

## **BAB 6**

### **PEMBAHASAN**

Permintaan tes koagulasi telah banyak dikerjakan di laboratorium-laboratorium dengan berbagai macam tujuan. Tujuan yang umum adalah biasanya dokter meminta pemeriksaan koagulasi terutama pemeriksaan PT dan aPTT untuk menguji kesiapan pasien sebelum operasi. Tujuan lainnya adalah untuk evaluasi dugaan adanya kelainan pembekuan darah atau pada kejadian pasien yang mengalami perdarahan terus-menerus. Maka dari itu, pemeriksaan ini termasuk salah satu pemeriksaan hematologi yang rutin dikerjakan.

Seperti yang telah dijabarkan di latar belakang penelitian ini, faktor pra-analitik menjadi faktor yang cukup krusial dalam berbagai pemeriksaan laboratorium termasuk pemeriksaan PT dan aPTT. Maka, perlu juga dilakukan evaluasi bagaimana pengaruh suhu dan durasi waktu simpan pada sampel plasma sitrat yang digunakan untuk pemeriksaan PT dan aPTT. Dalam penelitian ini, plasma sitrat dari sepuluh sampel disimpan pada suhu refrigerator (2 – 8 °C) dan suhu freezer (-20 °C) selama 24 jam dan 48 jam serta didapatkan hasil penelitian seperti yang telah dijabarkan di bab sebelumnya. Sampel yang dipilih adalah sampel dengan nilai koagulasi normal.

Dalam penelitian ini telah diperhatikan juga faktor-faktor pra-analitik lainnya seperti pelabelan yang tepat, volume sampel, homogenisasi sampel dengan antikoagulan, pemeriksaan terhadap adanya hemolisis atau pembekuan, dan urutan pengambilan sampel untuk memastikan bahwa sampel yang

digunakan untuk penelitian ini sesuai kritearia pengumpulan sampel yang baik dan benar.

## **6.1. Pengaruh Waktu Penyimpanan Sampel Plasma Sitrat pada Suhu**

### **Refrigerator dan Suhu Freezer pada Pemeriksaan PT**

Pada hasil penelitian ini dapat diamati bahwa plasma sitrat yang disimpan pada suhu refrigerator selama 24 jam dan 48 tidak berpengaruh terhadap pemeriksaan PT. Jika dilihat pada tabel perbandingan hasil antara pemeriksaan PT menggunakan plasma segar sebagai kontrol dengan plasma yang telah disimpan terlebih dahulu, hasilnya sebagian besar nilai PT dari plasma yang disimpan baik pada suhu refrigerator maupun pada suhu freezer selama 24 jam dan 48 jam lebih panjang dibandingkan dengan nilai kontrol. Namun, nilai yang memanjang tersebut tidak melebihi batas nilai normal dan selisih dari nilai kontrol hanya sepersekian detik. Hal ini menunjukkan bahwa sampel plasma sitrat masih cukup stabil digunakan untuk pemeriksaan PT bila terjadi penundaan waktu sampai 48 jam dengan penyimpanan di suhu refrigerator atau suhu freezer.

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Geelani et al. (2018) dan Zhao & Lv (2013) yang mengemukakan bahwa plasma sitrat yang disimpan pada suhu refrigerator (2-8 °C) aman digunakan untuk pemeriksaan PT sampai 24 jam. Bahkan, dalam penelitian ini penyimpanan plasma sitrat sampai 48 jam pada suhu tersebut juga dapat dinilai masih cukup aman untuk dilakukan pemeriksaan PT. Penelitian lainnya oleh Kemkes-Matthes et al., (2011)

menyebutkan bahwa pemeriksaan masa simpan plasma sitrat untuk pemeriksaan PT dapat diperpanjang sampai 24 jam dengan cara penyimpanan yang tepat.

Begitu juga dengan plasma sitrat yang disimpan pada suhu freezer ( $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) pemanjangan nilai PT tidak signifikan dan berdasarkan uji statistik tidak terdapat pengaruh waktu simpan pada suhu freezer terhadap pemeriksaan PT. Berdasarkan pedoman CLSI, penyimpanan plasma sitrat pada suhu  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  dapat diterima untuk sampel yang akan diperiksa dalam 2 minggu dengan diikuti pemantauan suhu secara rutin dan teknik pengumpulan sampel yang benar. Hasil penelitian dari Foshat et al. (2015) menunjukkan bahwa sampel untuk pemeriksaan PT dapat disimpan sampai 2 minggu pada suhu  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  tanpa memengaruhi interpretasi klinis.

Sebagian besar penelitian yang bertujuan untuk mengevaluasi stabilitas plasma sitrat yang dibekukan untuk pemeriksaan PT menggunakan interval waktu yang lama dari bulanan hingga tahunan. Salah satu diantaranya menunjukkan hasil bahwa plasma sitrat beku dapat disimpan sampai 12 bulan pada suhu  $-24\text{ }^{\circ}\text{C}$  dan 2 tahun pada penyimpanan suhu  $-74\text{ }^{\circ}\text{C}$  (Alesci et al., 2009). Namun, pada hasil penelitian lain disebutkan bahwa nilai PT dari plasma sitrat beku yang disimpan pada suhu  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  atau  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$  selama 1, 2, 3 atau 4 bulan memanjang hingga lebih dari 10% (Van Den Besselaar et al., 2013). Bagaimanapun juga, untuk penyimpanan sampel pada suhu  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  dalam penelitian ini interval waktu yang digunakan hanya 24 jam dan 48 jam dengan hasil tidak ada pengaruh signifikan terhadap pemeriksaan PT.

Pada penelitian ini, plasma sitrat lebih stabil jika disimpan dalam keadaan beku pada suhu  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  bila dibandingkan dengan suhu refrigerator. Hal ini dapat diperhatikan dari perbandingan antara selisih nilai kontrol dan nilai PT setelah disimpan pada suhu refrigerator dengan nilai kontrol dan nilai PT setelah disimpan pada suhu freezer. pada penyimpanan selama 24 jam selisih nilai kontrol dan nilai PT dengan suhu penyimpanan  $2 - 8\text{ }^{\circ}\text{C}$  rata-rata sebesar 0,4 detik, sedangkan jika dibandingkan dengan penyimpanan suhu  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  selisihnya rata-rata hanya 0,2 detik. begitu juga pada penyimpanan selama 48 jam, selisih nilai kontrol dan nilai PT dengan suhu penyimpanan  $2 - 8\text{ }^{\circ}\text{C}$  rata-rata 0,9 detik, sedangkan bila dibandingkan dengan suhu penyimpanan  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  selisihnya lebih sedikit rata-rata hanya 0,3 detik. Hal ini tidak begitu bermakna pada nilai klinis pemeriksaan PT, namun cukup untuk menjadi perhatian.

Pemanjangan nilai PT dapat menggambarkan adanya potensi perdarahan. Pemeriksaan PT digunakan untuk mengevaluasi faktor koagulasi jalur ekstrinsik yang nilainya memanjang pada pasien defisiensi vitamin K, dan defisiensi faktor VII (Foshat et al., 2015). Pada kasus nilai PT memanjang tidak wajar perlu dikonfirmasi bagaimana riwayat rekam medis pasien. Jika, pasien tidak memiliki riwayat kelainan koagulasi darah atau juga tidak sedang terapi antikoagulan maka, evaluasi terhadap kualitas sampel perlu dilakukan. Nilai PT yang tidak normal bisa terjadi akibat faktor pra-analitik yang kurang tepat termasuk suhu penyimpanan dan lama penundaan pemeriksaan. Penundaan pemeriksaan yang cukup lama serta perlakuan *freeze-thaw* dapat memengaruhi nilai PT karena faktor VII memiliki waktu paruh yang pendek. Serta sifat protein pembekuan

yang sangat labil sehingga dapat terdegradasi pada durasi penyimpanan yang lama dan menyebabkan pemanjangan nilai saat dilakukan pemeriksaan PT (Adcock Funk et al., 2012).

Disamping sebagian besar nilai PT yang memanjang setelah masa penyimpanan, beberapa sampel juga ada yang nilainya memendek jika dibandingkan dengan kontrol. Hal ini dapat disebabkan karena faktor VII secara khusus sensitif pada aktivasi suhu dingin (*cold activation*) (Lippi et al., 2012). Selain itu terdapat satu sampel yang pada penyimpanan 48 jam suhu freezer nilainya memendek hingga batas bawah nilai normal. Namun, hal ini masih dapat diterima karena selisih dengan nilai kontrol hanya 0,3 detik dan pasien tidak memiliki riwayat penyakit tertentu yang dapat memengaruhi pemeriksaan PT.

Dari penelitian ini dapat dibuktikan bahwa pemeriksaan PT dengan sampel plasma sitrat yang disimpan pada suhu refrigerator dan suhu freezer selama 24 jam bahkan 48 jam tidak memengaruhi hasil secara signifikan. Namun, sebaiknya pemeriksaan PT dikerjakan segera setelah pengumpulan sampel dan juga dipastikan kriteria sampel sudah benar sesuai dengan pedoman yang ada.

## **6.2. Pengaruh Waktu Penyimpanan pada Suhu Refrigerator dan Suhu Freezer Terhadap Pemeriksaan aPTT**

Berdasarkan data hasil penelitian dan uji statistik yang telah dijabarkan pada bab sebelumnya, dapat diketahui bahwa suhu dan lama waktu penyimpanan memengaruhi pemeriksaan aPTT. Pada tabel perbandingan antara nilai aPTT dari plasma sitrat yang telah disimpan dengan nilai aPTT dari plasma sitrat yang

langsung diperiksa dapat diperhatikan bahwa nilai aPTT plasma setelah penyimpanan memanjang. Namun nilai tersebut masih dalam rentang nilai normal. Berbeda dengan hasil penelitian dari pemeriksaan PT, pada hasil penelitian dari pemeriksaan aPTT ini selisih dengan nilai kontrol cukup signifikan baik pada penyimpanan suhu refrigerator maupun suhu freezer. Setelah perhitungan selisihnya  $\pm 2,7$  detik lebih panjang dibanding nilai kontrol. Hal ini sesuai dengan hipotesis bahwa nilai aPTT dipengaruhi suhu dan lama waktu simpan.

Pada penelitian sebelumnya yang tujuannya mengevaluasi stabilitas plasma sitrat dengan penyimpanan suhu 2 – 8 °C untuk pemeriksaan aPTT hasilnya sangat bervariasi. Seperti pada penelitian Geelani et al., (2018) dan Musa et al., (2013) yang mengungkapkan hasil pemeriksaan aPTT masih dapat diterima pada penundaan pemeriksaan sampai 4 jam dengan penyimpanan suhu 2 – 8 °C (suhu refrigerator) dan hasil tidak terpengaruh secara signifikan. Sedikit berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Feng et al., (2014) hasilnya adalah sampel cukup stabil untuk pemeriksaan aPTT pada penyimpanan hingga 12 jam pada suhu 4 °C. Lain halnya dengan penelitian Zhao & Lv (2013) yang hasilnya interval waktu simpan plasma sitrat untuk pemeriksaan aPTT masih stabil hingga 8 jam dengan suhu penyimpanan 4 °C. Sedangkan penelitian oleh Rimac & Coen Herak (2017) menunjukkan bahwa hasil pemeriksaan aPTT masih dapat diterima setelah 24 jam penyimpanan suhu 4 °C dengan sampel masih berada dalam tabung vakum. Dalam penelitian ini, interval waktu yang digunakan untuk penyimpanan suhu refrigerator adalah 24 jam dan 48 jam, adanya pengaruh

terhadap pemeriksaan aPTT jelas terlihat. Hal ini juga dibuktikan dengan uji statistik lanjutan yang telah dilakukan yang hasilnya terdapat perbedaan nilai aPTT antara plasma sitrat yang langsung diperiksa dengan plasma sitrat yang disimpan baik selama 24 jam maupun selama 48 jam pada suhu refrigerator.

Sedikit berbeda dengan variasi penyimpanan pada suhu freezer, beberapa penelitian sejenis menunjukkan bahwa pemanjangan nilai aPTT tidak berbeda signifikan pada penyimpanan suhu  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  hingga 24 jam (Foshat et al., 2015). Selain itu, penelitian yang dilakukan oleh Hassan et al., (2013) hasilnya adalah nilai aPTT memanjang setelah penyimpanan selama 1 minggu pada suhu  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Pada penelitian ini plasma sitrat yang disimpan pada suhu  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  baik selama 24 jam maupun 48 jam, kedua interval waktu simpan tersebut berpengaruh terhadap pemeriksaan aPTT. Namun, setelah dilakukan uji statistik lanjutan, dapat diperhatikan bahwa waktu penyimpanan selama 48 jam yang memengaruhi nilai pemeriksaan aPTT. Hal ini karena dari hasil uji statistik terdapat perbedaan antara nilai aPTT dari plasma sitrat yang langsung diperiksa dengan plasma sitrat yang disimpan selama 48 jam. Sedangkan, pada plasma sitrat dengan waktu penyimpanan 24 jam pada suhu freezer jika dibandingkan dengan yang langsung diperiksa hasilnya tidak ada perbedaan. Dari hal ini, plasma sitrat yang disimpan selama 24 jam pada suhu freezer masih aman digunakan untuk pemeriksaan aPTT.

Meskipun dari uji statistik menunjukkan adanya pengaruh, namun jika diperhatikan pada tabel 5.2 nilai aPTT yang memanjang setelah masa penyimpanan baik pada suhu refrigerator maupun pada suhu freezer masih tetap

dalam rentang nilai normal sehingga tidak berpengaruh pada interpretasi klinis. Tetapi, beberapa sampel menunjukkan nilai yang mendekati batas atas nilai normal, hal ini juga perlu diperhatikan.

Sama seperti pada pemeriksaan PT, plasma sitrat untuk pemeriksaan aPTT juga lebih stabil jika disimpan dalam keadaan beku pada suhu  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  dibandingkan dengan suhu refrigerator. Dapat dilihat dari perbandingan antara selisih nilai kontrol dan nilai aPTT setelah disimpan pada suhu refrigerator dengan nilai kontrol dan nilai aPTT setelah disimpan pada suhu freezer. Pada penyimpanan selama 24 jam selisih nilai kontrol dan nilai aPTT dengan suhu penyimpanan  $2 - 8\text{ }^{\circ}\text{C}$  rata-rata sebesar 3,1 detik, sedangkan pada penyimpanan suhu  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  selisihnya rata-rata hanya 1,5 detik. Begitu juga pada penyimpanan selama 48 jam, selisih nilai kontrol dan nilai aPTT dengan suhu penyimpanan  $2 - 8\text{ }^{\circ}\text{C}$  rata-rata 3,9 detik, sedangkan bila dibandingkan dengan suhu penyimpanan  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  selisihnya lebih sedikit yaitu rata-rata 2,2 detik. Hal ini mungkin sedikit bermakna untuk interpretasi klinis mengingat stabilitas sampel untuk pemeriksaan aPTT cukup sensitif. Maka dari itu, pemilihan penyimpanan sampel plasma sitrat pada keadaan beku ( $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) lebih baik dibandingkan dengan penyimpanan pada suhu refrigerator.

Pemanjangan nilai aPTT dapat menggambarkan adanya potensi perdarahan. Pemeriksaan aPTT berguna untuk mengevaluasi faktor koagulasi pada jalur intrinsik yang dapat memanjang karena heparin dan pada kondisi defisiensi atau adanya inhibitor pada faktor VIII, IX, dan XI (Adcock Funk et al., 2012). Keadaan tersebut dapat terjadi karena adanya riwayat kelainan pembekuan darah

dari pasien itu sendiri atau efek dari faktor pra-analitik yang kurang benar sebelum dilakukan pemeriksaan termasuk faktor penundaan pemeriksaan. Penundaan pemeriksaan dapat memengaruhi pemeriksaan aPTT karena faktor V dan VIII sifatnya sangat labil. Hasil pemeriksaan aPTT yang memanjang setelah proses penyimpanan plasma sitrat dapat disebabkan oleh faktor Von Willebrand yang terdegradasi sehingga faktor VIII menurun dan menyebabkan hasil memanjang (Rimac & Coen Herak, 2017). Maka dari itu, untuk menghindari hal tersebut sebaiknya pemeriksaan aPTT dikerjakan segera setelah pengumpulan sampel, namun bila terpaksa mengalami penundaan maka harus diperhatikan suhu penyimpanannya, sebaiknya plasma disimpan pada suhu freezer karena lebih stabil serta hindari *freeze-thaw*.