



DISCREPANCY INR VALUE (INTERNATIONAL NORMALIZED RATIO) IN OPTICAL AND ELECTROMECHANICAL METHOD

PERBEDAAN NILAI INR (INTERNATIONAL NORMALIZED RATIO) METODE FOTO OPTIK DAN METODE ELEKTROMEKANIK

Putri Adelia Y.^{1*}, Paulus B. Notopuro²

¹ Student of Medical Technology Laboratory, Department of Health, Faculty of Vocational Studies, Universitas Airlangga, Surabaya-Indonesia.

² Department of Clinical Pathology, Faculty of Medicine, Universitas Airlangga, Surabaya-Indonesia.

Research Report
Penelitian

ABSTRACT

Background: INR examination services at laboratories in hospitals and clinics use different methods and tools therefore can the results of the INR examination are different. **Purpose:** To determine whether there are differences in the INR value between using the photo-optic method and electromechanical method. **Method:** This study used a citrate blood sample with a ratio of blood and anticoagulant 9: 1 and used the Sysmex CA-600 device for the photo-optic method and used the thrombostat device for the electromechanical method. The sample consisted of 32 samples, namely 10 treatment samples to be analyzed and 22 normal samples. Using SPSS 25.0 to test data that was tested for normality test and in a different test. **Result:** The result of INR with the electromechanical method was significantly longer than INR with the photo-optic method. In the hemolytic sample, the result was significantly higher than the INR result with normal samples. **Conclusion:** There are significant differences between results of the INR value using photo-optic and electromechanical due to the difference in the detection principle between the two methods.

ABSTRAK

Latar belakang: Layanan pemeriksaan INR pada laboratorium di rumah sakit dan klinik menggunakan metode dan alat yang berbeda sehingga hasil pemeriksaan INR berbeda. **Tujuan:** Untuk mengetahui adakah perbedaan hasil nilai INR antara menggunakan metode foto-optik maupun metode elektromekanik. **Metode:** Penelitian ini menggunakan sampel darah sitrat dengan perbandingan darah dan antikoagulan 9:1 serta alat Sysmex CA-600 untuk metode foto-optik dan alat trombostat untuk metode elektromekanik. Sampel terdiri dari 32 sampel yakni 10 sampel dilisiskan dan 22 sampel normal. Menggunakan SPSS 25.0 untuk menguji data yang diuji normalitas dan diuji beda. **Hasil:** Hasil nilai INR menggunakan metode elektromekanik adalah memanjang secara signifikan dibandingkan dengan hasil INR menggunakan metode foto-optik. Pada sampel hemolisis menunjukkan hasil yang lebih tinggi dibandingkan dengan sampel normal. **Kesimpulan:** Antara hasil nilai INR yang menggunakan metode foto-optik dan metode elektromekanik terdapat perbedaan yang bermakna dikarenakan prinsip deteksi kedua metode yang berbeda.

ARTICLE INFO

Received 08 June 2020

Revised 19 April 2021

Accepted 08 June 2021

Online 31 July 2021

Correspondence:

Putri Adelia

E-mail :

putriadelaiy22@gmail.com

Keywords:

INR value, Photo-optic method, Electromechanical method

Kata kunci:

Nilai INR, Metode foto-optik, Metode elektromekanik

PENDAHULUAN

INR (*International Normalized Ratio*) sebagai pedoman dalam melakukan terapi antikoagulan dan sering digunakan untuk pengukuran masa protrombin. Sampel plasma nitrat digunakan dalam pemeriksaan INR, agar hasil pemeriksaan laboratorium valid. Menurut pemaparan McPherson and Pincus (2011) bahwa terdapat beberapa alasan penyebab hasil pemeriksaan tidak valid karena menggunakan sampel tidak layak antara lain untuk tes hematologi dan koagulasi yang disebabkan sampel membeku dan tes hemolisis, koagulasi, lipemia dan ikterus pada plasma dan serum yang disebabkan volume sampel tidak mencukupi sehingga mengakibatkan terjadinya interferensi pemeriksaan laboratorium.

Layanan pemeriksaan INR telah tersedia di beberapa laboratorium pada rumah sakit dan klinik namun berbeda dalam hal penggunaan metode dan alat. Alat semi-otomatis masih banyak digunakan pada laboratorium klinik sedangkan pada laboratorium rumah sakit telah menggunakan alat otomatis. Keuntungan menggunakan alat otomatis pada analisis koagulasi adalah dapat memproses banyak sampel secara bersamaan sehingga dapat mengurangi tenaga laboran dalam melakukan tugas dan meminimalisir gangguan manual.

Mengenai keunggulan metode foto-optik dan metode elektromekanik, beberapa studi dan penelitian telah membandingkan kedua metode tersebut. Menurut Dorn-Beineke et al. (2005) menunjukkan bahwa metode elektromekanik memiliki keunggulan yakni tidak terpengaruh oleh sampel keruh dalam sampel ikterik dan hemolitik serta kasus lipemik. Sedangkan pada studi lain, menunjukkan bahwa metode foto-optik memiliki keunggulan pada kasus disfibrirogenemia oleh mutasi familial secara klinis (Lefkowitz et al., 2020) dan pada indikasi pasien sepsis yang mencurigakan terhadap bentuk gelombang bifasik (Toh et al., 2003).

MATERIAL DAN METODE

Penelitian dilakukan dengan cara pengambilan data hasil INR, dengan pemeriksaan menggunakan metode foto-optik di RSUD Haji Surabaya dan menggunakan metode elektromekanik di Laboratorium Ultra Medica pada 10 Februari – 05 Maret 2020. Sampel yang digunakan untuk penelitian yaitu sampel darah pasien yang melakukan pemeriksaan INR di RSUD Haji dari segala umur dan jenis kelamin tidak ditentukan. Sampel menggunakan darah dengan antikoagulan natrium sitrat 3,2% dengan perbandingan darah dan antikoagulan 9:1. Jumlah sampel yang diteliti yaitu 32 sampel, 10 sampel dilisiskan dan 22 sampel normal. Sampel hemolisis didapatkan dengan menambahkan

200 µl akuades pada tabung vakum sampel sitrat. Kemudian sampel dikocok kuat lalu disentrifuge selama 15 menit dengan kecepatan 3500 rpm. Sampel yang didapat, dilakukan pemeriksaan INR menggunakan alat *Sysmex CA-600 Series* untuk metode foto-optik dan menggunakan alat trombostat untuk metode elektromekanik.

Pemeriksaan INR menggunakan metode foto-optik dengan alat *Sysmex CA-600 Series*, dilakukan dengan meletakkan plasma dengan antikoagulan sodium sitrat pada rak sampel dengan posisi tutup tabung dilepas. Rak sampel diletakkan pada *tray* kemudian klik *order* lalu *order entry* dan masukkan sampel ID pasien. Pilih pemeriksaan INR klik panah bawah untuk pasien berikutnya kemudian klik "OK".

Pemeriksaan INR menggunakan metode elektromekanik dengan alat trombostat, dilakukan dengan menambahkan *stirr ball* pada kuvet. Selama 50 detik, inkubasi 50 µl sampel pada suhu ruang dan ditambahkan 100 µl reagen thromboplastin lalu inkubasi pada suhu 37°C kemudian klik "Start". Selanjutnya mencatat waktu pembekuan data, hasil pemeriksaan menggunakan metode foto-optik dibandingkan dengan hasil pemeriksaan menggunakan metode elektromekanik, kemudian analisis menggunakan program SPSS 25.0 dengan melakukan uji normalitas dan uji beda. Data yang didapat, terdistribusi tidak normal sehingga dilanjutkan analisis statistik menggunakan uji *Wilcoxon* dengan taraf signifikansi (*p-value*) yang digunakan adalah 0,05.

HASIL

Sampel yang diperiksa sebanyak 32 sampel merupakan sampel acak dari pasien yang memeriksakan INR di RSUD Haji. Untuk mengetahui apakah data terdistribusi normal atau tidak, maka data pemeriksaan diuji normalitas metode *Lilliefors* kemudian diuji beda *Wilcoxon* untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan data hasil antara metode foto-optik dan metode elektromekanik.

Tabel 1, menunjukkan hasil uji normalitas pada 22 sampel normal menggunakan metode foto-optik dan metode elektromekanik. Hasil pemeriksaan INR menggunakan metode foto-optik didapatkan signifikansi (*p-value*) sebesar 0.002. Diketahui bahwa nilai signifikansi <0.05, artinya data hasil pemeriksaan INR menggunakan metode foto-optik berdistribusi tidak normal. Sedangkan hasil pemeriksaan INR menggunakan metode elektromekanik didapatkan nilai signifikansi (*p-value*) sebesar 0.468. Diketahui bahwa nilai signifikansi >0.05, artinya data hasil pemeriksaan INR menggunakan metode elektromekanik berdistribusi normal.

Tabel 1. Hasil uji normalitas pada 22 sampel normal*Tests of normality*

Metode	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Metode foto-optik	.216	22	.009	.835	22	.002
Metode elektromekanik	.134	22	.200*	.959	22	.468

*. This is a lower bound of the true significance

a. Lilliefors Significance Correction

Tabel 2. Hasil uji normalitas pada 10 sampel hemolisis*Tests of normality*

Metode	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Metode foto-optik	.320	10	.004	.773	10	.007
Metode elektromekanik	.195	10	.200*	.916	10	.325

*. This is a lower bound of the true significance

a. Lilliefors Significance Correction

Tabel 3. Hasil uji Wilcoxon pada 22 sampel normal*Test Statistics^a*

Z	Elektromekanik – Foto optik
	-4.107b
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000

a. Wilcoxon signed ranks test

b. Based on negative ranks

Tabel 4. Hasil uji Wilcoxon pada 10 sampel hemolisis*Test Statistics^a*

Z	Elektromekanik – Foto optik
	-2.805b
Asymp. Sig. (2-tailed)	.005

Pada hasil uji normalitas 10 sampel hemolisis yang disajikan melalui Tabel 2, hasil pemeriksaan INR menggunakan metode foto-optik didapatkan nilai signifikansi sebesar 0.007. Diketahui bahwa nilai signifikansi <0.05, artinya data hasil pemeriksaan INR menggunakan metode foto-optik berdistribusi tidak normal. Sedangkan pada hasil pemeriksaan INR menggunakan metode elektromekanik, didapatkan nilai signifikansi sebesar 0.325. Diketahui bahwa nilai signifikansi >0.05, artinya data hasil pemeriksaan INR menggunakan metode elektromekanik berdistribusi normal.

Adapun hasil uji Wilcoxon sampel normal yang disajikan melalui Tabel 3 dan Tabel 4, diperoleh nilai signifikansi sebesar 0.000 sedangkan pada sampel hemolisis diperoleh nilai signifikansi sebesar 0.005.

Keduanya memperoleh nilai signifikansi <0.05 sehingga keputusan hipotesis yakni menerima H1 atau terdapat perbedaan yang bermakna antara metode foto-optik dengan metode elektromekanik pada sampel normal maupun hemolisis.

PEMBAHASAN

Metode manual, metode foto-optik dan metode elektromekanik dapat digunakan pada pemeriksaan INR. Metode manual sudah lama ditinggalkan karena memiliki nilai bias individu yang besar. Metode foto-optik dan metode elektromekanik merupakan dua metode yang dapat diterapkan dalam penggunaan alat otomatis saat pemeriksaan INR. Menurut Bai *et al.*, (2008)

terdapat perbedaan terhadap kedua metode tersebut berdasarkan deteksi bekuan optik dan mekanik. Selama proses koagulasi, metode foto-optik yang memiliki fotodiode menerima perubahan intensitas cahaya kemudian akan mendeteksi perubahan kekeruhan plasma. Sedangkan metode elektromekanik, saat terbentuk gumpalan maka helai fibrin akan terbentuk sehingga gerakan bola dapat diubah dan dideteksi oleh sensor magnetik. Hal ini sesuai prinsip elektromekanik yakni melibatkan pergerakan bola stainless pada kuvet seiring peningkatan viskositas plasma akibat penambahan reagen menggunakan sensor magnetik yang membutuhkan waktu dalam hitungan detik hingga titik akhir koagulasi. Dari penjelasan tersebut, menghasilkan tes akhir relatif rendah atau nol karena kemungkinan kekeruhan plasma mempengaruhi.

Pemeriksaan INR menggunakan metode foto-optik dilakukan menggunakan alat *Sysmex CA- 600 Series*. Kelebihan yang diperoleh adalah meringankan petugas laboratorium apabila terdapat banyak sampel untuk pemeriksaan INR sedangkan kekurangannya terdapat pada sampel rusak seperti hemolisis yang menyebabkan eritrosit plasma berwarna merah. Menurut Howanitz *et al.* (2015) perubahan warna pada serum dapat mengganggu pengukuran panjang gelombang dan pembauran cahaya yang disebabkan oleh substansi-substansi pengganggu sehingga menyebabkan gangguan kromoforik pada analisa fotometri.

Pemeriksaan INR menggunakan metode elektromekanik dilakukan dengan alat trombostat. Alat ini termasuk alat semi-otomatis. Kelebihan pada metode elektromekanik adalah tidak terpengaruh oleh sampel rusak karena tidak bergantung pada intensitas cahaya. Fakta dari penelitian jurnal yang meneliti efek sampel rusak pada alat elektromekanik adalah pada sampel ikterik dan lipemik yang diperiksa tidak memberikan efek yang signifikan pada pemeriksaan. Berbeda dengan sampel hemolisis yang memberikan efek yang signifikan pada pemeriksaan koagulasi, sehingga sampel lisis harus ditolak. Hal ini disebabkan, pecahnya sel darah merah yang akan menyebabkan aktivasi fosfolipid dari membran sel sehingga dapat mempercepat reaksi koagulasi (Woolley *et al.*, 2016).

Sel darah merah memiliki membran sel yang terdiri dari tiga komponen besar yaitu dua lapis lipid yang tersusun dari fosfolipid dan kolesterol yang tidak teresterifikasi, juga protein integral atau protein yang melintasi membran dan tertanam di dalam lapisan lemak, yang terakhir yaitu sitoskeleton yang fungsinya sebagai penyangga membran sel. Lebih kurang 95% lemak membran tersusun atas fosfolipid dan kolesterol, ini merupakan bagian terbanyak dari penyusun membran sel (Marchesi *et al.*, 1976). Pada sampel lisis, sel darah merah pecah dan fosfolipid pada membran sel darah merah akan keluar dan terkandung pada plasma.

Fosfolipid merupakan agen thrombogenik yang dapat menyebabkan aktivasi koagulasi, sehingga fosfolipid pada plasma sampel hemolisis akan bersaing dengan reagen thromboplastin dalam pengaktifan FVII menjadi FVIIa. Pada pasien yang melakukan terapi heparin, pada sampel hemolisis, selain pecahnya sel darah merah juga pecahnya trombosit. Pecahnya trombosit dapat melepaskan FIV (Faktor 4) yang dapat menetralkan fungsi heparin, sehingga akan memperpendek waktu pembekuan (Laga *et al.*, 2006). Kekurangan metode elektromekanik yaitu adanya kemungkinan kesalahan dari petugas laboratorium pada saat pemipetan atau peletakan kuvet yang tidak tepat.

Berdasarkan hasil uji beda pada sampel normal didapatkan nilai 0.000 yang berarti terdapat perbedaan bermakna antara kedua metode. Hal tersebut dapat diakibatkan karena hasil INR pada metode elektromekanik yang memanjang (penundaan sampel). Salah satu faktor penyebabnya yaitu adanya jeda pada pemeriksaan dengan metode elektromekanik. Pada hasil uji beda sampel hemolisis, didapatkan nilai 0.005. Hasil ini lebih besar dari pada hasil dengan sampel normal pada kedua metode. Hal ini menunjukkan sampel hemolisis dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan pada metode foto- optik maupun metode elektromekanik.

Menurut Sukorini dkk. (2010) terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi presisi atau ketelitian pemeriksaan yakni metode pemeriksaan, alat, kadar bahan yang diperiksa atau volume, tenaga pemeriksa dan waktu pengulangan. Faktor lainnya yaitu adanya penundaan pemeriksaan darah sitrat sehingga harus segera dilakukan pemeriksaan selambat-lambatnya 2 jam setelah pengambilan. Mulai waktu koleksi sampel hingga pemeriksaan yang dilakukan dengan metode foto-optik. Setelah itu, sampel didistribusikan menuju laboratorium untuk diperiksa dengan menggunakan metode elektromekanik. Terdapat kemungkinan sampel yang diperiksa melebihi waktu maksimal ideal diperiksa yaitu lebih dari dua jam.

Apabila ditinjau dari segi presisi (ketelitian) dan akurasi (ketepatan), penggunaan alat otomatis lebih tinggi dari pada alat semi otomatis. Pada metode otomatis pengerjaan efektif dan cepat dan kelebihan lainnya yaitu ketepatan pemipetan volume sampel yang dibutuhkan dibandingkan dengan pemipetan manual pada alat semi otomatis karena pemipetan juga bergantung dengan petugas laboran. Dari pemaparan tersebut, maka dapat dikatakan bahwa untuk pelayanan dengan menggunakan kedua alat tersebut dapat dilakukan dengan melakukan perawatan harian dan kalibrasi yang baik.

Keterbatasan dari penelitian ini yaitu pada sampel yang diberi perlakuan (dilisisikan), kadar hemolisis tidak diukur dan hanya sebatas pengamatan visual, sehingga peneliti tidak tahu derajat hemolisisnya. Perlu

ditambahkan pengukuran Hb plasma (Hb bebas) untuk menyeragamkan derajat hemolisisnya. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dengan jumlah 32 sampel pasien di Rumah Sakit Umum Haji yakni 22 dengan sampel normal dan 10 sampel yang telah diberi perlakuan (dilisiskan) dan diperiksa dengan dua metode yaitu metode foto-optik dan metode elektromekanik. Keduanya mendapat nilai kurang dari taraf signifikansi yaitu 0.05 yang berarti pada sampel normal maupun sampel lisis terdapat perbedaan nilai yang berarti pada pemeriksaan INR metode foto-optik dan metode elektromekanik.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian hasil pemeriksaan INR yang dilakukan pada sampel darah sitrat dengan metode foto-optik dan metode elektromekanik diperoleh hasil bahwa antara kedua metode pemeriksaan INR pada sampel normal maupun hemolisis terdapat perbedaan yang bermakna.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti berterima kasih kepada Departemen Patologi Klinik RSUD Haji Surabaya yang telah memberikan fasilitas penelitian, dosen pembimbing Paulus Budiono Notopuro, dr., Sp.PK dan segenap keluarga, teman penulis yang telah memberikan semangat dan motivasi. Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan dengan pihak-pihak yang terkait dengan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Bai, B., Christie, D.J., Gorman, R.T., Wu, J.R., 2008. Comparison of Optical and Mechanical Clot Detection for Routine Coagulation Testing in A Large Volume Clinical Laboratory. *Blood Coagulation & Fibrinolysis* 19, 569–576.
- Dorn-Beineke, A., Dempfle, C.-E., Bertsch, T., Wisser, H., 2005. Evaluation of The Automated Coagulation Analyzer Sysmex CA-7000. *Trombos. Res.* 116, 171–179.
- Howanitz, P.J., Lehman, C.M., Jones, B.A., Meier, F.A., Horowitz, G.L., 2015. Clinical Laboratory Quality Practices When Hemolysis Occurs. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 139, 901–906.
- Laga, A.C., Cheves, T.A., Sweeney, J.D., 2006. The Effect of Sample Hemolysis on Coagulation Test Results. *Am. J. Clin. Pathol.* 126, 748–755.
- Lefkowitz, J.B., DeBoom, T., Weller, A., Clarke, S., Lavrinets, D., 2020. Fibrinogen Longmont: A Dysfibrinogenemia that Causes Prolonged Clot-based Test Results Only When Using An Optical Detection Method. *Am. J. Hematol.* 63, 149–155.
- Marchesi, V.T., Furthmayr, H., Tomita, M., 1976. The Red Cell Membrane. *Annu. Rev. Biochem.* 45, 667–698.
- McPherson, R., Pincus, M., 2011. *Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*, 22nd ed. Elsevier Health Sciences.
- Sukorini, U., Nugroho, D.K., Rizki, M., Hendriawan, P.J.B., 2010. *Pemantapan Mutu Internal Laboratorium Klinik*. Kanal Medika dan Alfamedia Citra, Laboratorium Yogyakarta.
- Toh, C.H., Ticknor, L.O., Downey, C., Giles, A.R., Paton, R.C., Wenstone, R., 2003. Early Identification Of Sepsis And Mortality Risks Through Simple, Rapid Clotwafeform Analysis. Implications Of Lipoprotein-Complexed C Reactive Protein Formation. *Intensive Care Med.* 29, 55–61.
- Woolley, A., Golmard, J.-L., Kitchen, S., 2016. Effect Of Haemolysis, Icterus And Lipaemia on Coagulation Test as Performed on Stago STA-Cmpact Max Analyser. *Int. J. Lab. Hematol.* 38, 375–388.