

Variasi *Order of Draw* Terhadap Kualitas Hasil Pemeriksaan *Activated Partial Thromboplastin Time*

*Variation In Order of Draw On The Quality of Activated Partial Thromboplastin Time
Test Result*

Zulfikar Ali Hasan, Herdiana, Muhammad Nasir, Nurul Shabrina Chaerunnisa
Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Makassar

Koresponden: nurulshabrinachaerunnisa23@gmail.com, 081242850291

ABSTRACT

Activated partial thromboplastin time (APTT) is one of the hemostasis test parameters that is sensitive to disturbances in the intrinsic and common pathways of the coagulation process. One factor that can affect the accuracy of APTT results is errors in the pre analytical phase, particularly related to the order of blood collection (order of draw). This study aims to determine the effect of variations in the order of draw on the quality of APTT test results. The study employed a true experimental design with a within-subjects post-test only approach and was conducted on May 15–16, 2025, at the Hematology Laboratory of Poltekkes Kemenkes Makassar. A total of 16 subjects participated in this study, each providing blood samples for three different treatments, resulting in a total of 48 samples analyzed. Statistical test results showed no significant difference between APTT results from sodium citrate tubes collected in the proper order (control) and those collected after clot activator $p = 0.097 (> 0.05)$, as well as after K_3EDTA $p = 0.855 (> 0.05)$. Therefore, it can be concluded that variations in the order of draw do not significantly affect APTT test results when laboratory procedures are performed according to established protocols. Nevertheless, adhering to the correct blood collection order is still recommended to prevent cross contamination and ensure the accuracy of test results, especially in patients with hemostasis disorders.

Keywords : APTT, Order of Draw, Pre Analytical

ABSTRAK

Activated partial thromboplastin time (APTT) merupakan salah satu parameter pemeriksaan hemostasis yang sensitif terhadap gangguan pada jalur intrinsik dan jalur bersama dalam proses koagulasi. Salah satu faktor yang dapat memengaruhi akurasi hasil APTT adalah kesalahan pada fase pra analitik, khususnya terkait urutan pengambilan tabung darah (order of draw). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh variasi order of draw terhadap kualitas hasil pemeriksaan APTT. Penelitian ini menggunakan desain true experimental dengan pendekatan within-subjects post-test only, dilaksanakan pada tanggal 15–16 Mei 2025 di Laboratorium Hematologi Poltekkes Kemenkes Makassar. Total 16 subjek terlibat dalam penelitian ini, di mana masing-masing subjek memberikan sampel darah untuk tiga perlakuan berbeda,

sehingga total sampel yang dianalisis adalah sebanyak 48 sampel. Hasil uji statistik menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara hasil APTT pada tabung natrium sitrat yang diambil sesuai urutan (kontrol) dengan tabung yang diambil setelah *clot activator* $p = 0,097 (> 0,05)$, maupun setelah K_3EDTA $p = 0,855 (> 0,05)$. Sehingga dapat disimpulkan bahwa variasi *order of draw* tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap hasil pemeriksaan APTT ketika prosedur laboratorium dilakukan sesuai protokol yang telah ditetapkan. Meski demikian, penerapan urutan pengambilan darah yang sesuai tetap dianjurkan untuk mencegah kontaminasi silang dan memastikan keakuratan hasil pemeriksaan, terutama pada pasien dengan gangguan hemostasis.

Kata kunci : APTT, *Order of Draw*, Pra Analitik

PENDAHULUAN

Laboratorium adalah fasilitas kesehatan yang berfungsi untuk melakukan pengukuran, analisis, dan pengujian terhadap sampel yang berasal dari manusia maupun bukan manusia. Tujuannya adalah untuk mengidentifikasi jenis penyakit, penyebabnya, kondisi kesehatan, atau faktor-faktor yang dapat memengaruhi kesehatan individu maupun masyarakat (Yaqin dan Dian. 2015 : dalam Manik dan Haposan, 2021).

Pemeriksaan laboratorium meliputi tiga fase, yaitu pra analitik, analitik, dan pasca analitik. Pra analitik merupakan fase pertama yang terjadi dalam proses pemeriksaan laboratorium. Fase ini mencakup penanganan spesimen yang terjadi bahkan sebelum spesimen diterima di laboratorium (Simangunsong dkk., 2024). Kesalahan pada tahap pra analitik di laboratorium memiliki dampak yang paling besar terhadap hasil pemeriksaan dengan kontribusi mencapai 60-70% (Siregar dkk., 2018). Seperti halnya dalam penggunaan tabung *vacutainer* yang tidak tepat untuk jenis pemeriksaan yang diminta dapat mengurangi keakuratan hasil laboratorium (Sari, 2023).

World Health Organization (WHO) dan *Clinical and Laboratory Standard Institute* (CLSI) telah

mengeluarkan pedoman khusus untuk memastikan kualitas baik dari fase pra analitik. Namun, dalam literatur biomedis, terdapat berbagai pendapat mengenai satu item khusus ada dalam rekomendasi tersebut, yaitu urutan pengambilan tabung darah. Temuan ini telah menjadi fokus banyak penelitian sejak tahun 1977, ketika Sun dan Knauf melaporkan kasus hiperkalemia dan hipokalsemia palsu akibat dugaan kontaminasi darah. Namun, setelah publikasi studi oleh Calam dan Cooper pada tahun 1982, CLSI mulai mengubah rekomendasinya sedikit demi sedikit, seperti meningkatkan penggunaan tabung plastik daripada kaca dan mengembangkan aditif baru. Saat ini, urutan pengambilan darah yang ditetapkan oleh pedoman internasional dirancang untuk menghindari kontaminasi silang antara aditif yang ada dalam tabung darah, yaitu sebagai berikut: tabung kultur, tabung *plain*, tabung koagulasi, tabung *clot activator*, tabung serum separator tube, tabung heparin, tabung *plasma separator tube*, tabung *ethylene diamine tetraacetic acid* (EDTA), *blood tube*, dan tabung oksalat atau fluorida (Bazzano *et al.*, 2021).

Pengisian tabung yang tidak tepat dapat mengganggu prosedur pengujian, karena dapat menyebabkan kontaminasi yang melibatkan spesimen,

tromboplastin jaringan, atau mikroorganisme. Ketika tromboplastin jaringan terkontaminasi, maka dapat berpotensi mengaktifkan jalur koagulasi ekstrinsik, yang selanjutnya memengaruhi hasil dari pemeriksaan hemostasis. Selama pengambilan sampel darah vena, tromboplastin jaringan sering kali mengontaminasi jarum terutama jika tabung diisi terlebih dahulu (Kiswari, 2014).

Masalah pra analitik lain yang penting dan sangat spesifik dalam pengujian koagulasi adalah potensi kontaminasi plasma sitrat dengan zat aditif lain, seperti antikoagulan ireversibel (terutama EDTA) atau *clot activator* (misalnya trombin). Hal ini dapat terjadi baik secara tidak sengaja (misalnya kontaminasi silang dari satu tabung ke tabung lainnya selama pungsi vena) maupun disengaja (misalnya pengisian tabung koagulasi dengan darah EDTA). Bukti yang dipublikasikan menunjukkan bahwa mulai dari 30% kontaminasi darah yang diberi antikoagulan sitrat dengan darah yang diberi antikoagulan EDTA, beberapa uji pembekuan dapat berlangsung lama secara drastis (Kitchen *et al.*, 2021).

Kontaminasi sering terjadi akibat ketidaktepatan urutan pengisian tabung (*order of draw*), seperti penggunaan tabung EDTA sebelum tabung natrium sitrat atau penggunaan tabung dengan *clot activator* yang tidak sesuai urutan. Kesalahan ini memungkinkan transfer zat aditif melalui aliran balik darah atau jarum internal yang terkontaminasi, sehingga memengaruhi hasil pemeriksaan, termasuk *activated partial thromboplastin time* (APTT). Kontaminasi antikoagulan dapat memperpanjang waktu koagulasi yang tidak sesuai dengan kondisi klinis pasien, memberikan interpretasi yang salah, dan mengurangi keakuratan hasil

laboratorium. Oleh karena itu, penting untuk menerapkan SOP dengan benar, termasuk urutan pengisian tabung darah yang sesuai, seperti tabung natrium sitrat, *clot activator* dan EDTA, guna mencegah bias pada hasil pemeriksaan dan memastikan kualitas diagnostik yang optimal.

Penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Sulaiman *et al.* (2011) dalam penelitian yang berjudul “*Effect Of Order Of Draw Of Blood Samples During Phlebotomy On Routine Biochemistry Results*” mengatakan urutan pengambilan darah menggunakan sistem *Sarstedt Safety Monovette* tidak berpengaruh pada kadar analit seperti kalium, kalsium, magnesium, dan fosfatase alkali, jika sampel diambil oleh flebotomis yang berpengalaman.

Penelitian lain yang telah dilakukan oleh Indevuyst *et al.*, (2015) dalam penelitiannya yang berjudul “*The order of draw: much ado about nothing?*” melaporkan bahwa tidak ada pengaruh yang signifikan secara statistik terhadap hasil *prothrombin time* (PT) / *International Normalized Ratio* (INR). Hal yang sama berlaku untuk *activated partial thromboplastin time* yang diukur pada tabung sitrat yang diambil setelah tabung heparin. Namun, terdapat bias kecil yang signifikan secara statistik pada APTT ketika tabung sitrat diambil sebagai tabung pertama, setelah tabung EDTA, atau setelah tabung serum dengan *clot activator*. Bias ini (maksimal 0,2 detik) dianggap tidak signifikan secara klinis, yang berarti bahwa perbedaan tersebut tidak akan memengaruhi perawatan pasien atau pengambilan keputusan klinis.

Dalam penelitian tersebut, tabung *clot activator* dan K₃EDTA memberikan dampak signifikan terhadap hasil APTT karena adanya

potensi kontaminasi zat aditif ke dalam tabung sitrat yang digunakan untuk pengukuran APTT. Bias yang terjadi disebabkan karena APTT mengukur waktu yang diperlukan untuk pembentukan fibrin melalui jalur intrinsik (yang melibatkan faktor XII, XI, IX, VIII, dan lainnya) dan jalur bersama (yang melibatkan faktor X, V, protrombin, dan fibrinogen). Jalur intrinsik ini lebih panjang dan lebih kompleks, serta lebih mudah terpengaruh oleh kelainan pada faktor koagulasi. Dengan demikian, APTT lebih sensitif karena melibatkan lebih banyak faktor koagulasi yang dapat dipengaruhi oleh defisiensi atau gangguan faktor koagulasi. Sebaliknya, PT lebih sensitif terhadap gangguan pada jalur ekstrinsik, yang hanya melibatkan faktor VII.

Salah satu penyebab bias tersebut adalah penggunaan tabung *clot activator* dan tabung K₃EDTA. Tabung *clot activator* mengandung aktivator pembekuan, seperti silika atau trombin, yang mempercepat proses koagulasi darah. Jika tabung ini diambil sebelum tabung sitrat, ada kemungkinan bahwa jejak aktivator pembekuan terbawa ke dalam sampel berikutnya, menyebabkan aktivasi parsial faktor koagulasi. Hal ini bisa memendekkan hasil APTT secara artifisial, meskipun hanya dalam skala kecil. Sementara itu, tabung K₃EDTA bekerja dengan mengikat ion kalsium (Ca²⁺), yang merupakan kofaktor penting dalam jalur koagulasi. Jika tabung K₃EDTA diambil sebelum tabung sitrat, residu EDTA dapat terbawa ke dalam sampel sitrat. Akibatnya, ion kalsium dalam sampel sitrat dapat berkurang, yang dapat menyebabkan pemanjangan APTT secara tidak wajar karena jalur koagulasi terganggu.

Dalam praktik laboratorium medis, prosedur pengambilan darah

yang benar, khususnya *order of draw*, sangat penting untuk memastikan hasil pemeriksaan yang akurat, terutama pada tes seperti *activated partial thromboplastin time*. Namun, dalam situasi mendesak, seperti pada pasien dengan kondisi darurat atau ketika darah yang diperoleh sangat sedikit, Ahli Teknologi Laboratorium Medis (ATLM) sering kali terpaksa mengabaikan urutan pengisian tabung demi efisiensi waktu, yang dapat berisiko mengganggu hasil APTT. Tes APTT sangat sensitif terhadap kontaminasi, terutama oleh zat aditif seperti EDTA, yang dapat memperpanjang waktu koagulasi. Meskipun prosedur pengisian tabung sudah di standarisasi dengan adanya kode warna, faktor waktu dan keterbatasan darah sering kali menjadi tantangan dalam penerapannya. Oleh karena itu, penting untuk meningkatkan kesadaran akan dampak kesalahan *order of draw* terhadap hasil APTT agar kualitas diagnostik tetap terjaga.

Berdasarkan masalah tersebut, maka penulis tertarik untuk melakukan penelitian bagaimana pengaruh variasi *order of draw* terhadap kualitas hasil pemeriksaan *activated partial thromboplastin time* dengan harapan dapat menjadi perhatian pentingnya *order of draw* pada flebotomi khususnya pemeriksaan *activated partial thromboplastin time*.

METODE

Desain, Tempat dan Waktu

Jenis penelitian ini adalah *true experimental* dengan desain *within-subjects post-test only* yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh variasi *order of draw* terhadap kualitas hasil pemeriksaan *activated partial thromboplastin time*. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Hematologi Jurusan Teknologi

Laboratorium Medis Poltekkes
Kemenkes Makassar pada 15-16 Mei
2025.

Populasi, Sampel dan Teknik Pengambilan Sampel

Populasi dalam penelitian ini adalah seluruh sampel darah yang diambil untuk pemeriksaan *activated partial thromboplastin time* (APTT) dalam variasi urutan pengambilan. Sampel dalam penelitian ini adalah plasma sitrat yang diperiksa untuk parameter *activated partial thromboplastin time* (APTT) dengan variasi urutan pengambilan. Total 16 subjek terlibat dalam penelitian ini, di mana masing-masing subjek memberikan sampel darah untuk tiga perlakuan berbeda, sehingga total sampel yang dianalisis adalah sebanyak 48 sampel. Pengambilan sampel pada penelitian ini menggunakan teknik *accidental sampling*.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah *Stago Start 4* untuk pemeriksaan *activated partial thromboplastin time* (APTT), sentrifuge, holder, *tourniquet*, mikropipet. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah reagen CK Prest, reagen CaCl_2 , kuvet, *steel ball*, tabung natrium sitrat, tabung *clot activator*, tabung K_3EDTA , *needle*, alkohol swab, kapas kering, cup sampel, tip kuning dan *safety box*.

Prosedur Kerja

1. Tahapan Pra Analitik

- a. Persiapan Pengambilan Darah
Dalam penelitian ini, dilakukan persiapan pengambilan darah menggunakan 80 tabung vakum yang meliputi 48 tabung natrium

sitrat, 16 tabung *clot activator*, dan 16 tabung K_3EDTA . Sampel darah diambil dalam dua kelompok yaitu 16 tabung natrium sitrat sebagai kontrol (urutan yang sesuai), 16 tabung natrium sitrat yang diambil setelah *clot activator*, 16 tabung natrium sitrat yang diambil setelah K_3EDTA , 16 tabung *clot activator* (urutan yang tidak sesuai) dan 16 tabung K_3EDTA (urutan yang tidak sesuai). Sebelum pengambilan sampel darah dilakukan, seluruh peralatan yang diperlukan dipersiapkan dengan teliti seperti holder, *tourniquet*, *needle*, tabung vakutainer (natrium sitrat, *clot activator*, dan K_3EDTA), alkohol swab, serta sarung tangan medis dan pastikan bahwa seluruh peralatan dalam kondisi bersih dan steril guna mencegah kontaminasi serta menjaga keakuratan hasil pemeriksaan.

b. Pengambilan Sampel Plasma Sitrat Sesuai Urutan

- 1) Menyiapkan alat dan bahan yang akan digunakan. Setiap tabung natrium sitrat yang digunakan untuk pengambilan sampel darah harus diberi label dengan benar untuk menghindari kekeliruan dalam identifikasi sampel.
- 2) Tempelkan label pada setiap tabung sesuai dengan kode sampel, tanggal, dan jenis pemeriksaan yang akan dilakukan.
- 3) Pasang *tourniquet* pada lengan pasien yang dominan dengan jarak 3 jari atau sekitar 10 cm di atas lipatan siku.

- 4) Palpasi vena yang akan dilakukan tidak flebotomi kemudian minta pasien untuk mengepalkan tangannya. Vena yang biasa dipilih adalah vena mediana cubiti, jika vena tidak terasa kemudian pindah ke vena *cephalica* atau vena *basilica*.
 - 5) Desinfeksi area yang akan dilakukan tindakan dengan kapas alkohol 70% lakukan sekali usapan atau gerakan memutar dari dalam ke luar tunggu sampai kering.
 - 6) Arahkan jarum yang sudah terpasang di holder dengan sudut kemiringan 15-30° pastikan bagian *bevel* menghadap ke atas lakukan dengan gerakan yang tepat untuk mengurangi rasa sakit.
 - 7) Selanjutnya, jika darah sudah terlihat masuk ke dalam hub lepaskan *tourniquet* dan minta pasien untuk melepaskan genggamannya tangannya kemudian masukkan tabung natrium sitrat, biarkan sampai darah berhenti mengalir dengan sendirinya ke dalam tabung.
 - 8) Keluarkan tabung dengan hati-hati, selanjutnya darah dihomogenkan sebanyak 3-4 kali.
 - 9) Setelah darah dihomogenkan, letakkan kapas di atas tusukan kemudian tarik jarum dengan hati-hati dan jarum langsung ditutup menggunakan satu tangan. Letakkan kapas kering di atas tempat penusukan vena untuk menghentikan pendarahan.
 - 10) Pasien kemudian dianjurkan untuk menekan kapas selama beberapa menit hingga darah berhenti keluar. Setelah pengambilan darah selesai dan pendarahan berhenti, tutup bekas penusukan dengan plester untuk mencegah infeksi dan memastikan kenyamanan pasien.
 - 11) Buang jarum ke dalam *safety box* serta kapas ke dalam tempat sampah infeksius.
- c. Pengambilan Sampel Plasma Sitrat Setelah Tabung *Clot Activator* (Tidak Sesuai Urutan)
- 1) Menyiapkan alat dan bahan yang akan digunakan. Setiap tabung natrium sitrat yang digunakan untuk pengambilan sampel darah harus diberi label dengan benar untuk menghindari kekeliruan dalam identifikasi sampel.
 - 2) Tempelkan label pada setiap tabung sesuai dengan kode sampel, tanggal, dan jenis pemeriksaan yang akan dilakukan.
 - 3) Pasang *tourniquet* pada lengan pasien yang dominan dengan jarak 3 jari atau sekitar 10 cm di atas lipatan siku.
 - 4) Palpasi vena yang akan dilakukan tidak flebotomi kemudian minta pasien untuk mengepalkan tangannya. Vena yang biasa dipilih adalah vena mediana cubiti, jika vena tidak terasa kemudian pindah ke vena

cephalica atau vena *basilica*.

- 5) Desinfeksi area yang akan dilakukan tindakan dengan kapas alkohol 70% lakukan sekali usapan atau gerakan memutar dari dalam ke luar tunggu sampai kering.
- 6) Arahkan jarum yang sudah terpasang di holder dengan sudut kemiringan 15-30° pastikan bagian *bevel* menghadap ke atas lakukan dengan gerakan yang tepat untuk mengurangi rasa sakit.
- 7) Selanjutnya, jika darah sudah terlihat masuk ke dalam hub lepaskan *tourniquet* dan minta pasien untuk melepaskan genggamannya tangannya kemudian masukkan tabung *clot activator*, biarkan sampai darah berhenti mengalir dengan sendirinya ke dalam tabung.
- 8) Keluarkan tabung dengan hati-hati, selanjutnya darah dihomogenkan sebanyak 5 kali (lakukan homogenisasi setengahnya dulu, setelah tabung selanjutnya dimasukkan lanjutkan homogenisasi), dilanjutkan dengan memasukkan tabung natrium sitrat, tunggu hingga darah berhenti mengalir lalu keluarkan tabung dengan hati-hati dan homogenkan sebanyak 3-4 kali.
- 9) Setelah darah dihomogenkan, letakkan kapas di atas tusukan kemudian tarik jarum dengan hati-hati dan jarum langsung ditutup

menggunakan satu tangan. Letakkan kapas kering di atas tempat penusukan vena untuk menghentikan pendarahan.

- 10) Pasien kemudian dianjurkan untuk menekan kapas selama beberapa menit hingga darah berhenti keluar. Setelah pengambilan darah selesai dan pendarahan berhenti, tutup bekas penusukan dengan plester untuk mencegah infeksi dan memastikan kenyamanan pasien.
 - 11) Buang jarum ke dalam *safety box* serta kapas ke dalam tempat sampah infeksius.
- d. Pengambilan Sampel Plasma Sitrat Setelah Tabung K₃EDTA (Tidak Sesuai Urutan)
- 1) Menyiapkan alat dan bahan yang akan digunakan. Setiap tabung natrium sitrat yang digunakan untuk pengambilan sampel darah harus diberi label dengan benar untuk menghindari kekeliruan dalam identifikasi sampel.
 - 2) Tempelkan label pada setiap tabung sesuai dengan kode sampel, tanggal, dan jenis pemeriksaan yang akan dilakukan.
 - 3) Pasang *tourniquet* pada lengan pasien yang dominan dengan jarak 3 jari atau sekitar 10 cm di atas lipatan siku.
 - 4) Palpasi vena yang akan dilakukan tindakan flebotomi kemudian minta pasien untuk mengepalkan tangannya. Vena yang biasa

dipilih adalah vena mediana cubiti, jika vena tidak terasa kemudian pindah ke vena *cephalica* atau vena *basilica*.

- 5) Desinfeksi area yang akan dilakukan tindakan dengan kapas alkohol 70% lakukan sekali usapan atau gerakan memutar dari dalam ke luar tunggu sampai kering.
- 6) Arahkan jarum yang sudah terpasang di holder dengan sudut kemiringan 15-30° pastikan bagian *bevel* menghadap ke atas lakukan dengan gerakan yang tepat untuk mengurangi rasa sakit.
- 7) Selanjutnya, jika darah sudah terlihat masuk ke dalam hub lepaskan *tourniquet* dan minta pasien untuk melepaskan genggamannya tangannya kemudian masukkan tabung K₃EDTA, biarkan sampai darah berhenti mengalir dengan sendirinya ke dalam tabung.
- 8) Keluarkan tabung dengan hati-hati, selanjutnya darah dihomogenkan sebanyak 8-10 kali (lakukan homogenisasi setengahnya dulu, setelah tabung selanjutnya dimasukkan lanjutkan homogenisasi), dilanjutkan dengan memasukkan tabung natrium sitrat, tunggu hingga darah berhenti mengalir lalu keluarkan tabung dengan hati-hati dan homogenkan sebanyak 3-4 kali.
- 9) Setelah darah dihomogenkan, letakkan

kapas di atas tusukan kemudian tarik jarum dengan hati-hati dan jarum langsung ditutup menggunakan satu tangan. Letakkan kapas kering di atas tempat penusukan vena untuk menghentikan pendarahan.

- 10) Pasien kemudian dianjurkan untuk menekan kapas selama beberapa menit hingga darah berhenti keluar. Setelah pengambilan darah selesai dan pendarahan berhenti, tutup bekas penusukan dengan plester untuk mencegah infeksi dan memastikan kenyamanan pasien.
- 11) Buang jarum ke dalam *safety box* serta kapas ke dalam tempat sampah infeksius.

e. Penanganan Sampel

Darah yang telah diambil menggunakan tabung natrium sitrat disentrifuge pada kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Selanjutnya, cup sampel kode sesuai yang ada pada tabung natrium sitrat. Setelah sentrifugasi selesai, pindahkan masing-masing plasma sitrat ke dalam cupsampel secara terpisah dengan menggunakan mikropipet. Sampel siap untuk dilakukan pemeriksaan. Penyimpanan plasma dapat dilakukan 8 jam pada suhu 20±5°C, jangan menyimpan plasma pada suhu 2-8°C.

f. Penanganan Reagen

Selama belum dilarutkan, reagen akan tetap stabil hingga tanggal kedaluwarsa yang tercantum pada kemasan

sebelum larutan dibuat. Setelah dilarutkan, Reagen 1 dapat disimpan pada suhu 37°C selama 8 jam, pada suhu 20±5°C selama 48 jam, dan pada suhu 2-8°C selama 8 hari. Reagen tidak boleh dibekukan. Jika reagen ingin digunakan maka reagen harus diputar secara perlahan untuk memastikan larutannya homogen. Inkubasi reagen CK Prest dan CaCl₂ pada suhu 37°C selama sekitar 3 menit (jika reagen sudah mencapai suhu ruangan) sebelum dipakai dalam tes.

2. Tahapan Analitik

- a. Pemeriksaan *activated partial thromboplastin time* (APTT) menggunakan alat *Stago Start 4* dilakukan dengan cara meletakkan kuvet bersama dengan *steel ball* di kolom inkubasi sebelum memulai pengujian.
- b. Selanjutnya, pilih menu 1 (Mode Tes), tekan *enter*, pilih nomor 2 (APTT), masukkan ID pasien sesuai jumlah tes yang akan dilakukan, dan tekan *enter* untuk melanjutkan ke layar pengaturan.
- c. Setelah itu, pipet 50 µl plasma/kontrol dan 50 µl reagen CK Prest ke dalam kuvet, lalu tekan tombol *timer* untuk memulai inkubasi.
- d. Alarm akan berbunyi setelah 170 detik, menandakan bahwa waktu inkubasi hampir selesai.
- e. Pindahkan kuvet ke kolom pengukuran. Kemudian, tambahkan 50 µl reagen CaCl₂ ke dalam kuvet sambil menekan tombol pengukuran (PIP).
- f. Tunggu hingga hasil tes muncul di layar dan catat hasil yang ditampilkan pada layar.

3. Tahapan Pasca Analitik

a. Interpretasi Hasil

Pada penelitian ini, pemeriksaan *activated partial thromboplastin time* (APTT) dilakukan untuk mengevaluasi kualitas hasil berdasarkan variasi *order of draw*. Nilai rujukan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 20 – 35 detik. Hasil yang diperoleh dibandingkan antara dua kelompok yaitu kelompok kontrol (sampel plasma sitrat yang diambil sesuai urutan menggunakan tabung natrium sitrat) dan kelompok perlakuan (sampel plasma sitrat setelah tabung *clot activator* dan sampel plasma sitrat setelah tabung K₃EDTA).

Hasil pemeriksaan APTT dianalisis dengan melihat apakah terdapat perbedaan yang signifikan antara dua kelompok. Jika terdapat penyimpangan nilai APTT yang signifikan di luar rentang rujukan atau terjadi peningkatan/penurunan nilai yang bermakna pada kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol, maka hal ini dapat menunjukkan adanya kontaminasi zat aditif dari tabung sebelumnya.

- 1) Jika nilai *activated partial thromboplastin time* (APTT) pada kelompok perlakuan memendek (< 20 detik) dari kelompok kontrol, maka kemungkinan terjadi aktivasi faktor koagulasi sebelum pemeriksaan akibat kontaminasi dari tabung *clot activator*.
- 2) Jika nilai *activated partial thromboplastin time* (APTT) pada kelompok perlakuan

memanjang (> 35 detik) dari kelompok kontrol, maka kemungkinan terjadi kontaminasi dengan antikoagulan EDTA atau adanya sisa faktor koagulasi yang terpengaruh oleh faktor koagulasi.

b. Pelaporan Hasil

Hasil penelitian akan disajikan dalam bentuk tabel yang menunjukkan perbandingan nilai *activated partial thromboplastin time* antara kelompok kontrol dan perlakuan. Analisis statistik akan dilakukan untuk menentukan apakah terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok-kelompok tersebut. Jika $p\text{-value} < 0,05$, maka terdapat perbedaan yang signifikan antara dua kelompok, yang menunjukkan bahwa urutan pengambilan darah mempengaruhi hasil *activated partial thromboplastin time*.

Pengolahan dan Analisis Data

Data yang diperoleh dalam penelitian ini akan diolah menggunakan SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*). Sebelum analisis lebih lanjut, dilakukan uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk test* untuk menentukan apakah data hasil pemeriksaan APTT terdistribusi normal atau tidak. Jika data berdistribusi normal, maka akan dilanjutkan dengan uji parametrik yaitu *Paired T-Test* untuk membandingkan perbedaan rata-rata hasil APTT antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Namun, jika data tidak terdistribusi normal, maka akan digunakan uji non parametrik yaitu Uji *Wilcoxon* untuk menganalisis perbedaan hasil APTT pada kedua kelompok tersebut. Analisis ini bertujuan untuk

mengidentifikasi adanya pengaruh variasi *order of draw* terhadap kualitas hasil pemeriksaan *activated partial thromboplastin time*

HASIL

Penelitian mengenai variasi *order of draw* terhadap kualitas hasil pemeriksaan *activated partial thromboplastin time* dilakukan di laboratorium hematologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Makassar, pada tanggal 15 - 16 Mei 2025 dengan menggunakan metode *true experimental*. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi hasil pemeriksaan *activated partial thromboplastin time* berdasarkan perbedaan urutan tabung dalam pengambilan sampel darah. Pemeriksaan dilakukan secara langsung di laboratorium menggunakan metode pengukuran viskositas. Total sebanyak 16 subjek terlibat dalam penelitian ini, di mana masing-masing subjek memberikan sampel darah untuk tiga perlakuan berbeda, sehingga total sampel yang dianalisis adalah sebanyak 48 sampel.

Data hasil pemeriksaan APTT dikumpulkan melalui pengujian secara langsung di laboratorium, dengan prosedur pengambilan darah vena menggunakan urutan tabung yang berbeda untuk mengevaluasi pengaruh variasi urutan tersebut terhadap hasil pemeriksaan APTT. Perlakuan pertama (Urutan yang sesuai), sampel darah pertama kali dimasukkan ke dalam tabung sitrat (biru), sesuai dengan standar pengambilan sampel untuk pemeriksaan koagulasi. Tabung ini

digunakan untuk pemeriksaan APTT dan menjadi acuan (kontrol) dalam penelitian ini. Perlakuan kedua (Tabung natrium sitrat setelah *clot activator*), pengambilan darah diawali dengan tabung *clot activator* (tutup

merah), kemudian dilanjutkan dengan tabung sitrat. Perlakuan ini bertujuan untuk mengamati apakah adanya tabung aktivator koagulasi yang diambil lebih awal dapat memengaruhi hasil APTT pada tabung sitrat yang berada di urutan kedua. Terakhir, perlakuan ketiga (Tabung natrium sitrat setelah tabung EDTA), sampel darah pertama kali dimasukkan ke dalam tabung EDTA (ungu), kemudian dilanjutkan dengan tabung sitrat. Perlakuan ini menguji potensi kontaminasi silang antikoagulan EDTA terhadap hasil pemeriksaan APTT pada tabung sitrat yang berada di urutan setelahnya.

Seluruh sampel yang telah dikumpulkan kemudian diperiksa nilai APTT-nya menggunakan alat *Stago Start 4* yang telah dikalibrasi dan dikontrol sebelumnya, dengan hasil

pengujian yang diamati langsung oleh peneliti. Perbedaan hasil APTT antara ketiga perlakuan dianalisis untuk menilai sejauh mana urutan pengambilan tabung darah dapat memengaruhi hasil pemeriksaan koagulasi, khususnya APTT.

Pengambilan sampel dalam penelitian ini dilakukan dengan menggunakan teknik *accidental sampling*, yaitu pengambilan sampel berdasarkan subjek yang tersedia secara kebetulan pada saat penelitian berlangsung. Data yang dikumpulkan merupakan data primer yang diperoleh langsung dari hasil pemeriksaan laboratorium terhadap sampel darah responden yang telah melalui proses pengambilan dan pengujian sesuai prosedur penelitian.

Tabel 1
Hasil Pemeriksaan APTT

Kode Sampel	Hasil Penelitian APTT (Detik)		
	Tabung Na Sitrat 1 (Kontrol)	Tabung Na Sitrat 2 (Setelah Tabung <i>Clot Activator</i>)	Tabung Na Sitrat 3 (Setelah Tabung EDTA)
T.001	31,6	29,8	28
T.002	29,4	28,7	29,5
T.003	31,2	32,4	33,9
T.004	32,9	26,6	29,7
T.005	33,2	33,1	33,5
T.006	31,1	31,4	32,6
T.007	34,6	34,3	36
T.008	36,1	34,3	37,7
T.009	32	30,8	31,6
T.010	33,2	31,5	33,6
T.011	33,2	24,7	34,8
T.012	31,6	34,6	31,4
T.013	27,8	28,2	34,3
T.014	36,8	36,2	35,5
T.015	34,1	36,4	34,8
T.016	34,7	27,4	28,7

Sumber: Data Primer (2025)

Tabel 2
Statistik Deskriptif Hasil Pemeriksaan APTT

Ukuran Statistik	Tabung Na Sitrat 1 (Kontrol)	Tabung Na Sitrat 2 (Setelah Tabung <i>Clot</i> <i>Activator</i>)	Tabung Na Sitrat 3 (Setelah Tabung EDTA)
Jumlah Sampel (N)	16	16	16
Nilai Minimum	27,8	24,7	28,0
Nilai Maksimum	36,8	36,4	37,7
Rata-Rata (<i>Mean</i>)	32,719	31,275	32,850
Standar Deviasi (SD)	2,3287	3,4941	2,8033

Sumber: Data Primer (2025)

Berdasarkan Tabel 2, hasil analisis statistik deskriptif terhadap 16 subjek menunjukkan bahwa:

- a. Pada Tabung Na Sitrat 1 (Kontrol), nilai APTT memiliki nilai minimum sebesar 27,8 detik dan nilai maksimum sebesar 36,8 detik. Rata-rata nilai APTT yang diperoleh adalah 32,719 detik dengan simpangan baku (standar deviasi) sebesar 2,3287 detik.
- b. Pada Tabung Na Sitrat 2 (Setelah tabung *clot activator*), nilai APTT memiliki nilai minimum sebesar 24,7 detik dan nilai maksimum sebesar 36,4 detik. Rata-rata nilai APTT yang diperoleh adalah 31,275 detik dengan simpangan baku (standar deviasi) sebesar 3,4941 detik.

Pada Tabung Na Sitrat 3 (Setelah tabung EDTA), nilai APTT memiliki nilai minimum sebesar 28,0 detik dan nilai maksimum sebesar 37,7 detik. Rata-rata nilai APTT yang diperoleh.

Penelitian ini membandingkan hasil pemeriksaan APTT berdasarkan urutan pengambilan darah ke dalam

tabung natrium sitrat. Tabung natrium sitrat pertama, yang diambil sesuai dengan urutan standar (sebelum tabung lain), digunakan sebagai kontrol. Sementara itu, tabung natrium sitrat kedua diambil setelah tabung *clot activator*, dan tabung natrium sitrat ketiga diambil setelah tabung EDTA, yang keduanya merupakan urutan yang tidak sesuai dengan pedoman *order of draw*.

Sebelum dilakukan analisis perbandingan hasil pemeriksaan APTT, terlebih dahulu dilakukan uji normalitas data untuk mengetahui apakah distribusi data pada masing-masing kelompok memenuhi asumsi normalitas. Uji normalitas ini menggunakan metode *Shapiro-Wilk*, yang sesuai digunakan pada jumlah sampel di bawah 50.

Adapun kriteria pengambilan keputusan adalah apabila nilai signifikansi ($\text{Sig./}p\text{-value}$) $> 0,05$ maka data dianggap terdistribusi normal, sedangkan jika $p < 0,05$ maka data tidak terdistribusi normal.

Tabel 3
Uji Normalitas *Shapiro-Wilk* Hasil Pemeriksaan APTT

	<i>Shapiro-Wilk</i>		
	<i>Statistic</i>	<i>df</i>	<i>Sig.</i>
Tabung Na Sitrat 1 (Kontrol)	.979	16	.952
Tabung Na Sitrat 2 (Setelah Tabung <i>Clot Activator</i>)	.968	16	.798
Tabung Na Sitrat 3 (Setelah Tabung EDTA)	.962	16	.702

Berdasarkan Tabel 3, diketahui bahwa seluruh kelompok memiliki nilai signifikansi (*p-value*) lebih besar dari 0,05, yaitu sebesar 0,952 pada tabung natrium sitrat pertama (yang diambil sesuai urutan pengambilan darah sebagai kontrol), 0,798 pada tabung natrium sitrat kedua (yang diambil setelah tabung *clot activator*), dan 0,702 pada tabung natrium sitrat ketiga (yang diambil setelah tabung EDTA).

Nilai signifikansi yang melebihi batas ambang 0,05 tersebut menunjukkan bahwa data pada ketiga

kelompok terdistribusi secara normal, sesuai dengan kriteria yang digunakan dalam uji *Shapiro-Wilk*. Distribusi normal ini menandakan bahwa tidak terdapat penyimpangan yang signifikan dari pola distribusi normal pada data hasil pemeriksaan APTT, sehingga memenuhi asumsi dasar untuk dilakukan analisis lanjutan menggunakan uji statistik parametrik. Dengan demikian, perbandingan nilai APTT antar kelompok tabung natrium sitrat dapat dianalisis menggunakan uji parametrik, yaitu *paired t-test*.

Tabel 4
Hasil Uji *Paired t-Test* Antara Tabung Natrium Sitrat Pertama (Kontrol) dan Tabung Natrium Sitrat Kedua (Setelah Tabung *Clot Activator*) Terhadap Nilai APTT

<i>Paired Samples Test</i>			
<i>Paired Differences</i>	<i>Mean</i>		1.4438
	<i>Std. Deviation</i>		3.2621
	<i>Std. Error Mean</i>		.8155
	<i>95% Confidence Interval of the Difference</i>	<i>Lower</i> <i>Upper</i>	-.2945 3.1820
T			1.770
Df			15
<i>Significance</i>	<i>One-Sided p</i>		.048
	<i>Two-Sided p</i>		.097

Berdasarkan Tabel 4, hasil uji *paired t-test* menunjukkan bahwa terdapat rata-rata nilai APTT sebesar 1,4438 detik antara tabung natrium sitrat pertama (kontrol) dan tabung natrium sitrat kedua (yang diambil setelah tabung *clot activator*), dengan simpangan baku 3,2621 dan *p-value*

sebesar 0,097 (*two-tailed*). Karena *p-value* > 0,05, maka perbedaan tersebut tidak signifikan secara statistik pada tingkat kepercayaan 95%. Meskipun terdapat kecenderungan peningkatan nilai APTT pada tabung kedua, urutan pengambilan darah yang tidak sesuai belum menunjukkan pengaruh yang

bermakna terhadap hasil pemeriksaan APTT pada sampel yang diteliti.

Tabel 5

Hasil Uji *Paired t-Test* Antara Tabung Natrium Sitrat Pertama (Kontrol) dan Tabung Natrium Sitrat Ketiga (Setelah Tabung EDTA) Terhadap Nilai APTT

<i>Paired Samples Test</i>		
<i>Paired Differences</i>	<i>Mean</i>	-.1313
	<i>Std. Deviation</i>	2.8335
	<i>Std. Error Mean</i>	.7084
	<i>95% Confidence Interval of the Lower Difference</i>	-1.6411
	<i>Upper</i>	1.3786
T		-.185
Df		15
<i>Significance</i>	<i>One-Sided p</i>	.428
	<i>Two-Sided p</i>	.855

Berdasarkan Tabel 5, hasil uji *paired t-test* menunjukkan bahwa terdapat rata-rata nilai APTT sebesar -0,1313 detik antara tabung natrium sitrat pertama (kontrol) dan tabung natrium sitrat ketiga (yang diambil setelah tabung EDTA), dengan simpangan baku 2,8335 dan *p-value* sebesar 0,855 (*two-tailed*). Karena *p-*

value > 0,05, maka perbedaan tersebut tidak signifikan secara statistik pada tingkat kepercayaan 95%. Hal ini menunjukkan bahwa urutan pengambilan darah yang tidak sesuai dengan pengambilan tabung natrium sitrat ketiga tidak berpengaruh bermakna terhadap hasil pemeriksaan APTT pada sampel yang diteliti.

Tabel 6

Perbedaan Hasil Pemeriksaan APTT Pada Sampel Plasma Sitrat Yang Diambil Dengan Urutan Yang Sesuai dan Urutan Yang Tidak Sesuai (Setelah Tabung *Clot Activator* dan Tabung EDTA)

Perbandingan	Nilai Sig.
Batas Signifikansi ($p > 0,05 =$ Tidak Signifikan)	0,05
Tabung Natrium Sitrat Setelah Tabung <i>Clot Activator</i>	0,097
Tabung Natrium Sitrat Setelah Tabung EDTA	0,855

Berdasarkan Tabel 4.6, diperoleh nilai signifikansi (*p-value*) untuk perbedaan hasil pemeriksaan APTT pada sampel plasma sitrat yang diambil dengan urutan yang sesuai dan urutan yang tidak sesuai, yaitu setelah tabung

clot activator dan setelah tabung EDTA. Nilai signifikansi pada tabung natrium sitrat yang diambil setelah tabung *clot activator* sebesar 0,097, sedangkan pada tabung natrium sitrat yang diambil setelah tabung EDTA

sebesar 0,855. Dengan menggunakan batas signifikansi 0,05, kedua nilai tersebut menunjukkan hasil yang lebih besar dari 0,05, sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan secara statistik pada hasil pemeriksaan APTT antara sampel plasma sitrat yang diambil dengan urutan yang sesuai dan yang tidak sesuai (setelah tabung *clot activator* maupun setelah tabung EDTA). Hal ini menunjukkan bahwa urutan pengambilan darah yang tidak sesuai tidak berpengaruh bermakna terhadap hasil pemeriksaan APTT pada sampel yang diuji.

PEMBAHASAN

Pemeriksaan *activated partial thromboplastin time* merupakan salah satu uji laboratorium yang penting dalam menilai jalur intrinsik serta jalur bersama pada sistem koagulasi darah. Keakuratan hasil pemeriksaan APTT sangat dipengaruhi oleh berbagai faktor pra analitik, salah satunya adalah urutan pengambilan darah (*order of draw*). Pedoman yang dikeluarkan oleh (NCCLS [CLSI] H3-A5) secara tegas merekomendasikan bahwa tabung sitrat yang digunakan untuk pemeriksaan koagulasi harus diambil terlebih dahulu sebelum tabung lainnya (kecuali tabung untuk kultur darah) (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2003).

Dalam penelitian ini, dilakukan pengambilan darah dengan tiga kondisi berbeda yaitu pertama, pengambilan tabung natrium sitrat sesuai urutan standar (kontrol), kedua, pengambilan tabung natrium sitrat setelah tabung *clot activator* dan ketiga, pengambilan tabung natrium sitrat setelah tabung EDTA. Sebelum dilakukan analisis lebih lanjut, data nilai APTT dari masing-masing kelompok diuji untuk mengetahui distribusinya dengan

menggunakan uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk*.

Hasil uji *Shapiro-Wilk* menunjukkan bahwa seluruh kelompok data berdistribusi normal, dengan nilai $p > 0,05$. Dengan terpenuhinya asumsi normalitas, maka analisis dilanjutkan menggunakan uji statistik parametrik yaitu uji *paired t-test* dengan tingkat kepercayaan 95% menggunakan SPSS.

Hasil uji *paired t-test* menunjukkan bahwa perbandingan antara tabung natrium sitrat pertama dan kedua menghasilkan nilai *p-value* sebesar 0,097. Sedangkan, pada perbandingan antara tabung natrium sitrat pertama dan ketiga, diperoleh nilai *p-value* sebesar 0,855. Kedua nilai *p-value* tersebut lebih besar dari batas signifikansi 0,05 ($\alpha = 5\%$), sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan secara statistik antara hasil pemeriksaan APTT dari ketiga variasi pengambilan darah. Dengan demikian, hipotesis nol (H_0) diterima dan Hipotesis alternatif (H_a) ditolak, yang menyatakan bahwa variasi *order of draw* terhadap pengambilan sampel darah tidak memberikan pengaruh bermakna terhadap nilai APTT, khususnya dalam kondisi subjek sehat dan prosedur pra analitik yang terkontrol.

Meskipun secara deskriptif terdapat peningkatan nilai APTT sebesar 1,4438 detik pada tabung kedua dibandingkan tabung pertama, perbedaan ini tidak signifikan secara statistik. Hal ini menunjukkan bahwa meskipun terdapat potensi *carryover* atau kontaminasi aditif, pengaruhnya terhadap hasil APTT tidak cukup besar untuk memengaruhi interpretasi klinis.

Pada perlakuan pertama, tabung natrium sitrat diambil setelah tabung *clot activator*. *Clot activator* mengandung zat prokoagulan seperti silika atau kaolin, yang berfungsi

mempercepat proses pembekuan darah dengan mengaktifkan faktor XII dalam jalur koagulasi intrinsik. Jika tabung natrium sitrat diisi setelah tabung *clot activator* tanpa mengganti jarum atau dengan prosedur yang kurang tepat, maka dapat terjadi kontaminasi silang oleh residu zat prokoagulan yang terbawa dari tabung sebelumnya. Residu ini bisa berupa partikel silika atau darah yang sudah mengalami aktivasi awal pembekuan. Akibatnya, plasma dalam tabung natrium sitrat dapat mengalami aktivasi pembekuan parsial sebelum pemeriksaan dilakukan di laboratorium.

Dalam penelitian ini, ditemukan hasil APTT yang bervariasi, yakni terdapat sampel dengan waktu pembekuan yang memanjang maupun memendek. Pengaktifan awal atau aktivasi parsial dari faktor-faktor pembekuan darah sebelum pemeriksaan dapat menyebabkan hasil APTT menjadi tidak akurat. Aktivasi ini terjadi ketika sebagian faktor koagulasi telah teraktivasi secara prematur. Kondisi ini mengganggu kestabilan plasma yang seharusnya dalam keadaan basal saat pengujian dilakukan. Akibatnya, hasil APTT bisa memperlihatkan dua hasil yang berbeda. Pertama, waktu pembekuan dapat menjadi lebih panjang jika sebagian faktor pembekuan telah teraktivasi sebelumnya, sehingga jumlah faktor aktif yang tersisa untuk menjalankan proses koagulasi saat pengujian menjadi berkurang. Kedua, pada beberapa kasus, aktivasi awal yang terjadi secara tidak merata dapat justru mempercepat pembentukan kompleks koagulasi di area tertentu selama uji berlangsung, yang menyebabkan waktu APTT tampak lebih pendek dari seharusnya.

Sementara itu, pada perlakuan kedua, tabung natrium sitrat diambil setelah tabung EDTA. Tabung EDTA

mengandung *Ethylene Diamine Tetraacetic Acid* (EDTA), yaitu suatu antikoagulan kuat yang bekerja dengan cara mengikat ion kalsium secara permanen. Ion kalsium sendiri merupakan elemen esensial dalam berbagai tahapan aktivasi faktor koagulasi, seperti pembentukan kompleks tenase dan protrombinase. Tanpa ketersediaan ion kalsium, jalur koagulasi tidak dapat berlangsung secara normal. Jika tabung natrium sitrat diambil setelah tabung EDTA tanpa penggantian jarum, terdapat risiko kontaminasi silang, di mana sisa EDTA dari tabung sebelumnya terbawa ke dalam tabung natrium sitrat. Meskipun jumlah EDTA yang terbawa relatif kecil, sifatnya yang memiliki afinitas tinggi terhadap kalsium menjadikannya mampu mengikat kembali ion kalsium yang ditambahkan selama pemeriksaan APTT.

Dalam prosedur APTT, larutan kalsium klorida (CaCl_2) ditambahkan ke dalam plasma sitrat untuk mengembalikan kalsium yang sebelumnya diikat oleh natrium sitrat. Namun, apabila terdapat EDTA dalam sampel, ion kalsium yang seharusnya tersedia untuk mendukung aktivasi faktor pembekuan justru akan segera terikat oleh EDTA tersebut. Akibatnya, jumlah kalsium bebas menjadi sangat terbatas atau bahkan tidak tersedia sama sekali, sehingga proses pembekuan darah terganggu. Secara teoritis, kondisi ini akan menyebabkan pemanjangan waktu APTT, karena jalur koagulasi tidak dapat berfungsi secara optimal.

Namun, dalam penelitian ini ditemukan bahwa beberapa sampel justru menunjukkan waktu APTT yang lebih pendek dari nilai kontrol. Pemendekan ini tidak sesuai dengan teori yang ada, namun dapat dijelaskan oleh secara ilmiah yaitu EDTA yang terbawa kemungkinan dalam jumlah

yang sangat kecil, tidak cukup untuk mengikat seluruh ion kalsium yang ditambahkan selama pemeriksaan. Akibatnya, masih terdapat cukup kalsium bebas yang memungkinkan aktivasi jalur koagulasi berlangsung seperti biasa, bahkan dalam beberapa kasus dapat memicu respons pembekuan yang lebih cepat karena jalur pembekuan telah “tersentuh” oleh faktor-faktor lain. Reagen CK Prest yang digunakan dalam alat *Stago Start 4* memiliki sensitivitas tinggi terhadap faktor-faktor koagulasi, khususnya faktor XII. Reagen ini mengandung kaolin sebagai aktivator permukaan dan Cephalin sebagai pengganti membran trombosit. Dengan sensitivitas tinggi tersebut, reagen dapat memicu aktivasi jalur intrinsik secara cepat, bahkan bila kondisi plasma tidak sepenuhnya ideal. Sensitivitas ini memungkinkan waktu pembekuan yang lebih pendek dari biasanya. Alat *Stago Start 4* bekerja berdasarkan prinsip deteksi perubahan viskositas atau perubahan optik dalam plasma. Jika viskositas plasma berubah lebih cepat akibat faktor di atas (misalnya karena pencampuran yang tidak sempurna atau aktivasi awal), alat bisa salah menafsirkan perubahan tersebut sebagai tanda terbentuknya bekuan, meskipun sebenarnya pembekuan belum sepenuhnya terjadi. Hal ini bisa menghasilkan pembacaan waktu APTT yang lebih pendek dari nilai sebenarnya.

Reagen CK Prest dirancang untuk bekerja secara optimal pada plasma bebas interferensi, yaitu plasma yang tidak mengandung zat asing seperti partikel silika dari *clot activator* maupun sisa EDTA dari tabung antikoagulan. Dalam sistem pemeriksaan yang ideal, penambahan larutan kalsium klorida (CaCl_2) ke dalam plasma sitrat akan menggantikan ion kalsium yang sebelumnya diikat

oleh natrium sitrat, memungkinkan aktivasi berurutan dari faktor VIII, IX, dan X hingga terbentuknya bekuan fibrin. Namun, keberadaan kontaminan seperti EDTA atau silika dapat mengganggu sistem tersebut. EDTA berpotensi mengikat kembali ion kalsium yang telah ditambahkan, sehingga menghambat aktivasi faktor-faktor koagulasi. Sementara itu, partikel silika dari *clot activator* dapat menyebabkan aktivasi prematur faktor XII, yang mengakibatkan jalur koagulasi berjalan tidak sesuai dengan kondisi fisiologis normal. Akibatnya, proses pembekuan yang terukur oleh alat bisa menjadi lebih cepat atau lebih lambat dari nilai sebenarnya, tergantung pada jenis dan jumlah kontaminasi yang terjadi.

Hasil Penelitian ini relevan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Indevuyt *et al.*, (2015) dalam penelitiannya yang berjudul “*The Order of Draw: Much Ado About Nothing?*” melaporkan bahwa tidak ada pengaruh yang signifikan secara statistik terhadap hasil *prothrombin time* (PT) / *International Normalized Ratio* (INR). Hal yang sama berlaku untuk *activated partial thromboplastin time* (APTT) yang diukur pada tabung sitrat yang diambil setelah tabung heparin. Namun, terdapat bias kecil yang signifikan secara statistik pada APTT ketika tabung sitrat diambil sebagai tabung pertama, setelah tabung EDTA, atau setelah tabung serum dengan *clot activator*. Bias ini (maksimal 0,2 detik) dianggap tidak signifikan secara klinis, yang berarti bahwa perbedaan tersebut tidak akan memengaruhi perawatan pasien atau pengambilan keputusan klinis.

Temuan ini juga sejalan dengan beberapa studi sebelumnya yang juga meneliti efek order of draw terhadap beberapa pemeriksaan biokimia.

Penelitian yang dilakukan oleh Sulaiman *et al.*, (2011), yang berjudul “*Effect of Order of Draw Of Blood Samples During Phlebotomy On Routine Biochemistry Results*” juga mendukung bahwa urutan pengambilan darah tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap hasil pemeriksaan laboratorium. Dalam penelitiannya, dilakukan perbandingan hasil biokimia serum pada sampel yang diambil sebelum dan sesudah tabung EDTA menggunakan sistem *Sarstedt Safety Monovette*. Hasilnya menunjukkan bahwa EDTA tidak terdeteksi pada semua sampel serum, dan konsentrasi analit lain seperti kalium, natrium, kalsium, serta magnesium tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan antar kedua kelompok sampel. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa urutan pengambilan darah menggunakan sistem tersebut tidak memengaruhi hasil biokimia serum secara bermakna jika prosedur dilakukan oleh petugas yang berpengalaman.

Penelitian yang dilakukan oleh Saiful, (2024) dengan penelitian yang berjudul “Pengaruh *Order Of Draw* Pada Pengambilan Sampel Darah Terhadap Hasil Pemeriksaan Elektrolit” yang menyimpulkan bahwa tidak terdapat pengaruh yang signifikan *order of draw* pada pengambilan sampel darah menggunakan sistem tertutup terhadap hasil pemeriksaan elektrolit.

Hasil serupa juga di diperoleh oleh Salvagno *et al.*, (2013) dengan penelitian berjudul “*The Order of Draw: Myth or Science?*” yang melaporkan bahwa tidak ditemukan perbedaan yang signifikan antara tabung serum pertama dan kedua untuk semua parameter yang diuji. Analisis bias menggunakan metode *Bland-Altman* juga menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan bermakna secara statistik

ketika tabung serum diambil setelah tabung K₂EDTA atau tabung natrium sitrat. Hal ini menunjukkan bahwa urutan pengambilan darah tidak berpengaruh terhadap kualitas hasil pemeriksaan serum.

Meskipun hasil penelitian ini diperoleh dari populasi studi yang terdefinisi dengan baik sehingga perlu kehati-hatian dalam melakukan ekstrapolasi, temuan ini diperkuat oleh kesimpulan dari beberapa penelitian lain (Sulaiman *et al.*, 2011; Salvagno *et al.*, 2013) yang juga tidak menemukan adanya perpindahan aditif (misalnya EDTA) antar tabung darah yang berbeda, meskipun menggunakan sistem pengambilan darah dan populasi studi yang berbeda.

Temuan ini menunjukkan bahwa potensi kontaminasi silang atau *carryover* aditif dari tabung sebelumnya tidak cukup besar untuk menyebabkan perubahan nilai APTT yang signifikan secara klinis. Namun, penting untuk dicatat bahwa penelitian ini dilakukan pada individu sehat dan dalam kondisi laboratorium yang ideal. Dalam praktik klinis sehari-hari, terutama pada pasien dengan gangguan hemostasis seperti hemofilia, *Disseminated Intravascular Coagulation* (DIC), atau pasien yang menjalani terapi antikoagulan, perubahan kecil pada nilai APTT dapat memiliki dampak klinis yang lebih besar. Oleh karena itu, kehati-hatian tetap diperlukan dalam menafsirkan hasil pemeriksaan koagulasi pada populasi tersebut.

Secara keseluruhan, hasil dari berbagai penelitian ini menguatkan temuan bahwa meskipun urutan pengambilan darah secara teoritis dapat menyebabkan kontaminasi silang, praktik ini jarang menunjukkan dampak yang signifikan dalam kondisi laboratorium yang terkontrol. Namun, perlu dicatat bahwa sebagian besar

pedoman seperti CLSI H3-A5 atau versi terbarunya (CLSI GP41) masih menganjurkan urutan tertentu berdasarkan pertimbangan pencegahan, sehingga penelitian lebih lanjut tetap diperlukan untuk mengevaluasi apakah revisi terhadap pedoman tersebut diperlukan (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2017).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan tentang variasi *order of draw* terhadap kualitas hasil pemeriksaan *activated partial thromboplastin time* dapat disimpulkan bahwa:

1. Nilai APTT pada tabung natrium sitrat pertama (kontrol) yang diambil sesuai dengan urutan pengambilan darah menunjukkan nilai minimum 27,8 detik, maksimum 36,8 detik, dengan rata-rata sebesar 32,719 detik dan simpangan baku 2,3287. Hal ini menunjukkan bahwa pengambilan sampel dengan urutan yang benar memberikan hasil yang stabil dan tidak terpengaruh oleh kesalahan pra analitik.
2. Nilai APTT pada plasma sitrat yang diambil setelah tabung *clot activator* diperoleh nilai *p-value* sebesar 0,097 ($> 0,05$), maka H_0 diterima dan H_a ditolak, yang berarti tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara tabung kontrol dan tabung setelah *clot activator*.
3. Nilai APTT pada plasma sitrat yang diambil setelah tabung K_3 EDTA diperoleh nilai *p-value* sebesar 0,855 ($> 0,05$), maka H_0 diterima dan H_a ditolak, yang berarti tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara tabung kontrol dan tabung setelah EDTA.
4. Nilai APTT pada sampel plasma sitrat yang diambil setelah tabung

clot activator dan tabung EDTA, diperoleh nilai *p-value* masing-masing sebesar 0,097 dan 0,855. Karena kedua nilai tersebut lebih besar dari batas signifikansi 0,05, maka disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan secara statistik antara hasil pemeriksaan APTT pada sampel dengan urutan pengambilan darah yang sesuai dan yang tidak sesuai.

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat pengaruh yang signifikan dari variasi *order of draw* pada pengambilan sampel darah menggunakan sistem tertutup terhadap hasil pemeriksaan APTT. Meskipun terdapat perbedaan nilai APTT secara deskriptif ketika tabung natrium sitrat diambil setelah tabung *clot activator* maupun tabung K_3 EDTA, perbedaan tersebut tidak bermakna secara statistik.

Namun demikian, urutan pengambilan darah tetap direkomendasikan sesuai standar prosedur operasional (SPO) yang berlaku. Pedoman internasional seperti CLSI dan WHO menetapkan urutan pengambilan tabung darah untuk mencegah terjadinya kontaminasi silang zat aditif antar tabung, tanpa membedakan pendekatan yang digunakan antara sistem pengumpulan darah terbuka dan tertutup. Walaupun tidak ada petunjuk teknis yang secara eksplisit membedakan potensi pengaruh kedua sistem ini terhadap hasil pemeriksaan laboratorium, kenyataannya keduanya digunakan secara luas dalam praktik klinis di berbagai fasilitas layanan kesehatan. Oleh karena itu, konsistensi dalam menerapkan urutan pengambilan tabung darah tetap menjadi langkah penting untuk menjaga.

SARAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan serta kesimpulan yang diperoleh, peneliti menyadari bahwa penelitian ini masih memiliki keterbatasan. Oleh karena itu, peneliti memberikan beberapa saran yang diharapkan dapat menjadi masukan untuk praktik di lapangan maupun penelitian selanjutnya sebagai berikut:

1. Konsistensi penerapan *order of draw* harus dijadikan standar operasional wajib dalam setiap proses pengambilan darah untuk meminimalisasi risiko kontaminasi dan menjaga validitas hasil pemeriksaan laboratorium, yang pada akhirnya akan berkontribusi

DAFTAR PUSTAKA

- Bazzano, G. *et al.* 2021. The Order of Draw during Blood Collection: A Systematic Literature Review. *International journal of environmental research and public health*, 18(4), p. 1568.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. 2003. *Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture; Approved Standard (H3-A5)* (Fifth Edition). Wayne, PA: CLSI.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. 2017. *Collection of Diagnostic Venous Blood Specimens; Approved Guideline (CLSI document GP41)* (7th Edition). Wayne, PA: CLSI.
- Indevuyst, C. *et al.* 2015. The Order Of Draw: Much Ado About Nothing?. *International Journal Of Laboratory Hematology*, 37(1), pp. 50–55.
- pada keselamatan dan kualitas pelayanan pasien.
2. Perhatian juga harus diberikan pada aspek lain dalam proses pengambilan darah, termasuk teknik pengambilan, penanganan, dan penyimpanan sampel agar hasil pemeriksaan laboratorium dapat lebih optimal dan akurat.
 3. Untuk memperoleh gambaran yang lebih komprehensif, disarankan dilakukan penelitian lanjutan dengan cakupan sampel yang lebih luas dan populasi yang beragam guna mengevaluasi secara lebih mendalam pengaruh urutan pengambilan darah terhadap hasil pemeriksaan laboratorium.
- Kiswari, R. 2014. *Hematologi & Transfusi Darah*. Jakarta: Erlangga.
- Kitchen, S. *et al.* 2021. International Council for Standardisation in Haematology (ICSH) Recommendations For Collection Of Blood Samples For Coagulation Testing. *International Journal of Laboratory Hematology*, 43(4), pp. 571–580.
- Manik, S. E., dan Haposan, Y. 2021. Analisis Faktor-Faktor Flebotomi Pada Pemeriksaan Trombosit. *Babul Ilmi Jurnal Ilmiah Multi Science Kesehatan*, 13(1), pp. 86–94.
- Saiful. 2024. *Pengaruh order of draw pada pengambilan sampel darah terhadap hasil pemeriksaan elektrolit*. [Skripsi sarjana, Poltekkes Kemenkes Makassar]. Makassar: Poltekkes Kemenkes Makassar.
- Salvagno, G., Lima-Oliveira, G., Brocco, G., Danese, E., Guidi,

- G. C., and Lippi, G. 2013. The Order of Draw: Myth or Science? *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*, 51–12.
- Sari, I. 2023. Edukasi Pengaruh Volume Sampel Darah Pada Teknik Flebotomi Terhadap Pemeriksaan Laboratorium. *Khidmah*, 5(1), pp. 116–123.
- Sulaiman, R. *et al.* 2011. Effect of Order Of Draw Of Blood Samples During Phlebotomy On Routine Biochemistry Results. *Journal of Clinical Pathology*, 64(11), pp. 1019–20.