

Penerbit



METODE PEMERIKSAAN HEMOSTASIS

Penulis:

Sianny Herawati

I Wayan Putu Sutirta Yasa

Penyunting:

I Wayan Putu Sutirta Yasa



METODE

PEMERIKSAAN HEMOSTASIS

Penulis:

Sianny Herawati

I Wayan Putu Sutirta Yasa

Penerbit :



METODE PEMERIKSAAN HEMOSTASIS

Penulis:

Sianny Herawati

I Wayan Putu Sutirta Yasa

Editor:

I Wayan Putu Sutirta Yasa

Penerbit:

PT. Intisari Sains Medis

Bekerjasama dengan

Universitas Udayana

Edisi Pertama

Cetakan pertama: Desember 2024

2024, v + 55 hlm, 15 x 22.5 cm

ISBN:

Hak cipta dilindungi undang-undang

Dilarang memperbanyak karya tulis ini dalam bentuk dan dengan cara apapun tanpa ijin tertulis dari penerbit

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kami panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, karena atas berkat dan rahmat-Nya maka buku ini dapat selesai dengan baik. Buku ini dibuat untuk menjadi salah satu referensi dan diharapkan dapat lebih memudahkan pemahaman tentang metode pemeriksaan hemostasis.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah berkontribusi dalam penerbitan buku ini. Tentunya buku ini masih kurang sempurna, sehingga masih perlu penyempurnaan dan revisi sesuai dengan perkembangan ilmu. Semoga buku tentang hemostasis ini dapat bermanfaat di bidang kesehatan.

Denpasar, 20 September 2024

Hormat kami,

Tim Penulis

DAFTAR ISI

Kata Pengantar	iii
Daftar Isi	v
Daftar Tabel.....	vii
Daftar Gambar	viii

BAB I METODE ALAT HEMOSTASIS

1.1 Sejarah Instrumen Hemostasis	1
1.2. Prinsip Alat Hemostasis	3
1.2.1 <i>Mechanical clot end-point detection</i>	4
1.2.2 <i>Photo-optical clot end-point</i> <i>detection</i>	6
1.2.3 <i>Chromogenic End-Point Detection...</i>	10
1.2.4 <i>Immunologic Light Absorbance</i> <i>End-Point Detection</i>	11
1.3 Kelebihan dan Kekurangan Berbagai Metode Alat Hemostasis	11
1.4 Pemeriksaan <i>Hemostasis Point of Care</i> (POC)	26

BAB II FLAGGING PADA ALAT HEMOSTASIS 29

2.1 <i>No coagulation</i>	32
2.2 <i>Slight Coagulation</i>	34
2.3 <i>Analysis Time Over</i>	35
2.4 <i>Early Reaction Error</i>	37
2.4.1 <i>Slow Reaction</i>	37
2.4.2 <i>Start Angle 1</i>	38
2.4.3 <i>Start Angle 2</i>	40

2.4.4	<i>Early %</i>	41
2.4.5	<i>Drift</i>	43
2.5	<i>Coagulation Curve Error</i>	45
2.6	<i>Flat Curve</i>	47
2.7	<i>Trans Light High</i>	48
2.8	<i>Range Over</i>	50
2.9	<i>Turbidity Level Over</i>	51

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Kelebihan dan kekurangan berbagai metode alat hemostasis.....	12
Tabel 2. Level otomatisasi alat koagulasi.....	16
Tabel 3. Fitur khusus pada alat hemostasis	22
Tabel 4. Alat POC untuk pemeriksaan koagulasi.....	26
Tabel 5. Flagging pada Kurva Reaksi Sysmex CS-2500.....	31

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	<i>Prinsip mechanical clot end-point detection ...</i>	5
Gambar 2.	<i>Photo-optical clot end-point detection.....</i>	7
Gambar 3.	<i>Teknologi multi-wavelength detector</i>	8
Gambar 4.	<i>Pengaturan Kurva Reaksi/Reaction Curve.....</i>	9
Gambar 5.	<i>Contoh Kurva Reaksi Normal.....</i>	10
Gambar 6.	<i>Grafik pembentukan bekuan alat ACL TOP1..</i>	21
Gambar 7.	<i>Flag Kurva Reaksi No Coagulation.....</i>	33
Gambar 8.	<i>Flag Kurva Reaksi Slight Coagulation</i>	34
Gambar 9.	<i>Flag Kurva Reaksi Analysis Time Over</i>	36
Gambar 10.	<i>Flag Kurva Reaksi Early Reaction Error subset Slow Reaction.....</i>	37
Gambar 11.	<i>Flag Kurva Reaksi Early Reaction Error subset Start Angle 1</i>	39
Gambar 12.	<i>Flag Kurva Reaksi Early Reaction Error subset Start Angle 2</i>	40
Gambar 13.	<i>Flag Kurva Reaksi Early Reaction Error subset Early%.....</i>	42
Gambar 14.	<i>Flag Kurva Reaksi Early Reaction Error subset Drift</i>	43
Gambar 15.	<i>Flag Kurva Reaksi Coagulation Curve Error dengan 5 subsetnya.....</i>	46
Gambar 16.	<i>Flag Kurva Reaksi Flat Curve</i>	47
Gambar 17.	<i>Flag Kurva Reaksi Light High</i>	49
Gambar 18.	<i>Flag Kurva Reaksi Range Over</i>	50
Gambar 19.	<i>Flag Kurva Reaksi Turbidity Level Over</i>	52

BAB I

METODE ALAT HEMOSTASIS

1.1 SEJARAH INSTRUMEN HEMOSTASIS

Perkembangan instrumentasi dan metode pemeriksaan hemostasis memberikan kontribusi dan manfaat yang besar dalam menunjang diagnostik kelainan hemostasis. Beberapa parameter khusus yang sebelumnya sulit dikerjakan, saat ini dapat dilakukan dengan mudah oleh berbagai laboratorium. Instrumentasi baru juga membantu pemeriksaan hemostasis lebih terstandarisasi, konsisten dan hemat biaya. Namun validasi metode, prosedur, pemahaman teoritis tentang mekanisme hemostasis masih diperlukan untuk memastikan akurasi dan presisi hasil pemeriksaan sehingga klinisi dapat membuat keputusan yang tepat dan akurat dalam diagnosis dan pemantauan terapi pada perawatan pasien.¹

Pemeriksaan hemostasis berdasarkan terbentuknya bekuan yang dilihat secara visual dimulai pada abad ke-18, dimana darah vena yang diambil dari anjing tampak mengalami penggumpalan sempurna setelah sekitar 7 menit. Tahun 1780, Hewson menyatakan bahwa darah manusia yang dikumpulkan dalam baskom, akan membeku dalam 7 menit, dan dengan ditemukannya mikroskop, para ilmuwan mampu

melihat pembentukan bekuan dan timbulnya kekeruhan. Kemudian selama tahun 1822 - 1921 ditemukan banyak kemajuan terhadap berbagai faktor yang mempengaruhi proses pembekuan meliputi pengaruh suhu dan penggunaan berbagai ukuran dan bentuk tabung gelas dalam pembentukan bekuan, hingga ditemukannya prosedur waktu pembekuan Lee-White (1913). Alat koagulasi pertama kali ditemukan oleh Kottman (1910) yang diberi nama koaguloviskometer, yang mengukur perubahan viskositas darah saat terjadi pembekuan darah, melalui perekaman perubahan voltase yang diplot terhadap waktu terbentuknya bekuan. Kemudian tahun 1948 Hartert mengembangkan *thromboelastograph (TEG)* yang masih digunakan hingga saat ini.¹

Pemeriksaan koagulasi menggunakan plasma sitrat (biasanya *platelet poor plasma* atau plasma dengan jumlah trombosit kurang dari $10.000/\mu\text{L}$) menggantikan penggunaan *whole blood*, yang dimulai tahun 1920 oleh Gram dengan cara menambahkan kalsium klorida pada plasma pada suhu 37°C , kemudian diukur peningkatan viskositas plasma selama polimerisasi fibrin monomer, yang kemudian menjadi dasar pemeriksaan PT dan aPTT. Pemeriksaan PT dan aPTT dilakukan dengan menambahkan plasma dan reagen ke dalam tabung gelas, diinkubasi pada suhu 37°C , kemudian pembentukan bekuan ditentukan dengan inspeksi visual plasma saat tabung dimiringkan, dan *stopwatch* digunakan untuk penentuan

waktu pembentukan bekuan, yang dikenal sebagai *tilt-tube technique*. Instrumen pertama adalah *nephelometers* (1920) yang mengukur dispersi cahaya pada sudut 90° pada suspensi koloidal, dimana perubahan *light scatter* diukur sepanjang waktu saat plasma membeku. Tahun 1950 dikembangkan koagulometer yaitu BBL fibrometer yang menggunakan elektrode untuk mendeteksi pembekuan plasma melalui metode elektromekanik, sehingga memungkinkan terjadinya transisi dari metode *manual tilt tube* menjadi pemeriksaan semiotomatis.¹

Saat ini perkembangan detektor bekuan termasuk penggunaan bola baja bergulir dan pengukuran *photo-optical* serta komputerisasi dan inovasi *software* banyak digunakan. Selain itu parameter pemeriksaan tidak hanya *clot-based assays* tetapi juga menggunakan substrat sintetik dan antibodi monoklonal untuk mengukur protein tunggal, sehingga meningkatkan kemampuan mengidentifikasi penyebab spesifik trombosis maupun kelainan perdarahan.¹

1.2 PRINSIP ALAT HEMOSTASIS

Berdasarkan tipe *end-point detection*, alat hemostasis dapat diklasifikasikan menjadi:^{1,2,3}

1. *Clot-based assay:*
 - a) *Mechanical*
 - b) *Photo-optical*

2. *Chromogenic*

3. *Immunologic*

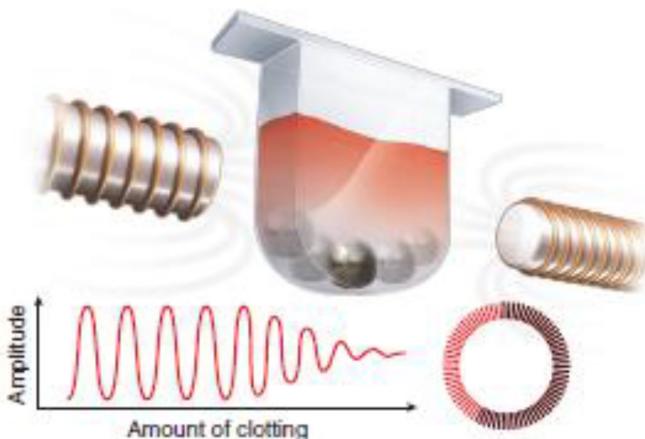
Prinsip *mechanical* dan sistem deteksi *single end-point* adalah prinsip yang pertama kali digunakan, namun saat ini berkembang menjadi *photo-optical* yang membaca pada panjang gelombang tertentu antara 500 dan 600 nm. Dengan berkembangnya teknologi, tidak hanya berdasarkan metode *clot-based* tetapi ada juga yang menggunakan metode *chromogenic* dan *immunoassay*, dan beberapa instrumen menggabungkan ketiga metode tersebut dalam satu alat.

1.2.1 *Mechanical clot end-point detection*

Mengukur perubahan konduktivitas antara dua elektrode logam di dalam plasma. Prinsip ini digunakan pada alat semiotomatis pertama yaitu BBL fibrometer. *Probe* alat memiliki satu *stationary electrode* dan satu *moving electrode*. Selama proses pembekuan, *moving electrode* akan masuk dan keluar plasma dalam interval waktu regular. Arus antara elektrode akan terputus saat *moving electrode* keluar dari plasma. Ketika terbentuk bekuan, benang fibrin menghubungkan arus diantara kedua elektrode meskipun *moving electrode* keluar dari plasma, sehingga melengkapi arus sirkuit dan menghentikan *timer*.^{1,3}

Metode mekanik lainnya ada yang menggunakan sensor magnetik yang memantau pergerakan bola baja di

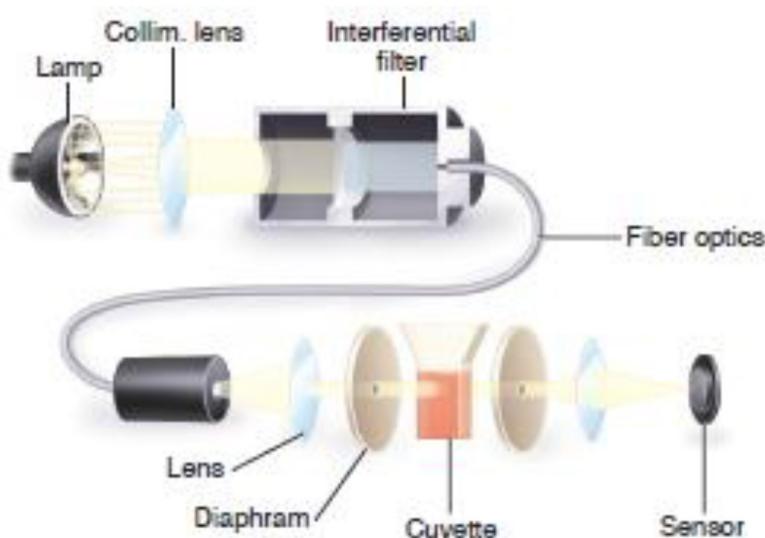
dalam plasma. Terdapat dua prinsip yang digunakan pada alat metode mekanik tersebut. Pada sistem pertama, medan elektromagnetik mendeteksi osilasi bola baja di dalam larutan campuran plasma reagen dan saat terbentuk benang fibrin, viskositas mulai meningkat dan memperlambat gerakan. Ketika osilasi menurun pada tingkat yang telah ditentukan, *timer* akan berhenti dan menunjukkan waktu pembekuan plasma. Metode ini digunakan pada alat *Diagnostica Stago (viscosity-based detection method)*. Dalam sistem kedua, sebuah bola baja diposisikan miring dalam *well* yang dideteksi oleh sensor magnetik. Saat *well* mengalami rotasi, bola baja tetap dalam posisi miring. Ketika terbentuk benang fibrin, bola baja keluar dari posisinya, jauh dari sensor, dan terjadi pemutusan sirkuit, yang menghentikan *timer*. Teknologi ini digunakan pada alat *AMAX* dan *Destiny* oleh *Tcoag* dan alat *Hemochron ACT*.^{1,3}



Gambar 1. Prinsip *mechanical clot end-point detection*¹

1.2.2 *Photo-optical clot end-point detection*

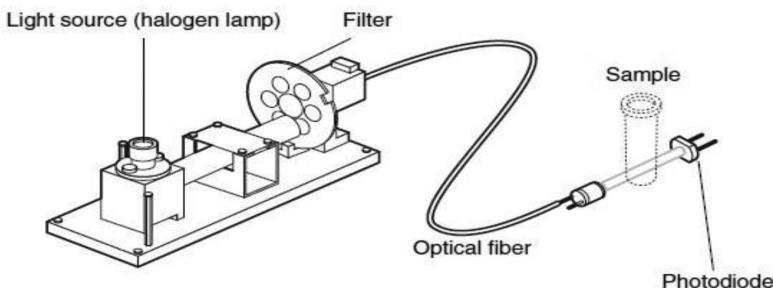
Mendeteksi perubahan *optical density/OD* plasma selama proses pembekuan. Sinar dengan panjang gelombang spesifik melewati plasma dan OD dideteksi dengan fotodetektor selama periode pembentukan bekuan. *Optical density* tergantung warna dan kejernihan spesimen yang digunakan sebagai *baseline*. Pembentukan benang fibrin menyebabkan pencaran sinar, sehingga sedikit sinar yang mengenai fotodetektor, menyebabkan peningkatan OD, dan OD akan semakin besar saat bekuan semakin padat. Ketika OD meningkat hingga variasi yang ditentukan dari *baseline*, maka *timer* akan berhenti, mengindikasikan terbentuknya bekuan. Efek lipemia dan ikterus dapat diminimalisasi karena OD *baseline* dikurangi dengan OD *final*. Beberapa alat juga dilengkapi dengan panjang gelombang multipel yang mampu membedakan dan menyaring efek ikterus dan lipemik. Metode ini digunakan pada alat ACL TOP CTS (*Beckman Coulter Inc/Instrument Laboratory*) dan *Siemens Healthcare Diagnostics Sysmex Cas* dan BCS.^{1,3}



Gambar 2. Photo-optical clot end-point detection.¹

Sysmex CS-2500 adalah alat analisis koagulasi otomatis /*fully automated coagulation analyzer* yang menggunakan metode deteksi reaksi optik. Alat ini ditujukan untuk penggunaan diagnostik *in vitro* yang memiliki teknologi *multi-wavelength detector* untuk transmisi cahaya pada panjang gelombang 340, 405, 575, 660 dan 800 nm dengan 5 filter. Cahaya yang telah dipecah diarahkan menyingari kuvet yang berisi sampel dan reagen. Cahaya yang telah ditransmisikan melalui sampel ini diubah menjadi sinyal listrik yang diproses oleh komputer mikro untuk menemukan waktu pembekuan berdasarkan perubahan absorbansi cahaya (dOD/menit). *Multi-wavelength detector* memungkinkan pengukuran

transmisi cahaya pada seluruh proses pembentukan bekuan, menampilkan tanda-tanda pembekuan yang lengkap, sehingga diperoleh informasi pengujian yang jauh lebih rinci (Sysmex Corporation, 2020; Siemens Healthineers, 2021).



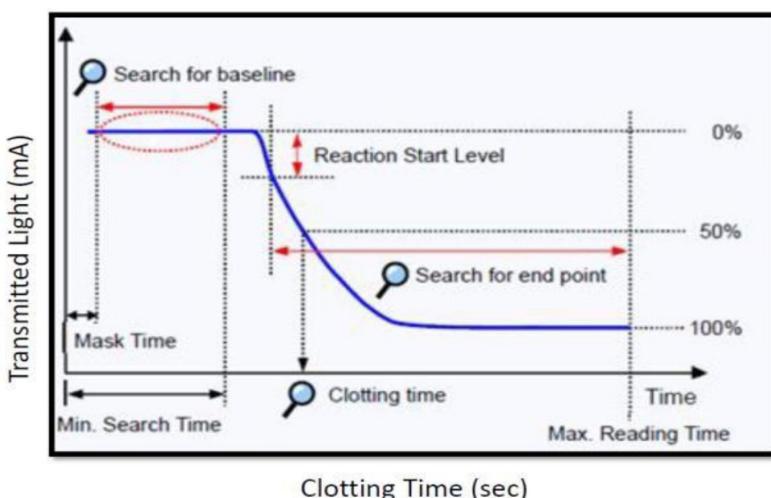
Gambar 3. Teknologi *multi-wavelength detector*⁸

Metode pembekuan menentukan waktu pembekuan menggunakan metode deteksi persentase. Metode persentase menggambarkan tingkat pembekuan dengan kurva reaksi/*reaction curve* yaitu antara waktu pembekuan dalam satuan detik (sumbu X) dan transmisi cahaya dalam satuan mA (sumbu Y)^{6,7}.

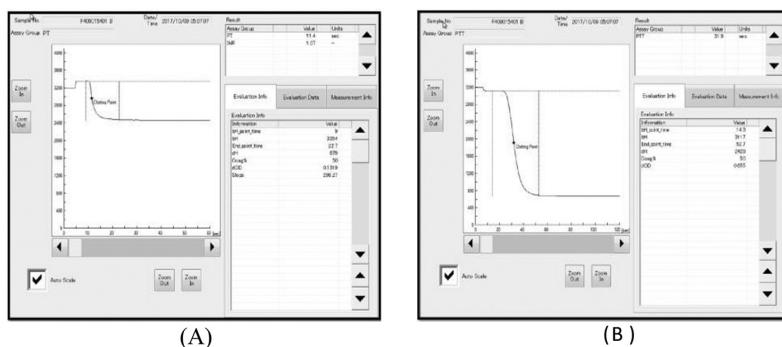
Pada kurva reaksi ini terdapat:

- Titik dasar (0%) didefinisikan sebagai titik dari awal *mask time* yang telah ditentukan, hingga sebelum titik awal pembekuan dimulai.

- Titik pembekukan (50%) didefinisikan sebagai titik dimana waktu pembekuan (hasil) ditentukan, yaitu ketika cahaya yang ditransmisikan berubah karena pembentukan bekuan aktif. Ini dapat diatur antara 0% (titik dasar) dan 100% (titik akhir), sebagian besar pengujian menggunakan 50%.
- Titik akhir (100%) didefinisikan sebagai titik ketika pembekuan berakhir dan setelah pembekuan selesai hingga waktu pengukuran maksimum terpenuhi.^{6,7}



Gambar 4. Pengaturan Kurva Reaksi/*Reaction Curve*⁷



Gambar 5. Contoh Kurva Reaksi Normal⁷

(A) PT normal yaitu 11,4 detik (B) PTT normal yaitu 31,9 detik

1.2.3 Chromogenic End-Point Detection

Metode *chromogenic* menggunakan substrat sintetik peptida kecil terkonjugasi dengan *chromophore* biasanya menggunakan *para-nitroaniline* (*pNA*). Analisis kromogenik adalah mengukur aktivitas faktor koagulasi spesifik dengan menggunakan sifat faktor enzimatik (protease). Faktor hemostasis mengubah substrat kromogenik pada lokasi pengikatan oligopeptida dengan *pNA*, sehingga *pNA* menjadi bebas dan memberikan warna kuning. *Optical density* dari larutan proporsional dengan aktivitas protease yang diukur dengan fotodetektor pada 405 nm. Metode *chromogenic* dapat dibedakan menjadi *direct chromogenic assay* pada pemeriksaan protein C dan *indirect chromogenic assay* pada pemeriksaan kuantitasi heparin.¹

1.2.4 *Immunologic Light Absorbance End-Point Detection*

Merupakan metode terbaru untuk pemeriksaan hemostasis rutin, berdasarkan reaksi antigen-antibodi. Mikropartikel lateks dilapisi dengan antibodi terhadap analit (antigen) tertentu. Sinar monokromatik melewati suspensi mikropartikel lateks. Ketika panjang gelombang lebih besar daripada diameter partikel, hanya sejumlah kecil sinar yang diserap. Ketika mikropartikel lateks kontak dengan antigen dan melekat dengan antibodi, akan terbentuk jembatan yang menyebabkan aglutinasi partikel. Ketika diameter aglutinat meningkat dibandingkan dengan panjang gelombang sinar monokromatik, maka sinar akan diabsorpsi. Peningkatan absorbansi sinar proporsional dengan ukuran aglutinat, yang proporsional juga dengan kadar antigen. Metode ini digunakan untuk pengukuran d-dimer, dan dapat dilakukan dengan cepat pada alat otomatis.¹

1.3 KELEBIHAN DAN KEKURANGAN BERBAGAI METODE ALAT HEMOSTASIS

Hasil pemeriksaan hemostasis dipengaruhi oleh kemampuan operator dalam melakukan pemeriksaan dan memberikan interpretasi hasil pemeriksaan. Beberapa hal mendasar terkait teknis pemeriksaan harus dipertimbangkan dalam menjaga kualitas hasil pemeriksaan. Tabel 1.

menjelaskan kelebihan dan kekurangan berbagai metode alat hemostasis.

Tabel 1. Kelebihan dan kekurangan berbagai metode alat hemostasis¹

Metode	Kelebihan	Kekurangan
<i>Mechanical</i>	<ul style="list-style-type: none">• tidak dipengaruhi spesimen yang lipemik atau ikterik• menggunakan volume spesimen dan reagen yang kecil hingga 25 µL pada beberapa alat• mampu mendeteksi bekuan yang lemah (plasma dengan kadar fibrinogen lemah atau defisiensi faktor XIII dengan bekuan tidak stabil)	<ul style="list-style-type: none">• Ketergantungan pada integritas seluruh kaskade koagulasi• ketidakmampuan mengobservasi grafik pembentukan bekuan

<i>Photo-optical</i>	<ul style="list-style-type: none">• Presisi baik• Fleksibilitas meningkatkan menu pemeriksaan dan informasi kualitas sampel ketika menggunakan panjang gelombang multipel• kemampuan mengobservasi grafik pembentukan bekuan pada beberapa alat	<ul style="list-style-type: none">• dipengaruhi spesimen yang lipemik, hemolisis, ikterik dan peningkatan plasma protein, menyebabkan pemanjangan palsu waktu pembekuan. Namun beberapa alat sudah mengatasi dengan penggunaan panjang gelombang multipel• Mungkin tidak mendeteksi waktu pembekuan yang singkat karena fase jeda yang panjang• Mungkin tidak mendeteksi bekuan kecil yang mudah pecah yang tembus cahaya
----------------------	---	---

Chromogenic	<ul style="list-style-type: none">• Kemampuan mengukur protein yang tidak membeku• Lebih spesifik daripada <i>clot-based assays</i>• Terdapat menu pilihan parameter yang lebih luas, untuk menggantikan pemeriksaan yang dipengaruhi faktor preanalitik, misal heparin, inhibitor thrombin (argatroban, dabigatran) atau inhibitor faktor Xa (rivaroxaban)• Kebanyakan alat otomatis saat ini memiliki kemampuan <i>chromogenic</i> yang <i>cost-effective</i>	<ul style="list-style-type: none">• kemampuan panjang gelombang yang terbatas pada beberapa instrumen• memerlukan volume pemeriksaan yang besar agar bisa <i>cost effective</i>
-------------	--	--

<i>Immunologic</i>	<ul style="list-style-type: none"> • kemampuan otomatisasi pemeriksaan, yang sebelumnya dikerjakan manual dan memerlukan waktu lama seperti ELISA • kemampuan untuk penambahan menu pemeriksaan 	<ul style="list-style-type: none"> • ketersediaan parameter pemeriksaan yang otomatis terbatas • biaya alat dan reagen mahal • memerlukan tambahan alat untuk mengerjakan pemeriksaan rutin bila alat hemostasis tanpa kemampuan akses random
--------------------	---	--

Alat hemostasis ada yang manual, semiotomatis atau otomatis. Pada alat manual dan semiotomatis memerlukan operator untuk pemipetan manual sampel plasma dan reagen pada *cuvette* reaksi sehingga membatasi jumlah pemeriksaan yang mampu dikerjakan. Penginputan hasil dan kalkulasi juga harus dilakukan manual. Penggunaan alat manual dan semiotomatis memerlukan waktu dan keahlian operator, namun alat relatif murah dan bermanfaat pada laboratorium dengan jumlah pemeriksaan yang masih relatif sedikit atau untuk laboratorium penelitian.¹

Tabel 2. Level otomatisasi alat koagulasi¹

Level	Deskripsi	Contoh alat
Manual	<ul style="list-style-type: none">• semua reagen dan spesimen ditransfer manual oleh operator• Temperatur dipertahankan dengan <i>water bath</i> atau <i>heat block</i>• Pengukuran eksternal oleh operator mungkin diperlukan• <i>End-point</i> ditentukan visual oleh operator• Waktu memulai <i>timer</i> dan penghentian <i>timer</i> dilakukan oleh operator	<ul style="list-style-type: none">• <i>Tilt tube</i>• <i>Wire loop</i>
Semi otomatis	<ul style="list-style-type: none">• semua reagen dan spesimen ditransfer manual oleh operator• Instrumen biasanya dilengkapi dengan alat untuk menjaga temperatur 37°C• Alat secara internal memantau suhu• Alat memiliki mekanisme untuk memulai waktu secara otomatis saat penambahan reagen dan mekanisme untuk mendeteksi pembentukan bekuan dan menghentikan <i>timer</i>	<ul style="list-style-type: none">• Fibrometer• <i>Start 4</i>• <i>Cascade M</i> dan M-4• BTF-II• KC1 dan KC4

Otomatis	<ul style="list-style-type: none">• Semua reagen dipipet otomatis oleh alat• Spesimen bisa dipipet otomatis oleh alat maupun tidak• Instrumen dilengkapi alat pemantau dan mekanisme internal untuk menjaga suhu 37°C selama pemeriksaan• Timer dimulai otomatis dan pembentukan bekuan dideteksi secara otomatis.	<ul style="list-style-type: none">• ACL TOP• STA-R <i>evolution</i>• STA <i>Compact</i> dan <i>Compact CT</i>• Sysmex <i>CA-series</i>• BCS XP• CoaLAB
----------	---	---

Alat otomatis memungkinkan operator mengerjakan berbagai alat laboratorium karena seluruh spesimen dan reagen dikerjakan oleh alat tanpa intervensi operator. Spesimen multipel dapat dikerjakan secara simultan. Namun alat otomatis cukup mahal dan diperlukan pelatihan khusus untuk mengoperasikan dan pemeliharaan alat.¹

Alat otomatis dan semiotomatis memberikan akurasi dan presisi yang lebih baik daripada manual. Dengan otomatisasi, koefisien variasi yang secara umum pada alat manual melebihi 20% dapat diturunkan hingga 5% bahkan sampai kurang dari 1% pada beberapa parameter. Pemeriksaan duplikasi tidak diperlukan lagi, sehingga dapat memberikan efisiensi terhadap bahan dan reagen. Berbagai metode alat

dapat digunakan dalam satu *platform* alat baik itu *clot-based*, *chromogenic* maupun *immunologic*. Pada alat otomatis juga memiliki kemampuan *random access testing*, dimana dengan pemrograman sederhana, berbagai parameter pemeriksaan dapat dikerjakan pada satu atau lebih spesimen, sehingga meningkatkan *turnaround times*, mengurangi risiko *error* dan mengurangi biaya tenaga kerja.¹

Penggunaan alat otomatis dan semiotomatis saat ini memerlukan volume spesimen lebih sedikit. Secara tradisional, PT memerlukan 100 µL plasma dan 200 µL reagen *thromboplastin/calcium chloride*. PTT memerlukan 100 µL plasma, 100 µL *activated partial thromboplastin* dan 100 µL *calcium chloride*. Namun saat ini alat terbaru hanya memerlukan setengah hingga seperempat volume reagen dan spesimen, sehingga dapat membantu pada pasien pediatri dan mengurangi biaya reagen.¹

Beberapa alat otomatis juga menyimpan nomor lot reagen dan *expiration dates*, sehingga memudahkan laboratorium untuk mempertahankan integritas reagen dan mematuhi persyaratan regulasi. Juga adanya *flagging system* terhadap volume reagen bila terjadi kekurangan reagen terhadap jumlah spesimen yang telah diprogram untuk dikerjakan.¹

Open reagent system juga menjadi pertimbangan penting dalam pemilihan alat. dengan kemampuan performa yang

optimal terhadap berbagai reagen koagulasi dari beberapa pabrikan dan reagen tersebut kompatibel dengan metodologi instrumen.¹

Selain itu beberapa alat mampu menerima tabung sampel primer setelah sentrifugasi, sehingga tidak memerlukan proses *aliquoting* ke tabung sekunder, yang memberikan efisiensi waktu signifikan dengan mengurangi langkah preparasi spesimen dan risiko *error* akibat *mislabeled* tabung *aliquot*. Selain itu dengan teknologi *closed-tube sampling* dimana setelah sentrifugasi, operator langsung meletakkan sampel tanpa membuka tutup tabung, dan alat akan melakukan aspirasi plasma menggunakan jarum *probe* dari alat yang dilengkapi sensor untuk mengenali adanya cairan dan berhenti pada level cairan optimal yaitu antara 4 – 250 µL, tanpa mengganggu bagian eritrosit. Selain efisiensi waktu juga mengurangi risiko petugas terpapar aerosol atau tumpahan spesimen dan menjaga stabilitas pH plasma. Pada kondisi tertentu perlu diperhatikan adanya benang fibrin secara visual, misal pada hasil pemeriksaan yang memendek atau abnormal perlu dilakukan pemeriksaan untuk melihat adanya bekuan pada sampel.¹

Beberapa instrumen juga dilengkapi dengan fitur program pengenceran multipel terhadap spesimen pasien, kalibrator atau kontrol, sehingga mengurangi penggeraan manual dan kesalahan pengenceran. Juga terdapat penyimpanan data

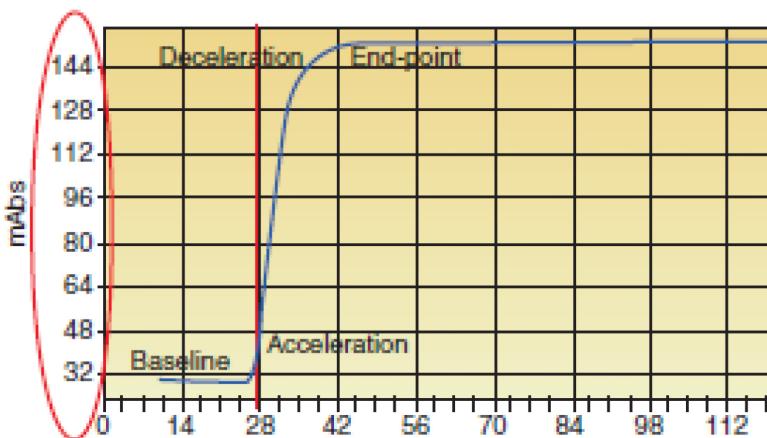
internal terhadap hasil spesimen, kurva kalibrasi dan hasil kontrol mutu. Aturan Westgard juga dapat diterapkan dan bila terjadi kegagalan secara otomatis akan memberikan *flagging* dan secara otomatis mengulang pemeriksaan. Penambahan *Laboratory Information System (LIS)* dan kemampuan *bar coding* spesimen juga menjadi prioritas penting untuk mengurangi risiko kesalahan post analitik dan memudahkan dalam pengarsipan hasil dibandingkan dengan melakukan pencatatan manual.¹

Fitur yang ditambahkan pada alat otomatis untuk meningkatkan performa alat yaitu:

1. *Flagging*, yang memberikan peringatan untuk operator bila terdapat hal-hal yang melewati kriteria yang telah ditetapkan. *Flagging* dapat berupa peringatan saat terjadi malfungsi alat (misal *temperature error*, *photo-optics error*, *mechanical movement error*, *probe not aspirating*) atau *flagging* terhadap kualitas sampel (lipemia, hemolis, ikterus, bekuan abnormal, *no endpoint detected*).
2. *Reflex testing* adalah melakukan order parameter pemeriksaan secara otomatis berdasarkan preset parameter atau hasil tes sebelumnya. Instrumen dapat membuat pengenceran tambahan jika hasil awal berada di

luar batas linearitas, atau tes tambahan dapat dijalankan secara otomatis jika diindikasikan secara klinis oleh hasil tes awal. Hasil pertama tidak perlu menunggu *review* operator sebelum dilakukan tindak lanjut oleh instrumen.

3. Kinetik pembentukan bekuan, dapat tersedia pada beberapa instrumen seperti ACL TOP dari *Instrumentation Laboratory*¹



Gambar 6. Grafik pembentukan bekuan alat ACL TOP¹

Ketika fibrinogen berubah menjadi fibrin dan bekuan padat, perubahan transmisi cahaya melalui spesimen dicatat. Kurva bekuan terdiri dari *baseline*, *acceleration phase*, *deceleration phase*, dan *end point*. *Baseline* dicatat sebelum pembekuan terjadi. *Acceleration phase* mencerminkan

pembekuan dan pada keadaan normal dengan kurva curam karena terjadi pembekuan cepat. *Deceleration phase* mewakili penurunan laju pembentukan bekuan karena semua fibrinogen yang tersedia berubah menjadi fibrin. *End point* dengan garis kurva datar dan stabil, mencerminkan konsumsi semua fibrinogen. Komponen utama dalam mengevaluasi bekuan adalah sumbu y, absorbansi, yang menyatakan interval waktu pada titik minimum yang ditentukan yang mengidentifikasi bahwa bekuan telah terbentuk. Penyesuaian absorbansi untuk mengkompensasi kadar fibrinogen awal dan interferensi akibat lipemia atau ikterus.¹

Tabel 3. Fitur khusus pada alat hemostasis ¹

Fitur alat	Keterangan
<i>Random access</i>	Berbagai pemeriksaan dapat dilakukan pada spesimen tunggal atau multipel pada setiap permintaan yang ditentukan operator
<i>Primary tube sampling</i>	Plasma langsung diaspirasi oleh alat dari tabung primer yang sudah disentrifugasi (terbuka atau masih tertutup)
<i>Cap piercing</i>	Alat melakukan aspirasi plasma dari tabung primer tertutup yang sudah disentrifugasi
<i>Bar coding</i>	Reagen dan spesimen diidentifikasi dengan <i>bar code</i> , mengurangi memasukkan informasi dengan cara manual

<i>Bidirectional LIS interface</i>	Alat mendapatkan informasi pemeriksaan yang diorder melalui komputer LIS dan hasil pemeriksaan dikirim kembali melalui LIS setelah verifikasi
<i>Specimen and instrument flagging</i>	Peringatan otomatis mengindikasikan adanya masalah pada integritas sampel atau malfungsi alat
<i>Liquid level sensing</i>	Operator diperingatkan ketika spesimen atau volume reagen tidak memadai. Peringatan juga diberikan saat instrumen gagal untuk mengasppirasi volume spesimen yang dibutuhkan. Volume diverifikasi setiap kali spesimen atau reagen diaspirasi
<i>On-board quality control</i>	Instrumen menyimpan dan mengatur data <i>quality control (QC)</i> termasuk penerapan aturan Westgard untuk hasil yang tidak memenuhi aturan yang ditetapkan, instrumen dapat mengirimkan data QC ke LIS
<i>Stat capabilities</i>	Operator dapat menginterupsi urutan pengujian untuk menempatkan spesimen khusus/ <i>cito/stat</i> di urutan pemeriksaan berikutnya
<i>On-board refrigeration of specimens and reagents</i>	Pendingin mempertahankan integritas spesimen dan reagen selama pemeriksaan dan memungkinkan reagen disimpan di alat untuk waktu yang lama, sehingga mengurangi waktu penyetelan untuk pemeriksaan yang lebih jarang dilakukan

<i>On-board specimen storage capacity</i>	Menunjukkan jumlah spesimen yang dapat disimpan pada suatu waktu
<i>Reflex testing</i>	Alat dapat diprogram untuk melakukan pemeriksaan berulang atau pemeriksaan tambahan dalam keadaan yang ditentukan operator
<i>Patient data storage</i>	Hasil pemeriksaan dapat disimpan untuk arsip mendatang termasuk grafik pembentukan bekuan
<i>Throughput</i>	Jumlah pemeriksaan yang dapat diproses dalam interval tertentu, biasanya jumlah pemeriksaan per jam; tergantung pada parameter pemeriksaan dan metodologi
<i>Total testing (dwell) time</i>	Lamanya waktu dari penempatan spesimen di alat hingga pemeriksaan selesai tergantung pada jenis dan kompleksitas prosedur.
<i>Graph of clot formation</i>	Operator dapat memvisualisasikan bagaimana bekuan terbentuk dari waktu ke waktu

Pemilihan alat hemostasis perlu mempertimbangkan *cost effectiveness*, kemampuan pemeriksaan dan standarisasi alat. Bila jumlah pemeriksaan semakin meningkat, maka laboratorium harus mempertimbangkan untuk melakukan pemeriksaan tersebut di laboratorium. Identifikasi kebutuhan pemeriksaan laboratorium berdasarkan populasi pasien harus menjadi langkah pertama dalam proses pengembangan pemeriksaan dan sebaiknya didiskusikan dengan klinisi yang

memerlukan pemeriksaan tersebut. Setelah mendapatkan masukan dari para klinisi, laboratorium dapat menentukan ketersediaan alat dan biaya instrumen. Pemilihan instrumen juga harus disesuaikan dengan beban kerja. Tidak mutlak harus membeli alat yang sangat canggih dengan kemampuan jumlah pemeriksaan yang besar bila jumlah permintaan di laboratorium masih sangat sedikit. Melakukan rujukan ke *reference laboratory* dapat menjadi pilihan yang lebih bijak.

Terdapat beberapa kriteria untuk pemilihan alat hemostasis:

1. Harga/biaya alat
2. Biaya bahan habis pakai
3. Waktu penyedia alat memberikan respon terhadap servis kerusakan alat
4. Reliabilitas
5. Persyaratan perawatan dan waktu perawatan
6. Kemudahan digunakan oleh operator
7. Luasnya menu pemeriksaan
8. Kemampuan untuk menambahkan protokol pemeriksaan baru
9. Variasi *lot* ke *lot* reagen
10. *Throughput* untuk volume pemeriksaan yang banyak
11. Kemampuan *interfacing* dengan LIS
12. *Footprint* (ruang yang ditempati instrumen; model *benchtop* atau lantai)

13. Persyaratan khusus (air, listrik, pembuangan limbah)
14. Fleksibilitas dalam menggunakan reagen dari produsen lain
15. Ketersediaan program pelatihan dan dukungan pelatihan lanjutan

1.4 PEMERIKSAAN HEMOSTASIS *POINT OF CARE (POC)*

Alat POC adalah perangkat genggam yang memungkinkan pemeriksaan dekat pasien selama prosedur klinis atau operasi, *bedside testing* untuk pasien rawat inap, dan *self-testing* untuk pasien rawat jalan. Volume spesimen yang kecil merupakan keuntungan untuk pemeriksaan pada bayi. Selain itu hasil yang cepat dan volume spesimen kecil memberikan kenyamanan untuk dokter dan pasien.^{2,4}

Tabel 4. Alat POC untuk pemeriksaan koagulasi^{2,4}

Instrumen	Vendor	Metode
<i>i-Stat</i>	<i>Abbott</i>	<i>Amperometry</i>
<i>Actalyte Mini II</i>	<i>Helena</i>	<i>Magnet rotation</i>
<i>Actalyke XL</i>	<i>Helena</i>	<i>Magnet rotation</i>
<i>Cascade POC</i>	<i>Helena</i>	<i>Photomechanical</i>
<i>GEM PCL plus</i>	<i>Instrumentation Laboratory</i>	<i>Fluid movement</i>
<i>Hemochron response</i>	<i>ITC</i>	<i>Magnet displacement</i>

<i>Hemochron signature+</i>	<i>ITC</i>	<i>Fluid movement</i>
<i>Hemochron signature elite</i>	<i>ITC</i>	<i>Fluid movement</i>
<i>ACT plus</i>	<i>Medtronic</i>	<i>Plunger motion</i>
<i>HMS plus</i>	<i>Medtronic</i>	<i>Plunger motion</i>

DAFTAR PUSTAKA

1. Hoppensteadt, DA., Molnar, JA. Hemostasis and Coagulation Instrumentation. 2019. In Rodaks Hematology Clinical Principles and Applications. Sixth Edition. p. 793-812.
2. Lehman, CM. Instrumentation for the Coagulation Laboratory. In Laboratory Hemostasis a Practical Guide for Pathologists. Second Edition. Springer International Publishing. Switzerland. p. 33 – 43.
3. McGlasson,D., Estelle,S., Wiseman,CH. Hemostasis: Laboratory Testing and Instrumentation. p. 782 – 793.
4. Aria, MM., Ertent, A., Yalcin,O. Technology advancements in blood coagulation measurements for Point-of-Care Diagnostic Testing. Frontiers Bioengineering and Biotechnology 2019;7(395):1-18.
5. Concise book of medical laboratory technology. 2nd Edition. p.306 – 313
6. Siemens Healthineers. (2021). Sysmex® CS-2500 System Operator Training Workbook.
7. Siemens Healthineers. (2022). Sysmex® CS System Coagulation Curve Errors Virtual Training Workbook.
8. Sysmex Corporation. (2020). Automated Blood Coagulation Analyzer CS-2400/CS-2500 Instructions for Use

BAB II

FLAGGING PADA ALAT HEMOSTASIS

Hemostasis adalah mekanisme fisiologi kompleks yang bertujuan untuk mencegah dan menghentikan pendarahan. Fungsi utamanya adalah mengubah darah dari cair menjadi gel melalui proses pembekuan, yang memungkinkan penutupan atau penyumbatan luka hingga jaringan sembuh. Mekanisme hemostasis dapat dibagi menjadi beberapa tahap, yaitu vasokonstriksi atau penyempitan pembuluh darah, pembentukan “sumbatan trombosit/platelet plug”, aktivasi kaskade koagulasi, serta pembentukan benang fibrin (LaPelusa & Dave, 2024).

Pemeriksaan laboratorium menjadi semakin menonjol dalam pengobatan modern, dimana secara umum diterima bahwa sekitar 70% dari semua keputusan medis didasarkan pada hasil laboratorium (Woolley dkk., 2016). Pemeriksaan hemostasis adalah serangkaian pemeriksaan laboratorium yang digunakan untuk mengevaluasi kemampuan tubuh dalam membentuk bekuan darah dan menghentikan pendarahan. Tes ini penting untuk mendiagnosis dan menangani berbagai gangguan perdarahan dan pembekuan darah. Pemeriksaan penyaring hemostasis menilai beberapa aspek utama meliputi:

Prothrombin Time (PT), Activated Partial Thromboplastin Time (aPTT), Thrombin Time (TT), Bleeding Time (BT). *Prothrombin Time* menilai waktu pembekuan darah di jalur ekstrinsik (*extrinsic pathway*) dan jalur bersama (*common pathway*), sedangkan aPTT menilai waktu pembekuan darah di jalur instrinsik (*intrinsic pathway*)³⁻⁵.

Penggunaan alat analitik modern saat ini sangat membantu dalam pemeriksaan laboratorium dengan hasil yang akurat. Pemantapan mutu internal dan eksternal yang dilakukan dengan baik diharapkan dapat mengurangi kesalahan hasil pemeriksaan (Adiyanti, 2015). Pemeriksaan sampel di laboratorium, termasuk pemeriksaan hemostasis melewati tiga tahapan yang sangat penting dan berperan dalam menentukan mutu pemeriksaan, yaitu preanalitik, analitik dan pasca-analitik. Permasalahan yang timbul dalam tahap analitik untuk pemeriksaan PT dan aPTT dapat disebabkan oleh teknik penggerjaan yang tidak tepat serta beberapa faktor seperti suhu, reagen dan pemilihan alat.^{2,4}

Flagging atau penandaan didefinisikan sebagai suatu sistem pensinyalan atau komunikasi untuk menyampaikan pesan terkait hasil pemeriksaan yang dicurigai atau menunjukkan adanya kesalahan atau abnormal. Setiap “flag” atau tanda ini menunjukkan hasil pemeriksaan mungkin tidak dapat diandalkan dan belum dapat dimasukkan dalam

pelaporan medis. Sehingga dengan adanya *flagging*, klinisi dapat mengkonfirmasi kembali analisis yang telah dilakukan sesuai dengan protokol laboratorium untuk menjamin keamanan akurasi hasil. Interpretasi yang baik terhadap *flagging* pada alat *analyzer* merupakan informasi yang berharga untuk membantu mempersempit diagnosis banding sebelum dilakukan pemeriksaan lainnya untuk menegakkan diagnosis.⁶

Alat penganalisa koagulasi sysmex CS-2500 memiliki beberapa tanda atau *flag* dari hasil pemeriksaan pembekuan yang muncul pada kurva reaksi. *Flagging* ini menunjukkan hasil yang tidak sesuai dengan interval atau pengaturan normal, sehingga diperlukan adanya tindakan konfirmasi lebih lanjut.⁸

Adapun beberapa *clot flagging* tersebut meliputi:

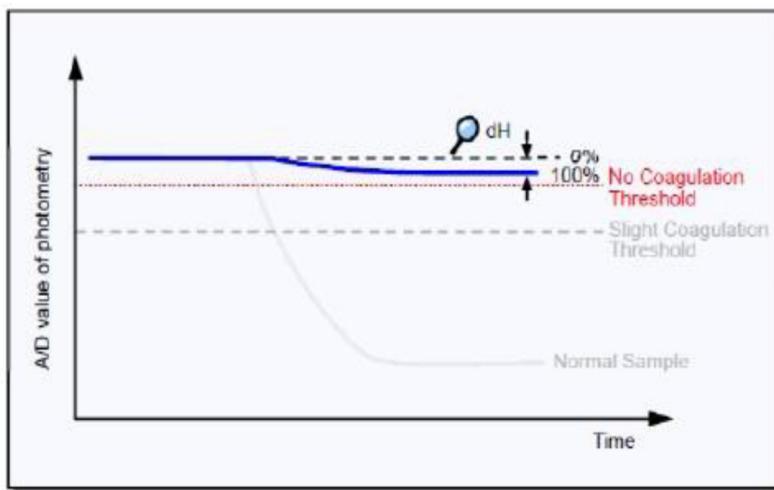
Tabel 5. *Flagging* pada Kurva Reaksi Sysmex CS-2500^{7,8}

Tanda atau flag	Penyebab
<i>No coagulation</i>	Tidak ada reaksi koagulasi
<i>Slight coagulation</i>	Reaksi koagulasi lemah
<i>Analysis Time Over</i>	Waktu analisis pembekuan memanjang

<i>Early Reaction Error</i>	Kurva reaksi pembekuan abnormal pada: - <i>Slow reaction</i> - <i>Start angle 1</i> - <i>Start angle 2</i> - <i>Early %</i> - <i>Drift</i>
<i>Coagulation Curve Error</i>	Kurva reaksi pembekuan abnormal pada: - <i>Stepping curve</i> - <i>Sharp drop</i> - <i>Terrace</i> - <i>Jump Up</i> - <i>Fibrinogen Curve Error</i>
<i>Flat Curve</i>	Kemiringan kurva koagulasi terlalu datar
<i>Trans Light High</i>	Kurva reaksi pengukuran berada pada nilai ambang batas atau diatasnya
<i>Range Over</i>	Waktu pembekuan lebih pendek dari nilai minimum
<i>Turbidity Level Over</i>	Sampel terlalu keruh

2.1 *No coagulation*

Tidak ada koagulasi atau koagulasi lemah yang terdeteksi. Karena kemungkinan konsentrasi fibrinogen yang rendah, adanya antikoagulan, atau masalah reagen.^{7,8}



Gambar 7. Flag Kurva Reaksi No Coagulation⁸

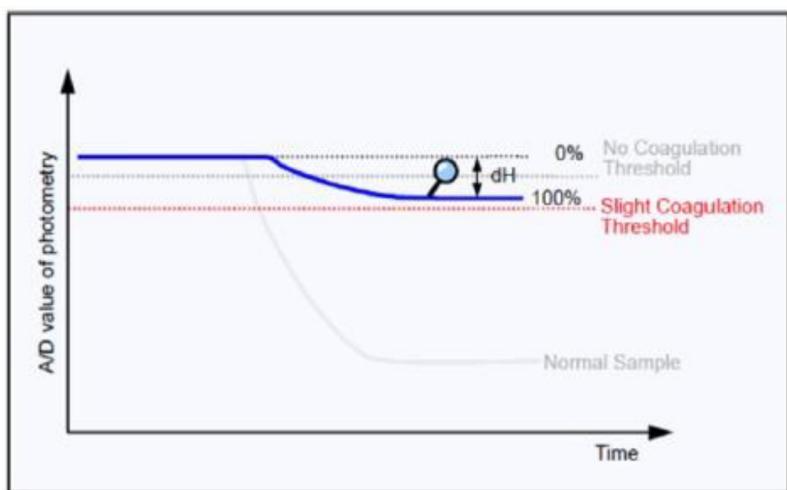
Tindak lanjut yang harus dilakukan:

1. Periksa sampel untuk kemungkinan kontaminasi antikoagulan, hemolisis, lipemia.
2. Verifikasi pengiriman sampel dan reagen.
3. Analisis ulang dengan waktu yang lebih lama. Untuk fibrinogen, ubah rasio pengenceran dan analisis ulang.
4. Jika analisis ulang dengan perpanjangan waktu pengukuran kembali memberikan pesan “No coagulation”, maka sampel berada di bawah batas deteksi detektor. Buatlah penilaian yang komprehensif, dengan mempertimbangkan sampel dan reagen. Jika hasilnya sesuai, akal hal ini dapat dilaporkan sebagai “lebih besar

dari” sesuai dengan kebijakan laboratorium.^{7,8}

2.2 Slight Coagulation

Reaksi koagulasi yang sangat lemah. Hal ini mungkin disebabkan oleh konsentrasi fibrinogen yang rendah, defisiensi faktor koagulasi, atau inhibitor dan kemungkinan ada masalah dengan reagen.^{7,8}



Gambar 8. Flag Kurva Reaksi Slight Coagulation⁸

Tindak lanjut yang harus dilakukan:

1. Periksa sampel untuk kemungkinan kontaminasi antikoagulan, hemolis, lipemia.
2. Verifikasi pengiriman sampel dan reagen.
3. Tinjau data analisis pembentukan bekuan seperti

fibrinogen yang sangat rendah, defisiensi faktor, atau adanya inhibitor.

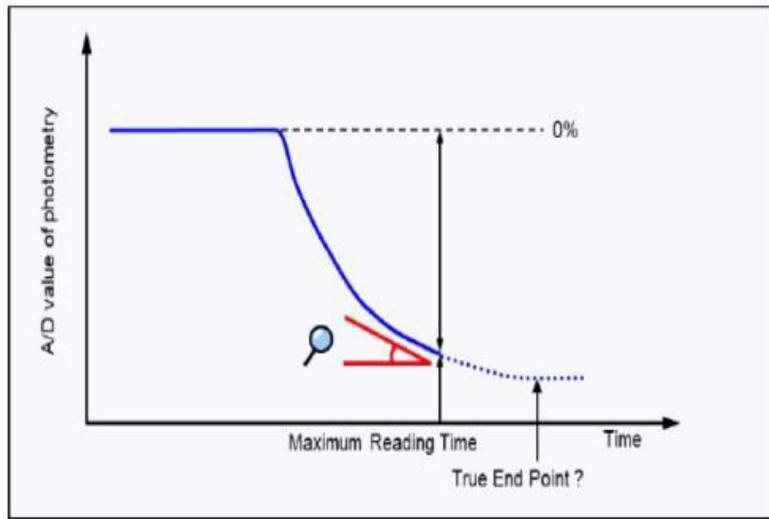
4. Analisis ulang sampel. Jika analisis ulang sampel menghasilkan nilai numerik tanpa tanda bintang (*), hasilnya dapat dilaporkan. Saat menganalisis ulang fibrinogen, ubah rasio pengenceran dan analisis ulang. Jika nilai yang ditentukan pada 50% lebih besar dari kisaran yang dapat dilaporkan, laporkan sesuai kebijakan laboratorium.
5. Jika terjadi sedikit koagulasi lagi, evaluasi kurva kinetik dan nilai pada titik deteksi koagulasi 50%. Jika kurva dapat diterima dan hasil pengulangan serta hasil awal setara pada titik deteksi koagulasi 50%, rata-rata kedua hasil tersebut dapat dilaporkan sebagaimana ditentukan oleh kebijakan laboratorium.^{7,8}

2.3 *Analysis Time Over*

Kurva reaksi tidak mencapai titik akhir sebelum waktu pengukuran tercapai. Waktu pembekuan yang lama mungkin disebabkan oleh aktivitas koagulasi yang rendah, konsentrasi fibrinogen yang rendah, terapi antikoagulasi, atau zat pengganggu.^{7,8}

Tindak lanjut yang harus dilakukan:

1. Periksa sampel untuk kemungkinan kontaminasi



Gambar 9. Flag Kurva Reaksi Analysis Time Over⁸

antikoagulan, hemolisis, lipemia.

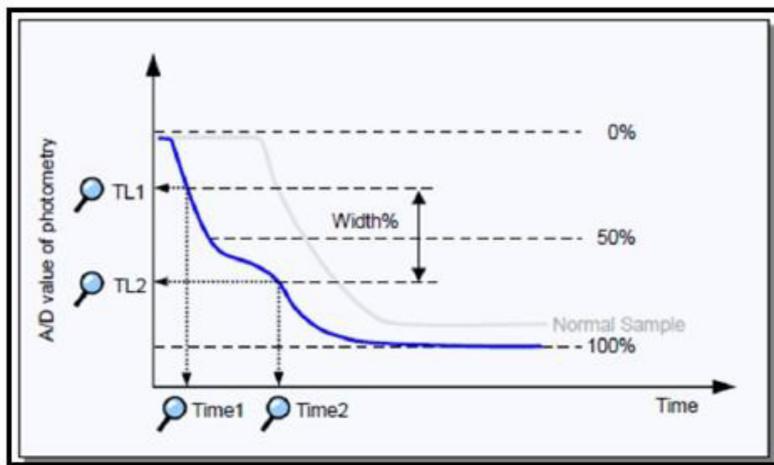
2. Verifikasi pengiriman sampel dan reagen.
3. Analisis ulang dengan waktu yang lebih lama.
4. Jika analisis ulang sampel menghasilkan nilai numerik tanpa tanda bintang (*), maka hasilnya dapat dilaporkan.
5. Jika analisis ulang memberikan pesan “Analysis Time Over” lagi, sampel mungkin tidak mampu membentuk gumpalan yang kuat. Ikuti kebijakan laboratorium.^{7,8}

2.4 Early Reaction Error

Early Reaction Error biasanya terjadi pada analisis PTT. Ada 5 subset untuk kesalahan ini^{7,8}, yaitu:

2.4.1 Slow Reaction

Kemiringan kurva koagulasi di sekitar titik deteksi terlalu rendah (reaksi terlalu datar). Ditujukan untuk mencegah hasil pendek palsu. Reaksi koagulasi yang sangat lambat, dideteksi dengan memeriksa kemiringan reaksi di sekitar titik pembekuan.^{7,8}



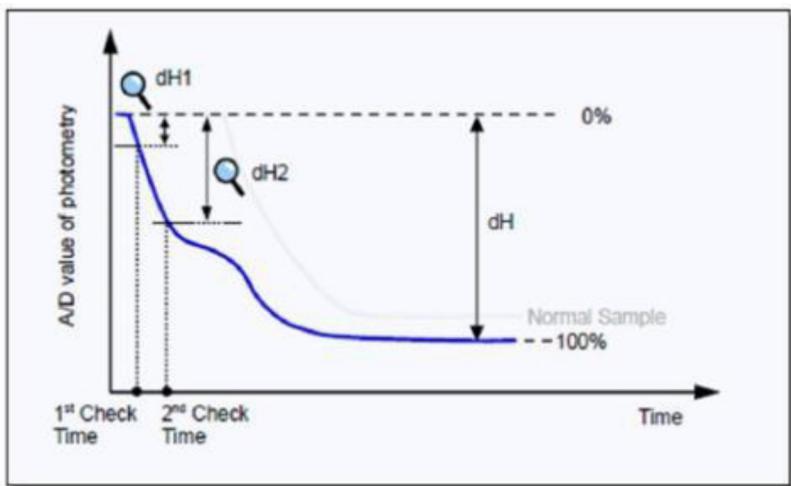
Gambar 10. Flag Kurva Reaksi *Early Reaction Error* subset *Slow Reaction*⁸

Tindak lanjut yang harus dilakukan:

1. Verifikasi integritas sampel dan reagen beserta prosedur perawatannya.
2. Analisis ulang dengan waktu yang lebih lama.
3. Jika kesalahan “*Slow Reaction*” muncul kembali, hal ini mungkin disebabkan oleh artefak pengambilan sampel. Ulangi pengambilan sampel (atau susun kembali botol kontrol yang baru), dan ulangi pengukuran.
4. Jika analisis ulang menghasilkan kesalahan “*Slow Reaction*” kembali, artinya terdeteksi reaksi awal atau lambat yang tidak biasa yang dapat direproduksi dan tampaknya disebabkan oleh kualitas sampel yang digunakan. Alasannya mungkin karena situasi klinis yang tidak biasa, tidak termasuk sampel dari pengukuran koagulasi optik. Ikuti kebijakan laboratorium^{7,8}.

2.4.2 Start Angle 1

Disebabkan oleh artefak. Kurva koagulasi dievaluasi pada waktu yang telah ditentukan (4 detik dan 8 detik). Sudut koagulasi tinggi pada awal kurva dengan dH rendah (bekuan lemah). Kemungkinan hasil salah sangat tinggi^{7,8}.



Gambar 11. Flag Kurva Reaksi Early Reaction Error subset Start Angle I⁸

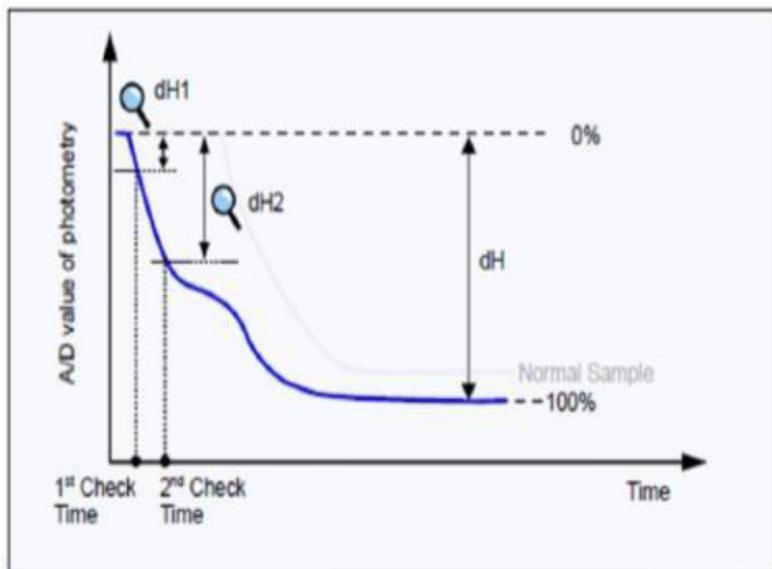
Tindak lanjut yang harus dilakukan:

1. Verifikasi integritas sampel dan reagen.
2. Silakan ulangi pengukurannya.
3. Jika kesalahan “Start Angle I” muncul kembali, hal ini mungkin disebabkan oleh artefak pengambilan sampel. Ulangi pengambilan sampel pasien (atau susun kembali botol kontrol yang baru), dan ulangi pengukuran.
4. Jika analisis ulang menghasilkan kesalahan “Start Angle I” kembali, artinya terdeteksi reaksi awal atau lambat yang tidak biasa yang dapat direproduksi dan tampaknya disebabkan oleh kualitas sampel yang digunakan. Alasannya mungkin karena situasi klinis yang tidak

biasa, tidak termasuk sampel dari pengukuran koagulasi optik. Ikuti kebijakan laboratorium.^{7,8}

2.4.3 Start Angle 2

Disebabkan oleh artefak. Kurva koagulasi dievaluasi pada waktu yang telah ditentukan (4 detik dan 8 detik). Sudut koagulasi tinggi pada awal kurva dengan dH tinggi (bekuan kuat). Kemungkinan hasil salah sedang.^{7,8}



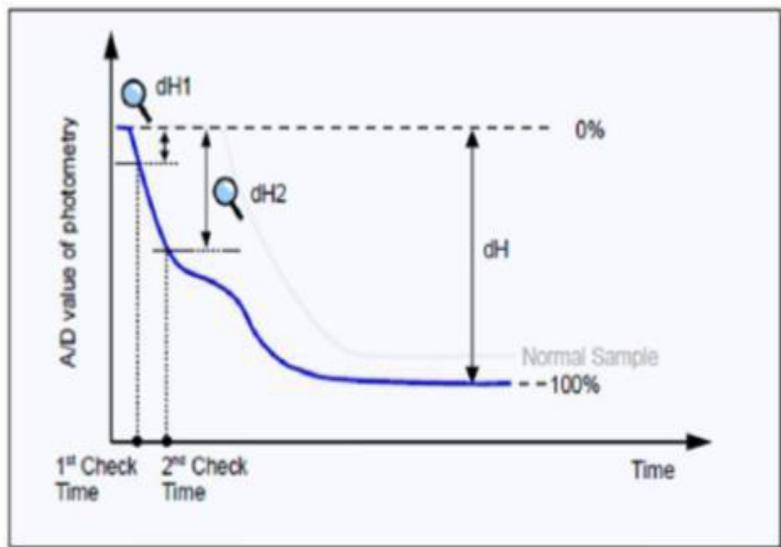
Gambar 12. Flag Kurva Reaksi Early Reaction Error subset Start Angle 2⁸

Tindak lanjut yang harus dilakukan:

1. Verifikasi integritas sampel dan reagen beserta prosedur perawatannya.
2. Periksa data Analisis di layer.
3. Kurva “*Start Angle 2*” ini menunjukkan reaksi awal yang terdeteksi, yang dalam banyak keadaan tidak serta merta membatalkan hasil waktu pembekuan. Periksa apakah waktu koagulasi sesuai dengan kurva yang ditampilkan pada alat analisa koagulasi. Jika cocok, hasil dapat dilaporkan).^{7,8}

2.4.4 Early %

Peningkatan sinyal terdeteksi sejak dini. Kemungkinan pra-aktivasi sampel atau pengumpulan/penanganan sampel yang buruk.^{7,8}



Gambar 13. Flag Kurva Reaksi *Early Reaction Error* subset *Early%*⁸

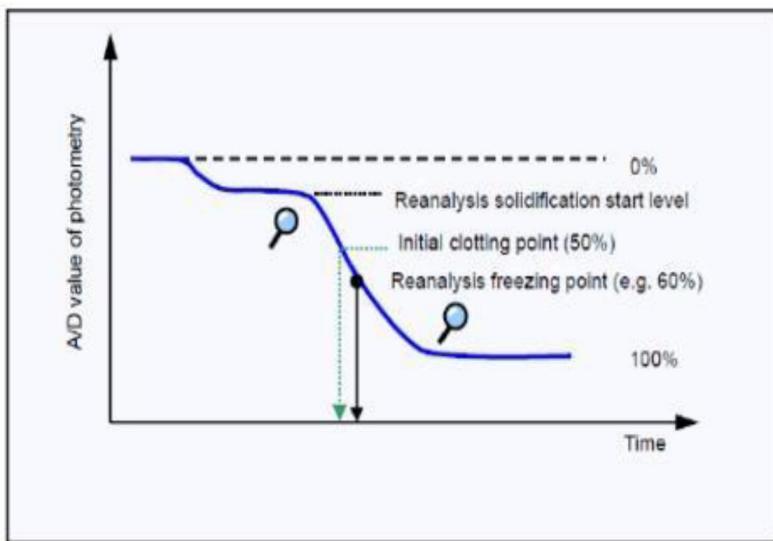
Tindak lanjut yang harus dilakukan:

1. Verifikasi integritas sampel dan reagen beserta prosedur perawatannya.
2. Periksa data evaluasi. Jika nilai 50% adalah <20 detik, sampel menggumpal terlalu cepat, kemungkinan karena variabel pre-analitik. Jika nilai 50% adalah ≥ 20 detik, periksa sampel untuk mengetahui adanya lipemia atau antikoagulan berlebih dan pertimbangkan sentrifugasi dengan durasi dan kecepatan yang lebih lama. Ulangi analisis.
3. Jika hasil pengulangan yang diperoleh sekarang bebas dari kesalahan “*Early %*”, laporkan hasilnya.

4. Jika analisis berulang menghasilkan kesalahan “*Early %*”, artinya terdeteksi reaksi awal atau lambat yang tidak biasa. Hal ini mungkin disebabkan oleh artefak pengambilan sampel. Ikuti kebijakan laboratorium.^{7,8}

2.4.5 Drift

Kurva reaksi bifasik terdeteksi, disebabkan oleh sampel yang buruk, adanya pengumpulan/kontaminasi antikoagulan heparin. Situasi klinis yang tidak biasa.^{7,8}



Gambar 14. Flag Kurva Reaksi *Early Reaction Error subset Drift*⁸

Tindak lanjut yang harus dilakukan:

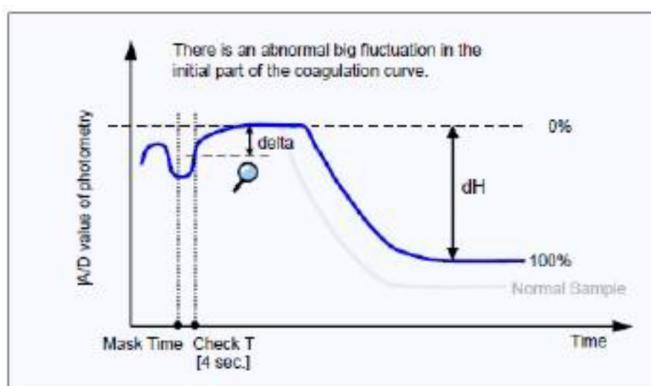
1. Periksa kurva koagulasi (garis dasar, pembekuan, titik akhir).
2. Verifikasi integritas reagen, integritas sampel, riwayat klinis pasien, dan pengiriman instrumen reagen dan sampel.
3. Jika kurvanya dapat diterima, hasilnya dapat dilaporkan sesuai dengan kebijakan laboratorium. ^{7,8}

2.5 Coagulation Curve Error

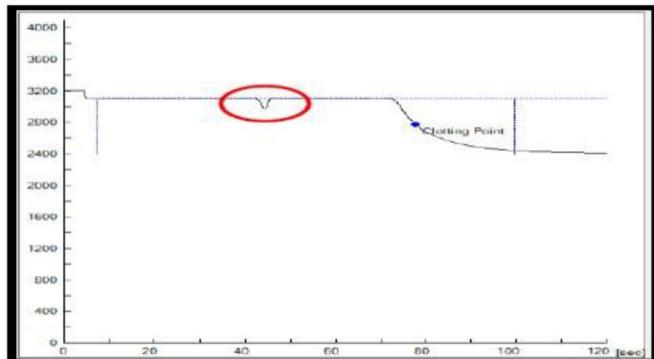
Terjadi ketika ada fluktuasi kurva yang tidak terduga. Penyebab umumnya adalah gelembung udara di kuvet reaksi.^{7,8}

Ada 5 subset untuk kesalahan ini, yaitu:

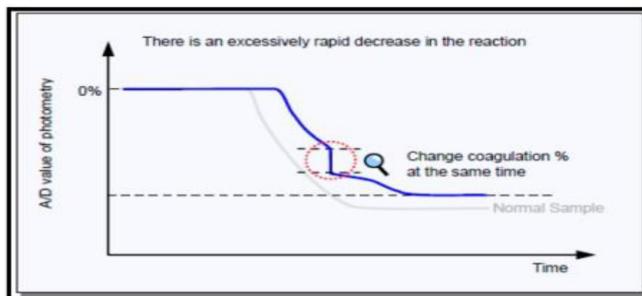
1. Stepping curve



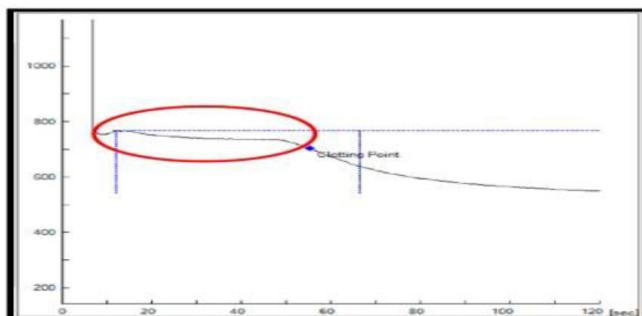
2. Sharp drop



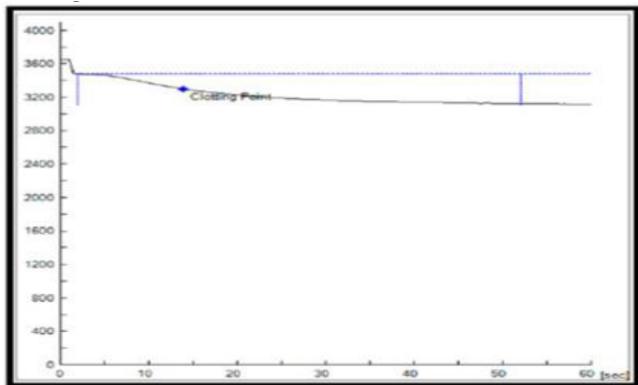
3. Jump Up



4. Terrace



5. Fibrinogen Curve Error



Gambar 15. Flag Kurva Reaksi *Coagulation Curve Error* dengan 5 subsetnya^{7,8}

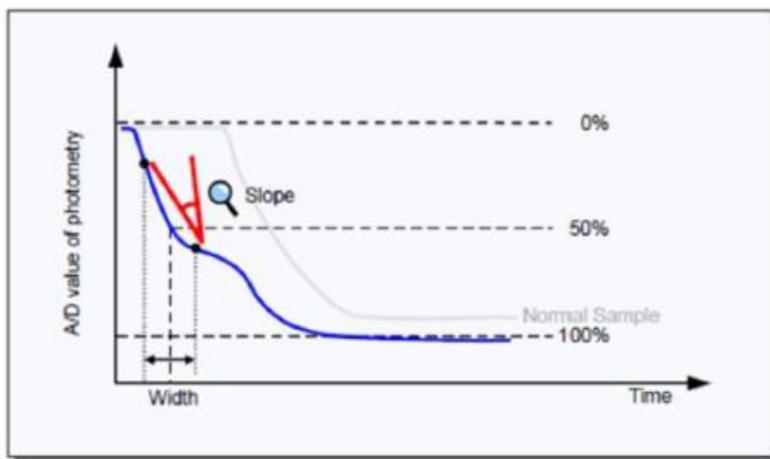
Tindak lanjut yang harus dilakukan:

1. Periksa sampel untuk kemungkinan kontaminasi antikoagulan, hemolis, lipemia.
2. Verifikasi pengiriman sampel dan reagen, pastikan tidak ada gelembung.
3. Tinjau data analisis.
4. Analisis ulang sampel. Jika analisis ulang sampel menghasilkan nilai numerik tanpa tanda bintang (*), hasilnya dapat dilaporkan. Jika nilai yang ditentukan pada 50% lebih besar dari kisaran yang dapat dilaporkan, laporkan sesuai kebijakan laboratorium.
5. Jika *Coagulation Curve Error* terjadi setelah analisis ulang, dan jika kurva dapat diterima serta hasil

pengulangan dan awal setara pada titik deteksi koagulasi 50%, rata-rata kedua hasil dapat dilaporkan sebagaimana ditentukan oleh kebijakan laboratorium.^{7,8}

2.6 Flat Curve

Terjadi pada pemeriksaan analisis PT saja. Disebabkan oleh fase pembekuan lambat terdeteksi, konsentrasi fibrinogen rendah, aktivitas faktor rendah, dan antikoagulan coumadin. Hal ini dimaksudkan untuk mencegah hasil singkat palsu dilaporkan.^{7,8}



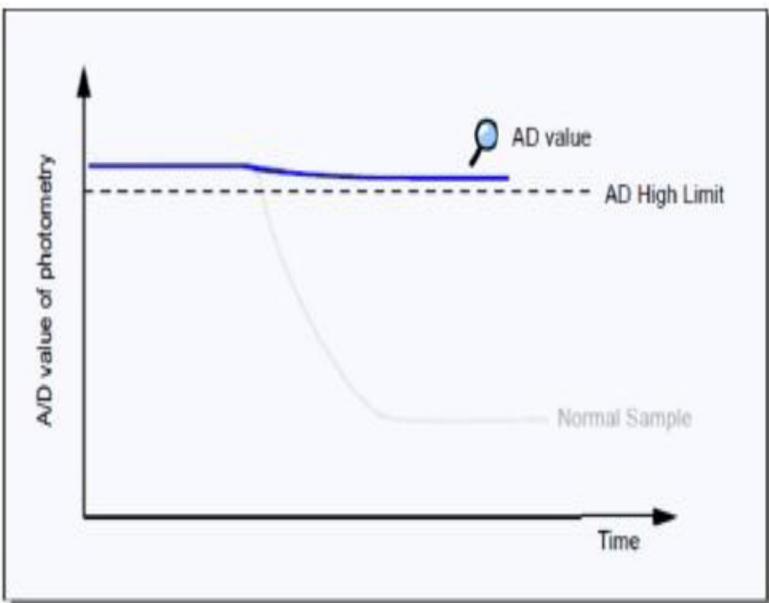
Gambar 16. Flag Kurva Reaksi Flat Curve⁸

Tindak lanjut yang harus dilakukan:

1. Periksa sampel untuk kemungkinan kontaminasi antikoagulan, hemolisis, lipemia.
2. Verifikasi pengiriman sampel dan reagen.
3. Analisis ulang dengan waktu yang lebih lama.
4. Jika analisis ulang sampel menghasilkan nilai numerik tanpa tanda bintang (*), maka hasilnya dapat dilaporkan.
5. Jika analisis ulang dengan waktu pengukuran yang diperpanjang memberikan pesan “*Flat Curve*” lagi, gunakan kebijakan laboratorium.^{7,8}

2.7 *Trans Light High*

Kurva reaksi pengukuran berada pada nilai ambang batas atau diatasnya. Hal ini dapat diamati dengan sampel plasma yang sangat jernih. Kemungkinan sampel salah (bukan plasma).^{7,8}



Gambar 17. Flag Kurva Reaksi Light High⁸

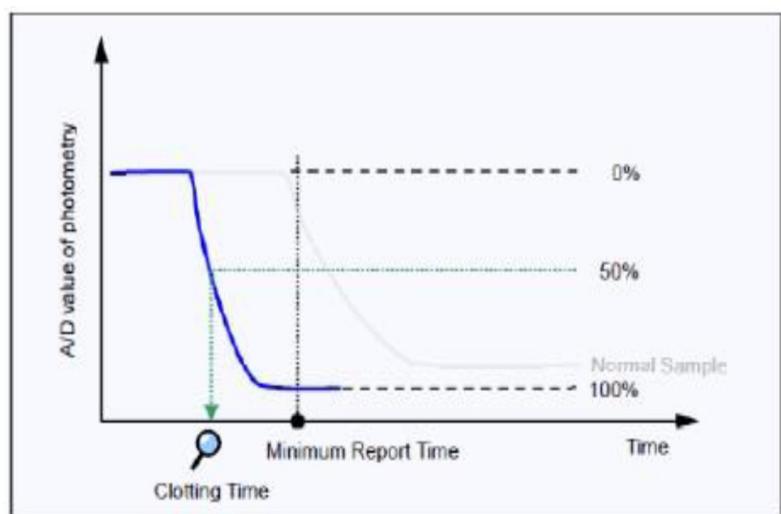
Tindak lanjut yang harus dilakukan:

1. Periksa sampel, reagen dan kondisi instrumen.
2. Kalibrasi ulang lampu atau ganti dengan lampu baru. Lampu baru memerlukan kalibrasi lampu. Setelah melakukan kalibrasi lampu, lakukan analisis kurva kalibrasi dan analisis QC, kemudian periksa data analisis.
3. Analisis ulang sampel. Apabila pada saat analisis ulang diperoleh hasil tanpa tanda bintang (*), maka hasil tersebut dapat dilaporkan.
4. Jika kondisi sampel, reagen, dan instrumen dapat

diterima, analisis ulang sampel dan periksa kuvet reaksi. Jika campurannya bening, ikuti protokol alternatif laboratorium.^{7,8}

2.8 Range Over

Terjadi jika waktu pembekuan pada titik deteksi 50% lebih pendek dari waktu minimum yang dapat dilaporkan. Kemungkinan masalah pre-analitik dan biasanya pengumpulan ulang diindikasikan.^{7,8}



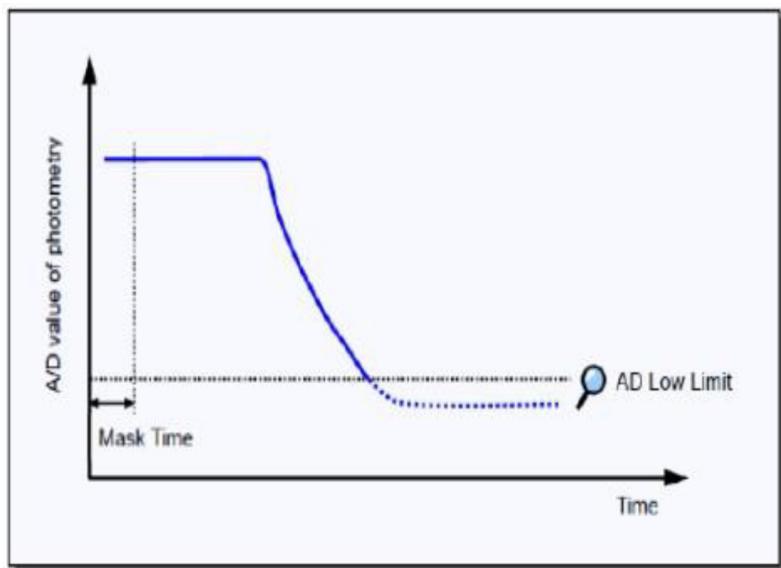
Gambar 18. Flag Kurva Reaksi Range Over⁸

Tindak lanjut yang harus dilakukan:

1. Dalam kasus yang jarang terjadi, pesan kesalahan PT dan aPTT “*Range Over*” mungkin menunjukkan bahwa hasil PT <7 detik, atau hasil aPTT <15 detik.
2. Kontaminasi reagen atau kurangnya perawatan alat analisa dapat menyebabkan pesan ini. Periksa sampel, reagen dan kondisi instrumen.
3. Tinjau data analisis pembentukan bekuan.
4. Jika kondisi sampel, reagen, dan instrumen dapat diterima, analisis ulang sampel dan pastikan terbentuknya bekuan dalam kuvet atau ikuti kebijakan laboratorium.^{7,8}

2.9 *Turbidity Level Over*

Hal ini biasanya terjadi ketika sampel keruh atau lipemia. Sehingga reaksi terjadi di luar kemampuan optik sistem.^{7,8}



Gambar 19. Flag Kurva Reaksi Turbidity Level Over⁸

Tindak lanjut yang harus dilakukan:

1. Periksa sampel untuk kemungkinan kekeruhan atau lipemia.
2. Verifikasi pengiriman sampel dan reagen.
3. Analisis kembali sampel yang diencerkan dengan pengencer yang sesuai. Langkah ini hanya tersedia untuk parameter yang menggunakan sampel encer dalam protokol pengujian asli seperti pengujian Fibrinogen (metode Clauss). Periksa protokol uji untuk pengencer yang digunakan.

4. Jika analisis ulang sampel menghasilkan nilai numerik tanpa tanda bintang (*), maka hasilnya dapat dilaporkan.
5. Jika analisis ulang memberikan pesan “*Turbidity Level Over*” lagi, sampel mungkin tidak mampu membentuk gumpalan yang kuat. Ikuti kebijakan laboratorium.^{7,8}

DAFTAR PUSTAKA

1. Bellio, P, Angelis, SD, Piccirilli, A, Michele, GD, Barnabe, R, Amicosante, G, Perilli, M, Celenza, G. (2023). Evaluation of the Analytical Performances of the Biolabo SOLEA 100 Optical Coagulometer and Comparison with the Stago STA-R MAX Analyser in the Determination of PT, APTT, and Fibrinogen. *Diagnostics*. 13(1): 85. <https://doi.org/10.3390/diagnostics13010085>
2. LaPelusa A, Dave HD. (2024). Physiology, Hemostasis. StatPearls Publishing. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK545263/>
3. Misnah, Abdullah, AA, Arif, M, Bahar, B. (2012). Pemeriksaan Prothrombin Time dan Activated Partial Thromboplastin Time. *Indonesian Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory*. 18(3):147-150
4. Siemens Healthineers. (2021). Sysmex® CS-2500 System Operator Training Workbook.
5. Siemens Healthineers. (2022). Sysmex® CS System Coagulation Curve Errors Virtual Training Workbook.
6. Song J. (2022). Advances in laboratory assessment of thrombosis and hemostasis. *Blood Res.* 57(S1):93-100. doi: 10.5045/br.2022.2022048. PMID: 35483933; PMCID: PMC9057656.

7. Sysmex Corporation. (2020). Automated Blood Coagulation Analyzer CS-2400/CS-2500 Instructions for Use
8. Woolley, A., Golmard, J.-L., & Kitchen, S. (2016). Effects of haemolysis, icterus and lipaemia on coagulation tests as performed on Stago STA-Compact-Max analyser. International Journal of Laboratory Hematology. 38(4), 375–388. doi:10.1111/ijlh.12498

Buku berjudul "Metode Pemeriksaan Hemostasis" membahas secara komprehensif berbagai teknik dan instrumen yang digunakan untuk pemeriksaan hemostasis dalam bidang laboratorium klinik. Buku ini ditulis oleh Sianny Herawati dan I Wayan Putu Sutirta Yasa dengan tujuan menyediakan referensi ilmiah bagi tenaga kesehatan, khususnya dalam memahami prinsip, kelebihan, dan kekurangan berbagai metode analitik terkait sistem hemostasis.

Bab pertama membahas sejarah perkembangan instrumen dan metode pemeriksaan hemostasis, mulai dari metode manual sederhana hingga teknologi canggih berbasis otomatisasi. Diuraikan pula prinsip kerja alat berdasarkan berbagai pendekatan, seperti deteksi mekanik, optik, kromogenik, dan imunologi. Perkembangan alat modern, seperti analisis multi-wavelength dan random access testing, dijelaskan untuk menunjukkan peningkatan efisiensi dan akurasi dalam diagnosis.

Bab berikutnya mendalami aspek teknis, termasuk prosedur preanalitik, analitik, dan pasca-analitik yang krusial untuk menjaga mutu hasil pemeriksaan. Ditekankan pula pentingnya flagging pada alat otomatis sebagai sistem peringatan untuk hasil yang tidak sesuai, sehingga memungkinkan konfirmasi sebelum pelaporan.

Selain itu, buku ini mengulas kelebihan dan kekurangan berbagai metode alat hemostasis, seperti metode manual, semiotomatis, dan otomatis. Ditekankan pula pentingnya efisiensi biaya, pemeliharaan alat, dan pelatihan operator dalam memilih instrumen laboratorium yang tepat. Fitur tambahan seperti barcoding, sistem LIS (Laboratory Information System), dan closed-tube sampling juga disorot sebagai inovasi yang mendukung pengurangan risiko kesalahan dan meningkatkan efektivitas kerja laboratorium.

Buku ini diharapkan menjadi sumber informasi yang berguna bagi para profesional laboratorium, mahasiswa kedokteran, dan praktisi kesehatan dalam meningkatkan pemahaman mereka tentang pemeriksaan hemostasis serta aplikasi klinisnya dalam mendiagnosis dan memantau gangguan perdarahan atau pembekuan darah.



Dr. dr. Sianny Herawati, Sp.PK(K) lahir di Jembrana, 20 September 1975. Diangkat sebagai tenaga pendidik di Departemen Patologi Klinis Fakultas Kedokteran Universitas Udayana tahun 2002. Lulus profesi dokter umum di Fakultas Kedokteran Universitas Udayana tahun 1999 dan kemudian menyelesaikan pendidikan spesialis Patologi Klinik di Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga tahun 2007. Lulus Doktor di Program Pasca Sarjana, Program Doktor, Program Studi Ilmu Kedokteran, Konsentrasi Ilmu Kedokteran Biomedik, Universitas Udayana tahun 2015. Konsultan di bidang peminatan Bank Darah dan Kedokteran Transfusi dari Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta tahun 2019 dan

konsultan di bidang peminatan Nefrologi dan Respirasi dari Kolegium Patologi Klinik Indonesia tahun 2022. Saat ini penulis adalah Koordinator Program Studi Spesialis Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Udayana/ RS.Ngoerah Denpasar.



Prof. Dr. dr. I Wayan Putu Sutirta Yasa, M.Si merupakan pria kelahiran Karangasem pada tahun 1957 yang masih aktif sebagai dosen dan staff bagian Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Udayana, RSUP Sanglah, Denpasar, Bali. Beliau pernah dipercaya menjabat sebagai Pembantu Dekan II Fakultas Kedokteran Universitas Udayana periode 2013-2017. Beliau sebelumnya pernah menjabat sebagai Pembantu Dekan II FK UNUD, beliau juga pernah menjabat sebagai Ketua Program Studi Pendidikan S3 Ilmu Kedokteran Universitas Udayana pada periode tahun 2010-2013. Sedangkan sebelumnya beliau juga pernah menduduki jabatan sebagai ketua Unit Penjamin Mutu Fakultas (UPMF). Riwayat pendidikan beliau meliputi lulusan S3 bidang Kedokteran Biomedik Universitas

Udayana tahun 2008 dimana telah sebelumnya mendalami bidang imunologi di Program Pendidikan S2 Universitas Airlangga. Beliau merupakan tamatan pendidikan S1 Kedokteran Umum yang ditempuh di Fakultas Kedokteran Universitas Udayana tahun 1985. Beliau juga dikenal telah mempublikasikan puluhan artikel pada jurnal kedokteran baik level Nasional hingga Internasional bereputasi. Di samping itu, beliau juga telah puluhan kali dipercaya sebagai narasumber dalam kegiatan seminar ilmiah baik tingkat regional, nasional, dan internasional.