI plus).

1. Plasma

Darah disusun oleh 2 komponen, yaitu plasma darah dan sel-sel darah. Plasma darah termasuk dalam kesatuan cairan ekstraseluler dengan volume $\pm 5\%$ dari berat badan. Apabila jumlah volume darah ditambah dengan zat pencegah anti pembekuan darah secukupnya dalam satu wadah, misalnya tabung. Kemudian diputar selama 15 menit dengan kecepatan 2000-2500 g, maka akan didapat cairan yang terpisah dari bagian korpuskuli yang terdapat pada bagian bawah. Cairan yang terdapat pada bagian atas disebut plasma. Plasma darah mengandung

fibrinogen dan untuk mencegah terjadinya pembekuan darah maka darah harus dicampur dengan antikoagulan (Price, et al. 2005).

2. Antikoagulan

Antikoagulan merupakan zat yang berfungsi untuk mencegah terjadinya penggumpalan darah dengan cara mengikat kalsium atau menghambat terbentuknya trombin yang diperlukan untuk mengubah fibrinogen menjadi fibrin. Antikoagulan dan spesimen harus dicampur dengan segera dan dengan cara yang baik dan benar untuk mencegah terjadinya pembekuan.

Jenis antikoagulan yang dipakai untuk pemeriksaan PT adalah Natrium sitrat. Sitrat mencegah pembekuan dengan mengikat kalsium. Sitrat sangat baik untuk pemeriksaan faktor koagulasi, digunakan dengan perbandingan 9 bagian darah dan 1 bagian antikoagulan, pencampuran antara darah dan antikoagulan harus dibolak-balik dengan segera 3-4 kali (Tahono, et al. 2012).

F. Manfaat Pemeriksaan PT

Manfaat pemeriksaan waktu protrombin, yaitu :

- a. Mendiagnosa perdarahan yang tidak jelas penyebabnya atau pembekuan darah abnormal atau memar.
- b. Sebagai tes skrining pada pemeriksaan faal hemostasis.
- c. Memantau atau melihat apakah obat pengencer darah seperti warfarin bekerja, jika tes ini dilakukan dengan tujuan tersebut maka PT dapat dilakukan setiap hari pada awalnya. Ketika dosis obat yang benar sudah dapat ditentukan, maka tidak perlu melakukan banyak tes lagi.

- d. Memeriksa rendahnya tingkat faktor pembekuan darah. Kurangnya beberapa faktor pembekuan dapat menyebabkan gangguan perdarahan seperti hemofilia.
- e. Memeriksa tingkat rendahnya vitamin K. Vitamin K dibutuhkan untuk membuat faktor-faktor pembekuan protrombin dan lainnya.
- f. Memeriksa seberapa baik hati bekerja. Tingkat protrombin diperiksa bersama dengan tes-tes hati yang lain, seperti *aspartat aminotransferase* dan *alanin aminotransferase*. (Wiyata, B., 2014).

G. Faktor yang Mempengaruhi Hasil Pemeriksaan PT

1. Pengambilan spesimen

Teknik pengambilan spesimen harus dilakukan dengan benar dan sesuai dengan standart. Sumber kesalahan yang terjadi pada saat pengambilan darah yaitu:

- a. Tekanan pada tourniquet yang terlalu lama menyebabkan beberapa analit keluar dari jaringan dan masuk ke dalam darah sehingga menyebabkan hasil PT dan aPTT memendek. Oleh karena itu pemasangan torniquet sebaiknya tidak boleh lebih dari 1 menit dan digunakan lengan lainnya jika pemakaian torniquet harus berulang.
- b. Pengambilan darah terlalu lama (tidak sekali tusuk kena) dapat menyebabkan trombosit dan fibrinogen menurun, PT dan aPTT memanjang dan bisa menyebkan hemolisis.

- c. Pengambilan darah pada jalur infus dapat menyebabkan pemanjangan hasil PT dan aPTT. Sebaiknya pengambilan darah dilakukan ditempat lain yang tidak terpasang infus atau diambil beberapa waktu setelah terapi infus agar spesimen tidak terdilusi oleh cairan infus.
- d. Perbandingan darah / sitrat yang tidak tepat (konsentrasi sitrat meningkat, hasil memanjang palsu).

2. Adanya bekuan

Terbentuknya bekuan darah dapat terjadi karena proses homogenisasi darah dengan antikoagulan yang tidak sempurna, dapat memperpendek hasil PT.

3. Transport spesimen

Pengiriman sampel dengan cara yang tepat menjamin kualitas sampel. Spesimen harus secepatnya dikirim ke laboratorium rujukan. Penundaan terlalu lama dapat menyebabkan perubahan fisik dan kimiawi yang akan memperpanjang hasil PT. Untuk pemeriksaan PT jika pemeriksaan ditunda lebih dari 8 jam sampel harus disimpan dalam keadaan beku (Tahono, et al. 2012).

4. Ketepatan pemipetan
5. Adanya kontaminasi
6. Salah transkrip hasil

H. Penanganan Sampel PT

Hal-hal yang harus diperhatikan dalam pengelolaan spesimen adalah cara pengambilan / penyimpanan / pengiriman spesimen. Tujuan dari pemahaman cara pengelolaan spesimen tersebut adalah agar spesimen dapat memberikan hasil yang akurat dalam pemeriksaan secara makroskopis / mikroskopis dan spesimen tidak rusak dalam rentang waktu pengiriman ke laboratorium (Feng L, et al. 2013).

Pusat pelayanan kesehatan terutama rumah sakit besar dalam sehari dapat mencapai kurang lebih 150 pasien dengan berbagai jenis pemeriksaan, baik pemeriksaan patologi klinis, mikro, parasit, dan imunologi, maupun mikrobiologi. Sering terjadi kesalahan dalam pengambilan, pengolahan, maupun penundaan spesimen, oleh karena itu harus diperhatikan penyimpanan dan pengolahan spesimen agar tidak terjadi kesalahan. Pada pemeriksaan PT, jika pemeriksaan ditunda lebih dari 8 jam sampel harus disimpan dalam keadaan beku (Price, et al. 2005).

I. Pengaruh Penyimpanan dan Pengiriman Sampel PT

Pemeriksaan koagulasi sebaiknya segera dikerjakan karena beberapa faktor pembekuan bersifat labil, apabila tidak dapat segera dikerjakan setelah pengambilan darah, plasma disimpan dalam tabung plastik tertutup dan dalam keadaan beku. Pemeriksaan aPTT dan assay faktor VIII atau IX, bahan yang dikirim adalah plasma sitrat dalam tempat plastik bertutup dan diberi pendingin, tetapi untuk PT dan agregasi trombosit jangan diberi pendingin karena suhu dingin dapat mengaktifkan faktor VII oleh sistem kallikrein (Wiyata, B., 2014).

Pengaruh penyimpanan sampel plasma sitrat terhadap hasil pemeriksaan PT adalah dapat menghambat aktivitas dari faktor-faktor pembekuan sehingga hasilnya dapat memanjang, hal ini disebabkan karena CO₂ akan keluar dari plasma sehingga pH meningkat. Meningkatnya Ph plasma sitrat mengakibatkan 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 (Price, et al. 2005).

J. Metode Pemeriksaan PT

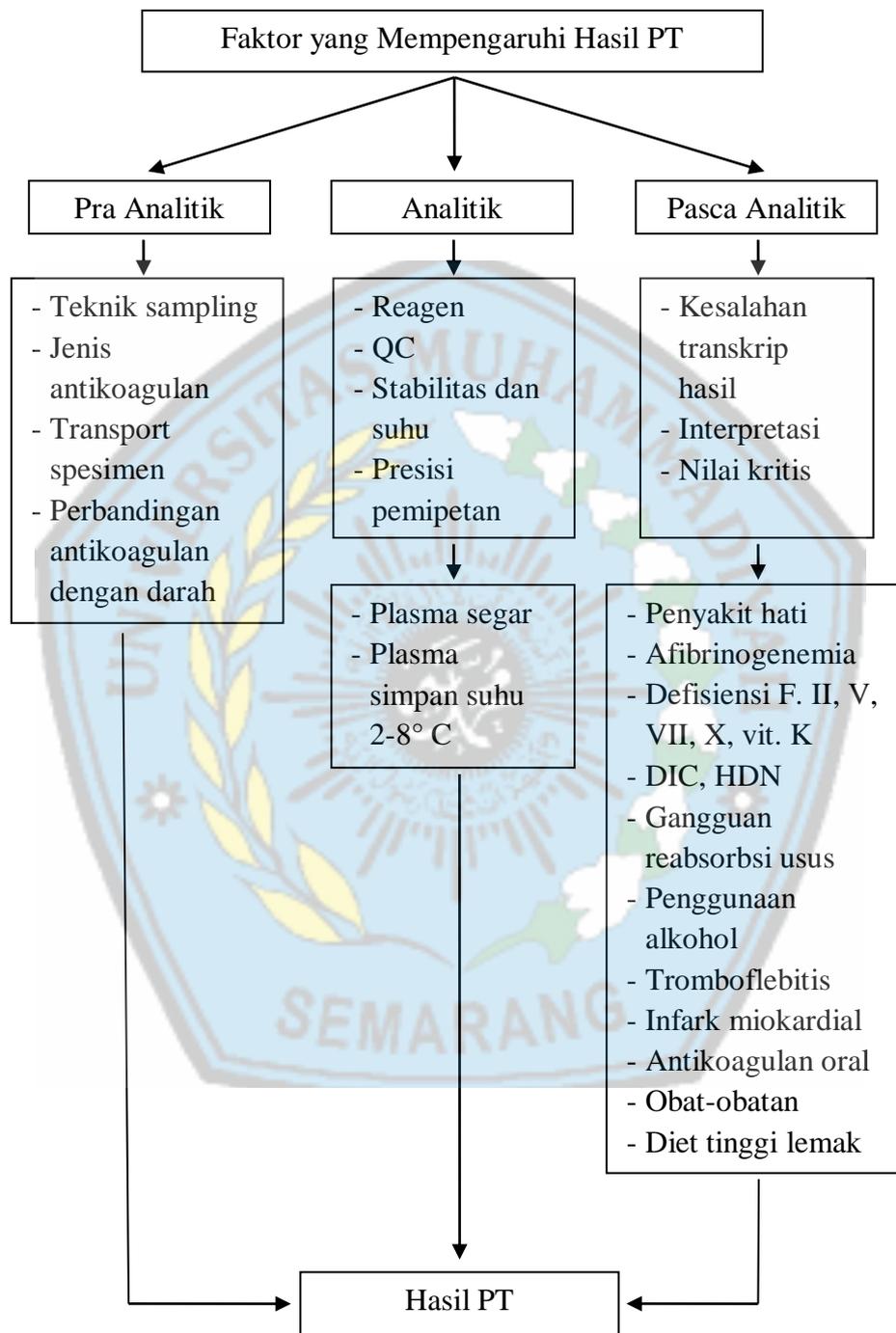
Metode yang dipakai untuk pemeriksaan waktu protrombin adalah *Electromechanical clot detection* dengan menggunakan alat St-art 4. Prinsip dari pemeriksaan ini yaitu adanya calcium thromboplastin dalam reagen PT bereaksi dengan faktor pembekuan I, II, V, VII, dan X membentuk bekuan dalam plasma pasien. Waktu terbentuknya bekuan akan dibaca secara electromechanical.

Pemeriksaan PT yang dilakukan dengan metode *Electromechanical clot detection* harus memperhatikan ketepatan pipetiran, stabilitas sampel dan reagen, ada atau tidaknya kontaminasi dalam reagen, waktu inkubasi, tabung penampung plasma yang harus terbuat dari plastik, dan ada tidaknya benang fibrin pada saat pemisahan plasma (Kit InsetNeoplastin®Cl plus).

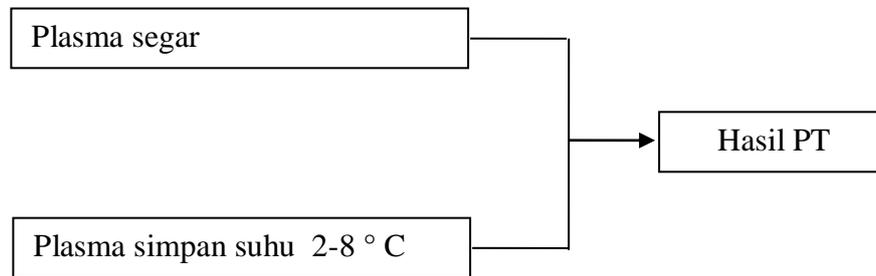
Gambar 1. Alat Koagulasi St-art 4



K. Kerangka Teori



L. Kerangka Konsep



M. Hipotesis Penelitian

Ada perbedaan hasil pemeriksaan Prothrombin Time pada plasma segar dan plasma simpan suhu 2-8 ° C selama 2-8 jam.

