

**PENGARUH LAMA PENYIMPANAN PLASMA SITRAT
TERHADAP PENETAPAN ACTIVATED PARSIAL
THROMBOPLASTIN TIME (APTT)**

Nurlia Naim*), Baharuddin)**

*) Jurusan Analisis Kesehatan Poltekkes Makassar

**) Jurusan Keperawatan Poltekkes Makassar

ABSTRAK

Penelitian ini dilatar belakangi oleh pemeriksaan APTT pada sampel plasma sitrat yang ditanggihkan. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh lama penyimpanan plasma sitrat terhadap penetapan *Activated Parsial Thromboplastin Time* (APTT). Jenis penelitian ini bersifat quasi eksperimental dimana sampel yang digunakan sebanyak 6 sampel dengan teknik pengambilan sampel secara *purposive sampling*. Dari hasil penelitian dengan menggunakan uji anova kemudian didapatkan hasil $F_{hitung}(20,16) > F_{tabel}(3,10)$ maka dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh terhadap waktu penundaan plasma sitrat yang diperiksa segera, ditanggihkan 1 jam, 2 jam dan 3 jam terhadap penetapan APTT tetapi dalam batas normal. Dari hasil pada penelitian ini disarankan pada pemeriksaan hemostasis khususnya APTT hendaknya dilakukan pemeriksaan segera karena pada penundaan 1 jam, 2 jam dan 3 jam yang hasilnya dapat memanjang.

Kata Kunci : Lama Penyimpanan, Plasma Sitrat, APTT

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang.

Pemeriksaan laboratorium sangat penting untuk mengetahui kesejahteraan pasien secara keseluruhan dan sering digunakan dalam pemeriksaan penapisan kesehatan. Laboratorium hematologi berperan mendefinisikan sel darah atau pigmen darah yang normal dan abnormal serta menentukan sifat kelainan. (Sacher. A, 2012)

Hemostasis adalah seluruh mekanisme yang digunakan oleh tubuh untuk melindungi diri terhadap kemungkinan perdarahan atau kehilangan darah. Bilamana terdapat luka pada pembuluh darah, segera akan terjadi vasokonstriksi pembuluh darah sehingga aliran darah ke pembuluh darah berkurang. (France K, 1997).

Salah satu pemeriksaan faal hemostasis yaitu terdapat pemeriksaan APTT yang terdapat dalam plasma yang dapat menunjukkan gangguan pembentukan faktor pembekuan yang berkurang (Carl E. Speicher, Jack W. Smith, 1996). Pemeriksaan APTT adalah menguji pembekuan darah melalui jalur intrinsik dan jalur bersama yaitu faktor pembekuan XII, prekalkrein, kininogen, XI, IX, VIII, X, V, protrombin dan fibrinogen (Setiabudy, Rahajuningsih D. 2009).

Pada pemeriksaan APTT harus dilakukan segera setelah pengambilan darah.

Jangka waktu penundaan sampel yang berupa plasma sitrat untuk penyimpanan pada suhu kamar pemeriksaan harus dilakukan maksimal dalam 2 jam setelah pengambilan darah. Nilai APTT dapat mempengaruhi hasil akibat keterlambatan pemeriksaan. (Larry Waterbury, 2000).

Berdasarkan keadaan di lapangan, terkadang pemeriksaan faal hemostasis salah satunya pemeriksaan APTT sering terjadi penangguhan pemeriksaan pada sampel. Terhadap pasien pra operasi mengalami penangguhan karena dalam pengumpulan sampel dilakukan sekaligus pengambilan pada semua pasien rawat inap sehingga membutuhkan waktu yang lebih lama. Dengan demikian terjadi penangguhan waktu pemeriksaan sampel yang telah diambil sebelumnya. Dari uraian tersebut, maka penulis akan melakukan penelitian tentang "Pengaruh lama penyimpanan plasma sitrat terhadap penetapan *Activated Parsial Thromboplastin Time* (APTT)".

A. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang maka penelitian dapat dirumuskan sebagai berikut "Apakah ada pengaruh lama penyimpanan plasma sitrat terhadap penetapan *Activated Parsial Thromboplastin Time* (APTT)?"

B. Tujuan Penelitian

1. Tujuan Umum

Untuk mengetahui pengaruh lama penyimpanan plasma sitrat terhadap penetapan *Activated Parsial Thromboplastin Time* (APTT)

2. Tujuan Khusus
Untuk menentukan seberapa besar pengaruh lama penyimpanan plasma sitrat terhadap penetapan *Activated Parsial Thromboplastin Time* (APTT)

C. Manfaat Penelitian

1. Untuk Akademik
Sebagai acuan yang bersifat ilmiah serta sumbangsih keilmuan khususnya bagi almamater Jurusan Analis Kesehatan Politeknik Kesehatan Makassar.
2. Untuk Peneliti
Menambah pangalaman dan wawasan peneliti untuk mengembangkan dan mengaplikasikan ilmu pengetahuan yang didapat selama mengikuti perkuliahan.

D. Hipotesis

1. Hipotesa nol (H_0)
Tidak ada pengaruh lama penyimpanan plasma sitrat terhadap penetapan *Activated Parsial Thromboplastin Time* (APTT)
2. Hipotesa alternatif (H_a)
Ada pengaruh lama penyimpanan plasma sitrat terhadap penetapan *Activated Parsial Thromboplastin Time* (APTT)

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah *Quasy Experiment* untuk mengetahui pengaruh lama penyimpanan plasma sitrat terhadap penetapan *Activated Parsial Thromboplastin Time* (APTT).

B. Populasi, Besar dan Teknik Pengambilan

1. Populasi
Populasi penelitian ini adalah pemeriksaan faal hemostasis
2. Sampel
Sampel pada penelitian ini adalah pemeriksaan APTT dengan menggunakan sampel pemeriksaan plasma sitrat.
3. Besar Sampel

Besar sampel yang digunakan berdasarkan Rumus Fereder, yaitu :

$$(t - 1)(n - 1) \geq 15$$

$$(4 - 1)(n - 1) \geq 15$$

$$3n - 3 \geq 15$$

$$3n \geq 18$$

$$n \geq 18/3$$

$$n \geq 6$$

Ket: t = perlakuan

n = jumlah sampel

4. Teknik Pengambilan
Teknik pengambilan sampel adalah *puposive sampling*.

C. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas
Variabel bebas pada penelitian adalah pengaruh lama penyimpanan plasma sitrat
2. Variabel Terikat
Variabel terikat pada penelitian ini adalah hasil pemeriksaan APTT

D. Definisi Operasional

1. Darah adalah jaringan tubuh yang berbeda dengan jaringan tubuh lain, berbeda dalam konsentrasi cair, beredar dalam suatu sistem tertutup yang dinamakan sebagai pembuluh darah dan menjalankan fungsi transpor berbagai bahan serta fungsi hemostasis.
2. Plasma Sitrat adalah sejumlah darah yang ditambah suatu zat pencegah pembekuan darah (antikoagulan Na Sitrat 3,2%) dengan perbandingan 1:9 dalam tabung, kemudian diputar dengan kecepatan 3000 rpm selama 20 menit.
3. Pemeriksaan *Activated Parsial Thromboplastin Time* adalah tes yang dilakukan dengan menambahkan reagen APTT yang mengandung aktivator plasma dan fosfolipid pada sampel yang kemudian diinkubasi selama 3 menit suhu 37°C lalu ditambahkan $CaCl_2$ dan beberapa saat akan terbentuk bekuan.
4. Pengaruh variasi penundaan plasma sitrat adalah variasi waktu penundaan yang dilakukan pada pemeriksaan APTT, plasma sitrat langsung diperiksa sebagai kontrol kemudian pada pemeriksaan selanjutnya dilakukan variasi penundaan 1 jam, 2 jam dan 3 jam.
- 5.

E. Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Lokasi Penelitian
Lokasi penelitian dilaksanakan di Laboratorium Hematologi Jurfusan Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Makassar
2. Waktu Penelitian
Waktu penelitian dilaksanakan pada tanggal 10 – 11 Juli 2014

F. Bahan dan Instrumen Penelitian

1. Instrumen Penelitian
Alat – alat yang digunakan dalam penelitian yaitu spoid 3 ml, tourniquet, kapas alkohol, tabung vacum sitrat, mikropipet 100 µl, yellowtip, sterbar, tabung khusus, humacloot duo dan sentrifuge.
2. Bahan Penelitian
Bahan – bahan yang digunakan dalam penelitian yaitu reagen APTT dan reagen CaCl₂.

G. Prosedur Kerja

1. Cara pengambilan darah vena
 - a. Dibersihkan bagian tangan yang akan diambil darahnya tepat di bagian vena fossa cubiti dengan kapas alkohol 70% dan dibiarkan hingga mengering.
 - b. Dipasang tourniquet tiga jari di atas lipatan siku. Pemasangan tourniquet tidak boleh lebih dari 1 menit, hal ini menjaga terjadinya hemokonsentrasi. Untuk pengambilan darah vena pasien diminta untuk membuka dan menutup gengaman beberapa kali.
 - c. Ditegangkan bagian kulit di atas vena dengan jari-jari tangan kiri supaya vena tidak bergerak.
 - d. Vena ditusuk dengan spuit, lubang jarum menghadap ke atas dengan sudut kemiringan antara jarum dan kulit 15⁰.
 - e. Dilepaskan atau diregangkan tourniquet secara perlahan dan ditarik penghisap spuit hingga darah yang terambil diperkirakan sebanyak 2,7 cc.
 - f. Diletakkan kapas kering di atas jarum dan ditarik jarum secara perlahan lalu ditekan tempat bekas penusukan jarum beberapa saat.
 - g. Dipindahkan darah dari dalam spuit dan dialirkan (jangan disemprotkan) darah ke dalam wadah atau tabung yang tersedia melalui dinding.

2. Persiapan Sampel (Pembuatan Plasma Sitrat)

Darah yang telah diambil kemudian dimasukkan ke dalam tabung yang telah berisi antikoagulan natrium sitrat 3,2% sebanyak 0,3 ml. Darah dan antikoagulan dihomogenkan kemudian disentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 20 menit. Plasma yang diperoleh kemudian dipipet ke dalam tabung lain yang bersih.

3. Pengoperasian alat / Humacloot Duo
Alat Humacloot Duo diaktifkan dengan cara menekan tombol ON/OFF pada belakang alat. Tunggu hingga suhu alat mencapai 37⁰C. Jika angka 37 masih berkedip, artinya suhu belum tercapai dan pemeriksaan belum boleh dilakukan. Jika suhu telah tercapai, pilih menu yang tersedia dengan cara mengetik angka pada kurung “code” lalu tekan enter.
4. Prosedur Kerja
 - a. Sampel langsung diperiksa
Disiapkan bahan dan instrumen penelitian. Diletakkan tabung khusus dan stirrer pada tempat inkubasi lalu dipipet plasma sitrat 100 µl dan diinkubasi selama 2 menit tekan reset 1 maka akan muncul angka 300 (5 menit), sampai angka 180 ditambahkan reagen APTT 100 µl, dilanjutkan inkubasi sampai muncul PUT TUBE, dipindahkan tabung ke lubang pembacaan dibelakang sampai angka nol (--.--) ditambahkan reagen CaCl₂ sebanyak 100 µl tanpa menyentuh dinding tabung, timer akan berjalan secara otomatis sampai stirer berhenti kemudian hasil akan terprint dan terbaca pada display.
 - b. Sampel ditangguhkan selama 1 jam
Disiapkan bahan dan instrumen penelitian. Diletakkan tabung khusus dan stirrer pada tempat inkubasi lalu dipipet plasma sitrat yang telah ditangguhkan selama 1 jam sebanyak 100 µl dan diinkubasi selama 2 menit tekan reset 1 maka akan muncul angka 300 (5 menit), sampai angka 180 ditambahkan reagen APTT 100 µl, dilanjutkan inkubasi sampai muncul PUT TUBE, dipindahkan tabung ke lubang pembacaan dibelakang sampai angka nol (--.--) ditambahkan reagen

CaCl₂ sebanyak 100 µl tanpa menyentuh dinding tabung, timer akan berjalan secara otomatis sampai stirer berhenti kemudian hasil akan terprint dan terbaca pada display.

- c. Sampel ditangguhkan 2 jam
 Disiapkan bahan dan instrumen penelitian. Diletakkan tabung khusus dan stirrer pada tempat inkubasi lalu dipipet plasma sitrat yang telah ditangguhkan selama 2 jam sebanyak

100 µl dan diinkubasi selama 2 menit tekan reset 1 maka akan muncul angka 300 (5 menit), sampai angka 180 ditambahkan reagen APTT 100 µl, dilanjutkan inkubasi sampai muncul PUT TUBE, dipindahkan tabung ke lubang pembacaan dibelakang sampai angka nol (---) ditambahkan reagen CaCl₂ sebanyak 100 µl tanpa menyentuh dinding tabung, timer akan berjalan secara otomatis sampai stirer berhenti kemudian hasil akan terprint dan terbaca pada display.

- d. Sampel ditangguhkan 3 jam
 Diletakkan tabung khusus dan stirrer pada tempat inkubasi lalu dipipet plasma sitrat yang telah ditangguhkan selama 3 jam sebanyak 100 µl dan diinkubasi selama 2 menit tekan reset 1 maka akan muncul angka 300 (5 menit), sampai angka 180 ditambahkan reagen APTT 100 µl, dilanjutkan inkubasi sampai muncul PUT TUBE, dipindahkan tabung ke lubang pembacaan dibelakang sampai angka nol (---) ditambahkan reagen CaCl₂ sebanyak 100 µl tanpa menyentuh dinding tabung, timer akan berjalan secara otomatis sampai stirer berhenti kemudian hasil akan terbaca pada display.

I. Analisis Data

Data yang diperoleh selanjutnya ditabulasikan dan diuji secara statistik dengan uji ANOVA (Analysis Of Varians) untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh penyimpanan plasma sitrat pada hasil pemeriksaan Activated Partial Thromboplastin (APTT).

$$FK = \frac{(\sum xT)^2}{\sum n}$$

$$JKT = \sum x_{ij}^2 - FK$$

$$JKP = \frac{(\sum x_1)^2}{n_1} + \frac{(\sum x_2)^2}{n_2} + \dots + \frac{(\sum x_k)^2}{n_k} - FK$$

$$JK \text{ Sisa} = JKT - JKP$$

Keterangan :

- FK = Faktor Korelasi
- JKT = Jumlah Kuadrat Total
- JKP = Jumlah kuadrat perlakuan
- JKS = Jumlah kuadrat sisa

Tabel 1. Tabel Anova

Sumber Variasi	Db	JK	KT	F. Hit	F _α
Perlakuan	K - 1	JKP	$\frac{JKP}{K - 1}$	$\frac{KT \text{ Perlakuan}}{KT \text{ Sisa}}$	
Sisa	$((\sum n_i - 1) - (K - 1))$	JKS	$\frac{JKS}{(\sum n_i - 1) - (K - 1)}$		
Total	$(\sum n_i - 1)$	JKT			

Keterangan :

- Db = derajat kebebasan
- KT = kuadrat tengah
- V₁ = db perlakuan, merupakan pembilang
- V₂ = db sisa, merupakan penyebut

Penarikan kesimpulan :

H₀ diterima jika F hitung < F tabel dan sebaliknya H_a diterima bila F hitung > F tabel. Bila H_a diterima, berarti terdapat pengaruh bermakna dari macam – macam perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

Telah dilakukan penelitian pengaruh lama penyimpanan plasma sitrat terhadap penetapan *Activated Parsial Thromboplastin Time* (APTT). Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Hematologi Jurusan Analis Kesehatan Politeknik Kesehatan Makassar. Jumlah sampel pada penelitian ini sebanyak 6 sampel dengan menggunakan variasi waktu pemeriksaan yaitu pemeriksaan segera, ditangguhkan 1 jam, 2 jam dan 3 jam.

dan 3 jam terhadap kadar APTT tetapi masih dalam batas nilai normal (35-45 detik).

Tabel 2. Hasil pemeriksaan APTT dengan penundaan waktu pemeriksaan

No	Kode Sampel	Hasil Pemeriksaan APTT Dengan Penundaan Waktu Pemeriksaan (Detik)			
		Segera diperiksa (Kontrol)	1 Jam	2 Jam	3 Jam
1	A	21,4	26	32,2	46,3
2	B	19,3	23,7	30	37,8
3	C	20,6	24,7	30	31,8
4	D	19,4	22,7	26,9	30,1
5	E	22	27,3	32	34,5
6	F	24,6	30,5	33,7	40,6
Rata-rata		21,22	25,82	30,8	36,85

Sumber : Data primer, 2014

Berdasarkan table 2 maka hasil yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan uji anova untuk mengetahui apakah terdapat pengaruh variasi waktu penundaan plasma sitrat terhadap kadar APTT.

Tabel 3. Hasil Anova Pengaruh Lama Penyimpanan Plasma Sitrat Terhadap Penetapan Activated Parsial Thromboplastin Time (APTT).

Sumber Variasi	Db	JK	KT	F. Hit	F_{tabel} Untuk α (0,05)
Perlakuan	3	810,86	270,29	20,16	3,10
Sisa	20	268,21	13,41		
Total	23	1079,07			

Berdasarkan data table 3 diatas, menunjukkan bahwa $F_{hitung} (20,16) > F_{tabel} (3,10)$ dengan derajat kemaknaan 95% maka, H_a diterima artinya terdapat pengaruh dari waktu penundaan plasma sitrat yang diperiksa segera, ditangguhkan 1 jam, 2 jam

B. Pembahasan

Pemeriksaan faal hemostasis yaitu terdapat pemeriksaan APTT yang terdapat dalam plasma yang dapat menunjukkan gangguan pembentukan faktor pembekuan yang berkurang (Carl E. Speicher, Jack W. Smith, 1996). Pemeriksaan APTT adalah menguji pembekuan darah melalui jalur intrinsik dan jalur bersama yaitu faktor pembekuan XII, prekalkrein, kininogen, XI, IX, VIII, X, V, protrombin dan fibrinogen (Setiabudy, Rahajuningsih D. 2009).

Pada penelitian ini lama waktu penundaan sampel plasma sitrat diteliti apakah berpengaruh terhadap hasil pemeriksaan APTT. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan variasi waktu penundaan 1 jam, 2 jam dan 3 jam dengan pemeriksaan plasma sitrat segera diperiksa sebagai kontrol.

Hasil pemeriksaan plasma sitrat dengan variasi waktu penundaan 1 jam, 2 jam dan 3 jam dengan pemeriksaan plasma sitrat segera diperiksa sebagai kontrol selanjutnya akan diuji secara statistik dengan menggunakan uji anova untuk mengetahui apakah terdapat pengaruh yang signifikan atau tidak ada pengaruh terhadap hasil pemeriksaan APTT.

Kriteria penerimaan dan penolakan hipotesis adalah bila $F_{hitung} < F_{tabel}$ maka H_0 diterima dan H_a ditolak, apabila $F_{hitung} > F_{tabel}$ maka H_a diterima dan H_0 ditolak.

Berdasarkan data yang diperoleh dan setelah diuji statistik dengan uji anova menunjukkan bahwa $F_{hitung} (20,16) > F_{tabel} (3,10)$ maka H_0 ditolak artinya terdapat pengaruh dari waktu penundaan plasma sitrat yang diperiksa segera, ditangguhkan selama 1 jam, 2 jam dan 3 jam terhadap kadar APTT tetapi masih dalam batas nilai normal (35-45 detik).

Pengaruh penyimpanan sampel pemeriksaan plasma sitrat terhadap hasil pemeriksaan APTT adalah keluarnya CO_2 dari plasma citrat sehingga pH meningkat dan dapat menghambat aktivitas faktor - faktor pembekuan sehingga hasilnya dapat memanjang. Penundaan waktu pemeriksaan, dapat menyebabkan perubahan-perubahan pada faktor pembekuan darah dalam sampel, sehingga dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan APTT. (Wijanda Hidajati,

2012) (<http://penelitian.unair.ac.id/>) dan plasma simpan membuat faktor V dan VIII secara bertahap menurun. (Sacher, A, 2012)

Pada pemeriksaan plasma sitrat harus diperhatikan faktor – faktor yang dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan APTT diantaranya pemeriksaan sampel yang ditangguhkan sebaiknya segera diperiksa setelah diperiksa agar hasil yang didapatkan baik.

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilaksanakan pada tanggal 10 – 11 Juli 2014 di Laboratorium Hematologi Analis Kesehatan Poltekkes Makassar tentang pengaruh lama penyimpanan plasma sitrat terhadap penetapan *Activated Parsial Thromboplastin Time* (APTT) diperoleh hasil $F_{hitung}(20,16) > F_{tabel}(3,10)$ maka dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh dari waktu penundaan plasma sitrat yang diperiksa segera, ditangguhkan 1 jam, 2 jam dan 3 jam terhadap kadar APTT tetapi dalam dalam batas normal (35-45 detik).

B. Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka penulis menyarankan pada pemeriksaan hemostasis khususnya APTT hendaknya dilakukan pemeriksaan segera karena pada penundaan 1 jam, 2 jam dan 3 jam yang hasilnya dapat memanjang dan disarankan bagi calon peneliti selanjutnya dapat menggunakan antikoagulan Natrium sitrat dengan konsentrasi berbeda sebagai perbandingan.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2002. *Tes APTT, PT, Fibrinogen & TT*. Bagian Patologi Klinik FK Unhas. Makassar
- Bakhri, SAK dan Kalma. 1989. *Diktat Hematologi*. Departemen Kesehatan RI. Makassar
- Bakta, I Made. 2007. *Hematologi Klinik Ringkas*. EGC. Jakarta
- Brandly, Jhon dkk. 1997. *Penuntun Klinis*. Hipokrates. Jakarta
- D'Hiru. 2013. *Live Blood Analysis*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta
- France, K. 1997. *Tinjauan Klinis Atas Pemeriksaan Laboratorium*. EGC. Jakarta
- Gandosoebarta, R. 2010. *Penuntun Laboratoeium Klinik*. Dian Rakyat. Jakarta
- Handayani, W dan Andi Sulistiyo Hariwibowo. 2008. *Asuhan Keperawatan Pada Klien dengan Gangguan Sistem Hematologi*. Salemba Medika. Jakarta
- Hidajati, Wijanda. Sampel Plasma selama penyimpanan untuk pemeriksaan APTT & PT (<http://penelitian.unair.ac.id/>) di posting tanggal 15-03-2012
- Hoffbrand, A.V. 2012. *Kapita Selekta Hematologi (Essential Hematology)* Edisi 4. EGC. Jakarta
- Kosasih, EN. 1983. *Capita Selekta Hematologi Klinik*. Alumni. Bandung
- Metha, Atul B dan Hoffbrand, A V. 2008. *At A Glance Hematologi*. Erlangga. Jakarta
- Sacher, A. 2012. *Tinjauan Klinis Hasil Pemeriksaan Laboratorium Edisi 11*. EGC. Jakarta
- Sadikin, M. 2001. *Biokimia Darah*. Widya Medika. Jakarta
- Setiabudy, D Rahajuningsih. *Hemostasis dan Trombosis Edisi 4*. 2009. FKUI. Jakarta
- Speicher, Carl E. 1994. *Pemilihan Uji Laboratorium Yang Efektif*. Ahli Bahasa Joko Suryono, Editor Siti Boedina Kresno. EGC. Jakarta
- Waterbury, Larry MD. 2000. *Buku Saku Hematologi (House Officer Series Hematology) Edisi 3*. EGC. Jakarta