

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Pemantapan Mutu Internal

Pemantapan mutu (*quality assurance*) laboratorium kesehatan adalah semua kegiatan yang dilakukan untuk menjamin ketelitian dan ketepatan hasil pemeriksaan laboratorium (Departemen Kesehatan RI, 2008). Kegiatan pemeriksaan laboratorium bertujuan untuk menghasilkan hasil pemeriksaan laboratorium klinik yang berkualitas. Hasil pemeriksaan yang dikeluarkan oleh laboratorium harus memenuhi standar mutu sehingga dapat dipertahankan secara ilmiah agar dapat dipercaya dan memuaskan pelanggan dengan memperhatikan aspek-aspek teknis seperti ketepatan (*accuracy*), ketelitian (*precision*) yang tinggi, dan serta didokumentasikan dengan baik. Kegiatan pemantapan mutu (*quality assurance*) terdiri dari pemantapan mutu internal (PMI) dan pemantapan mutu eksternal (PME) atau uji profisiensi (Siregar dkk., 2018).

Pemantapan mutu internal adalah kegiatan pencegahan dan pengawasan agar tidak terjadi atau mengurangi kejadian eror/penyimpangan yang dilaksanakan oleh masing-masing laboratorium secara terus-menerus sehingga diperoleh hasil pemeriksaan yang tepat (Departemen Kesehatan RI, 2008). Pemantapan mutu internal (PMI) laboratorium dilakukan setiap hari untuk memantau hasil pemeriksaan laboratorium dan mengidentifikasi ketidaksesuaian sehingga dapat segera

diperbaiki. Manfaat melaksanakan kegiatan pemantapan mutu internal laboratorium antara lain meningkatkan mutu presisi maupun akurasi hasil laboratorium, meningkatkan kepercayaan dokter terhadap hasil laboratorium, dan memudahkan pimpinan laboratorium akan pengawasan terhadap hasil laboratorium (Siregar dkk., 2018).

Cakupan objek pemantapan mutu internal meliputi aktivitas tahap pra-analitik, tahap analitik dan tahap pasca-analitik (Kementerian Kesehatan RI, 2013). Agar mendapatkan hasil pemeriksaan yang berkualitas tinggi, mempunyai ketelitian dan ketepatan sehingga membantu klinisi dalam rangka menegakkan diagnosa, pengobatan, atau pemulihan kesehatan pasien yang ditanganinya, ketiga tahap kegiatan laboratorium ini sama-sama penting untuk dilaksanakan sebaik mungkin (Siregar dkk., 2018). Tipe kesalahan yang mempengaruhi hasil laboratorium dari tahap pra analitik terdiri dari ketausahaan (*clerical*), persiapan penderita (*patient preparation*), pengumpulan spesimen (*specimen collection*), dan penanganan sampel (*sampling handling*). Sedangkan, dari tahap analitik yaitu reagen (*reagents*), peralatan (*instruments*), kontrol & bakuan (*control & standard*), metode analitik (*analytical method*), dan ahli teknologi (*technologist*). Adapun dari tahap pasca analitik yaitu perhitungan (*calculation*), cara menilai (*method evaluation*), ketatausahaan (*clerical*), dan penanganan informasi (*information handling*) (Sukorini dkk., 2010).

2. Bahan-bahan Laboratorium

Semua bahan yang diolah atau digunakan di laboratorium untuk pengujian, kalibrasi, dan pelayanan masyarakat disebut sebagai bahan laboratorium (Siregar dkk., 2018). Bahan-bahan yang sering digunakan dalam pemeriksaan kimia klinik meliputi reagen, standar, dan bahan kontrol.

a. Reagen

Reagen atau pereaksi adalah zat yang digunakan untuk tujuan analitis atau berperan dalam reaksi kimia. Zat kimia dengan kemurnian yang cukup untuk analisis atau percobaan juga disebut sebagai reagen (Rahmat, 2015).

Jenis-jenis reagen yaitu reagen kimia basah (*wet chemistry*) dan reagen kimia kering (*dry chemistry*). Reagen basah biasanya berupa liofisolat, bubuk, dan siap dipakai. Sedangkan reagen kering berupa cip, strip, dan *catridge* yang siap pakai (Kementerian Kesehatan RI, 2010). Menurut cara pembuatannya, reagen dibedakan menjadi reagen buatan sendiri dan reagen jadi/komersial (Departemen Kesehatan RI, 2008). Reagen komersial adalah reagen buatan pabrik dan direkomendasikan sebagai pilihan pertama. Jika reagen komersial tidak tersedia, reagen buatan sendiri dapat digunakan (Siregar dkk., 2018).

Berdasarkan Keputusan Menteri Kesehatan RI No. 1792/MENKES/SK/XII/2010 sebelum digunakan untuk pemeriksaan harus diperhatikan kondisi reagen meliputi:

- 1) Ijin edar dari Kementerian Kesehatan RI
- 2) Etiket/label/wadah
- 3) Tanggal produksi dan nomor *batch* reagen
- 4) Batas kadaluarsa
- 5) Stabilitas reagen
- 6) Keadaan fisik reagen
- 7) Kemasan reagen, wadah harus utuh, isi tidak mengeras, dan tidak ada perubahan warna
- 8) Suhu penyimpanan

b. Standar

Standar adalah zat-zat yang dengan cara penimbangan dapat diketahui dan diperoleh konsentrasi atau kemurniannya serta merupakan zat termurni dalam kelasnya, yang menjadi standar untuk semua zat lain. Kemurnian standar primer biasanya >99. Standar sekunder merupakan zat-zat yang melalui analisis dengan perbandingan terhadap standar primer untuk menetapkan konsentrasi dan kemurniannya ditetapkan (Siregar dkk., 2018).

c. Bahan kontrol

Bahan kontrol adalah bahan yang digunakan untuk mengawasi kualitas pemeriksaan harian atau untuk memantau ketepatan dan ketelitian suatu pemeriksaan (Kementerian Kesehatan RI, 2010).

3. Penyimpanan Reagen

Penyimpanan bahan laboratorium termasuk reagen harus diperhatikan untuk menjaga stabilitas reagen. Reagen yang sudah dibuka masa stabilitasnya menjadi lebih pendek dibandingkan dengan reagen yang belum dibuka (Kementerian Kesehatan RI, 2010).

Kaidah perputaran pemakaian reagen di laboratorium menurut Peraturan Kementerian Kesehatan RI No. 43 Tahun 2013 Tentang Cara Penyelenggaraan Laboratorium Klinik Yang Baik sebagai berikut:

- a. Pertama masuk pertama keluar (FIFO: *first in-first out*)

Barang yang lebih dahulu masuk persediaan harus digunakan lebih dahulu.

- b. Masa kadaluarsa pendek dipakai dahulu (FEFO: *first expired-first out*).

Hal ini adalah untuk menjamin barang tidak rusak akibat penyimpanan yang terlalu lama.

Penyimpanan reagen dapat dilakukan pada suhu ruang dan suhu kulkas (2 – 8°C). Menurut Dasgupta dan Sepulveda (2013) suhu yang lebih rendah umumnya meningkatkan stabilitas analit, tetapi perlu diingat bahwa suhu tertentu tidak cocok untuk semua analit. Panas yang ekstrim dapat mengubah sifat protein dan dapat mengurangi aktivitas enzim.

Hal-hal khusus yang harus diperhatikan dalam penyimpanan reagen jadi atau reagen komersial sebagai berikut:

- a. Penyimpanan dengan botol tertutup
- b. Tidak terkena sinar matahari langsung

- c. Disimpan dalam botol berwarna gelap untuk reagen tertentu
- d. Beberapa reagen tidak boleh diletakkan pada tempat yang berdekatan satu dengan lainnya
- e. Bahan-bahan yang berbahaya diletakkan di bagian bawah/lantai dengan label tanda bahaya
- f. Terdapat kartu stok yang memuat tanggal penerimaan, tanggal kadaluarsa, tanggal wadah reagen dibuka, jumlah reagen yang diambil, dan jumlah reagen sisa serta paraf tenaga pemeriksa yang menggunakan.

4. Enzim Alanin Aminotransferase (ALT)

a. Definisi Enzim

Enzim adalah protein yang bertindak sebagai biokatalis, zat yang mempercepat reaksi kimia. Enzim adalah biokatalis organik yang tersusun dari protein atau senyawa yang berikatan dengan protein yang diproduksi di protoplasma organisme hidup. Karakteristik enzim adalah bekerja secara khas terhadap suatu substrat tertentu. Enzim bertindak sebagai katalis untuk proses biokimia yang terjadi di dalam sel dan reaksi kimia yang terjadi di luar sel. Enzim bekerja dengan cara bereaksi dengan molekul substrat untuk menghasilkan senyawa intermediet melalui suatu reaksi kimia organik yang membutuhkan energi aktivasi lebih rendah, sehingga percepatan reaksi kimia terjadi karena reaksi kimia dengan energi aktivasi lebih tinggi membutuhkan waktu lebih lama (Wahyudiati, 2017).

Menurut Ischak, dkk (2017), enzim dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu: konsentrasi enzim, konsentrasi substrat, suhu, ph, dan pengaruh inhibitor.

1) Konsentrasi enzim

Penambahan enzim meningkatkan laju reaksi ketika konsentrasi enzim lebih rendah dari konsentrasi substrat, Peningkatan laju reaksi ini terjadi secara linear yang berarti bahwa kecepatan reaksi enzimatik berbanding lurus dengan konsentrasi enzim (Wahyudiati, 2017).

2) Konsentrasi substrat

Penambahan konsentrasi substrat dengan konsentrasi enzim yang tetap akan menaikkan kecepatan reaksi. Bagian aktif dari enzim hanya menampung sedikit substrat pada konsentrasi substrat yang rendah. Bila konsentrasi substrat diperbesar, makin banyak substrat yang dapat berhubungan dengan enzim pada bagian aktif tersebut. Akibatnya, konsentrasi kompleks enzim-substrat meningkat dan menyebabkan kecepatan reaksi meningkat. Namun, pada batas konsentrasi tertentu tidak terjadi kenaikan kecepatan reaksi walaupun konsentrasi substrat diperbesar (Ischak dkk., 2017).

3) Suhu

Setiap enzim memiliki suhu optimal dimana enzim memiliki aktivitas maksimalnya. Tumbukan antara enzim dan substrat terjadi pada kecepatan maksimal dan pada suhu optimal. Enzim

terdenaturasi pada suhu jauh di atas suhu optimalnya, mempengaruhi bentuk, struktur, dan fungsinya. Enzim tidak aktif pada suhu jauh di bawah suhu optimal seperti 0°C (Wahyudiati, 2017).

Kenaikan suhu pada umumnya akan menyebabkan energi kinetik dari molekul-molekul yang bereaksi menjadi semakin besar sehingga menyebabkan kecepatan suatu reaksi kimia menjadi bertambah besar. Enzim merupakan suatu protein, perubahan struktur molekul protein disebabkan karena suhu yang tinggi (Handajani dkk., 2019).

4) Pengaruh pH

Enzim bekerja dipengaruhi oleh derajat keasaman lingkungan seperti protein. Enzim bekerja pada pH optimum, umumnya mendekati pH netral, sekitar 6 – 8. Kerja enzim dapat terganggu bahkan dapat terdenaturasi di luar rentang tersebut. Enzim akan mengalami denaturasi dan tidak dapat bekerja secara maksimal pada pH jauh di atas pH optimum (Wahyudiati, 2017).

5) Inhibitor

Apabila penggabungan substrat pada bagian enzim dihambat, hambatan atau inhibisi pada suatu reaksi yang menggunakan enzim sebagai katalis dapat terjadi. Inhibitor adalah molekul atau ion yang dapat menghambat reaksi tersebut (Ischak dkk., 2017).

b. Pengertian Enzim *Alanin Aminotransferase (ALT)*

Penanda nekrosis hepatoseluler yang paling umum dan spesifik adalah aminotransferase (sebelumnya transaminase). Aminotransferase mengkatalisis transfer asam alfa amino dari aspartat dan alanin ke kelompok alfa keto dari asam alfa ketoglutarat (Fristiohady & Ruslin, 2020).

Alanin Aminotransferase (ALT) atau *Serum Glutamic Pyruvate Transaminase (SGPT)* adalah enzim yang banyak ditemukan pada sel hati yang efektif untuk mendiagnosis kerusakan hepatoselular. Enzim ini ditemukan di otot jantung, ginjal, dan otot rangka dalam jumlah kecil. Secara umum, nilai tes ALT lebih tinggi daripada AST/SGOT pada kerusakan parenkim hati akut, sedangkan pada proses kronik didapat sebaliknya (Ulfiyah, 2021).

Enzim ini tersebar tersebar luas di berbagai jaringan. ALT juga ditemukan dalam beberapa cairan tubuh selain darah, seperti LCS, empedu, dan saliva. Namun, enzim ini tidak terdapat pada urin, kecuali jika terjadi kerusakan pada ginjal (Sadikin, 2002). Ketika terjadi cedera pada hati, ALT dilepaskan dari sel-sel hati yang terluka dan menyebabkan peningkatan yang signifikan aktivitas ALT dalam serum (Liu dkk., 2014).

Alanin ditransfer ke hati dan diubah menjadi piruvat, yang kemudian digunakan untuk menghasilkan glukosa melalui jalur glukoneogenesis. Selama tahap pasca absorpsi, alanin adalah asam

amino terpenting yang diproduksi oleh otot rangka dan diekskresikan oleh hati untuk membuat glukosa (Andany dkk., 2016).

c. Mekanisme *Alanin Aminotransferase* (ALT)

Enzim ALT ini mengkatalisis reaksi pemindahan gugus -NH dari asam amino alanin menjadi asam alfa-ketoglutarat. Hasilnya terbentuk asam keto yang lain, berasal dari alanin yaitu asam piruvat dan asam amino yang lain, sedangkan yang berasal dari asam α -ketoglutarat, yaitu asam glutamat. Sebagai koenzim, reaksi ini memerlukan vitamin B₆ fosfat. Enzim yang terdapat pada serum adalah bentuk holoenzim (Sadikin, 2002).



d. Faktor yang Mempengaruhi *Alanin Aminotransferase* (ALT) dalam Darah

Menurut Fristiohady dan Ruslin (2020) peningkatan enzim ALT pada serum dapat terjadi pada:

1) Peningkatan lebih dari 20 kali

Peningkatan tertinggi terjadi pada hepatitis virus yang parah, obat atau racun yang menginduksi nekrosis hati dan syok sirkulasi.

2) Peningkatan 3 - 20 kali

Terjadi pada kondisi hepatitis akut, hepatitis neonatal, hepatitis kronis, hepatitis autoimun, hepatitis terinduksi obat, hepatitis alkoholik, dan obstruksi saluran empedu akut.

3) Peningkatan 1 - 3 kali

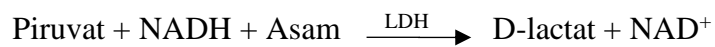
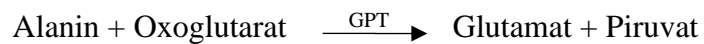
Terjadi pada hepatitis neonatal terinduksi sepsis, *bilier ekstrahepatik atresia* (EHBA), perlemakkan hati, sirosis, *steato non-alkohol hepatitis* (NASH), toksisitas obat, myositis, dan setelah olahraga berat. Sepertiga bahkan setengah dari individu sehat dengan peningkatan kadar adalah normal.

5. Pemeriksaan Aktivitas Enzim Alanin Aminotransferase (ALT)

ALT/SGPT dan AST/SGOT merupakan enzim yang dapat ditemukan pada sel-sel hati. Oleh karena itu, jika terjadi kerusakan (nekrosis) sel-sel hati, seperti yang terjadi pada infeksi akut virus hepatitis, enzim-enzim tersebut keluar dari sel hati dan masuk ke dalam darah. Semakin tinggi aktivitas ALT/AST yang terukur di dalam darah, semakin banyak sel-sel hati yang rusak (Ulfiyah, 2021).

a. Metode dan Prinsip Pemeriksaan

Pemeriksaan aktivitas enzim ALT pada sampel serum dapat dilakukan dengan metode kinetik menggunakan spektrofotometer. Pengukuran aktivitas enzim ini berdasarkan prinsip ALT mengkatalis transfer gugus amino dari L-alanine ke 2-Oxoglutarate menjadi L-Glutamate dan Pyruvat. Pyruvat selanjutnya mengalami reduksi dan terjadi oksidasi NADH menjadi NAD^+ dengan bantuan enzim *Lactate Dehidrogenase*. Hasil penurunan serapan (absorbans) pada panjang gelombang 340 nm sesuai dengan aktivitas ALT (Kementerian Kesehatan RI, 2010).



Pemeriksaan aktivitas ALT dapat dilakukan dengan *substrate start* melalui penambahan *Pyridoxal-5-phosphate* (P-5-P) tanpa pembuatan reagen kerja (monoreagen). Penambahan P-5-P bertujuan supaya enzim dapat bekerja penuh. Penambahan P-5-P dapat menaikkan aktivitas ALT sampai 20% (Sadikin, 2002). Sedangkan, pemeriksaan dengan cara *sample start* dilakukan dengan pembuatan reagen kerja (monoreagen) dengan perbandingan 4 bagian reagen 1 dan 1 bagian reagen 2 tanpa penambahan P-5-P.

b. Komposisi Reagen Pemeriksaan Aktivitas *Alanin Aminotransferase* (ALT)

Reagen pemeriksaan aktivitas ALT metode kinetik terdiri dari 2 reagen yang dijual secara komersial. Reagen 1 berisi 140 mmol/L TRIS pH 7,15, 700 mmol/L L-alanin, dan ≥ 2300 U/L LDH. Sedangkan, komposisi reagen 2 yaitu 85 mmol/L 2-oxoglutarate dan 1 mmol/L NADH.

Fungsi tiap komponen dalam reagen pemeriksaan aktivitas ALT adalah sebagai berikut:

1) TRIS pH 7,15

Buffer TRIS umumnya tidak mengganggu sistem enzim. Dalam media biologis, buffer ini banyak digunakan sebagai larutan penyangga pH. Karakteristik buffer TRIS adalah tidak higroskopis,

mudah larut dalam air, tersedia dalam kemurnian yang tinggi, dan stabil dalam suhu ruang (Riawati, 2020).

2) L-Alanin

L-Alanin merupakan asam amino non esensial. Pada ALT, alanin berperan sebagai substrat (Ischak dkk., 2017). L-alanin mudah larut dalam air, tidak stabil terhadap panas, cahaya, dan udara (Selviana, 2020). Penyimpanan reagen kerja pemeriksaan aktivitas ALT yang tidak sesuai dapat menyebabkan kerusakan pada substrat dan mempengaruhi aktivitas enzim.

3) *Laktat Dehidrogenase* (LDH)

Laktat Dehidrogenase (LDH) merupakan enzim yang dibutuhkan untuk mengkatalisasi perubahan dari asam piruvat menjadi asam laktat pada kondisi glikolisis anaerob. *Laktat Dehidrogenase* berfungsi mengkatalisis proses reduksi piruvat menjadi laktat dan menghasilkan NAD^+ . Produknya, yaitu laktat merupakan hasil samping dari reaksi ini (Harahap & Marpaung, 2021).

4) 2-oxoglutarate

2-oxoglutarate pada reaksi *aminotransferase* digunakan sebagai akseptor gugus amino. Dalam metabolisme asam amino, 2-oxoglutarat berperan menerima gugus amino dari asam amino lainnya sehingga menjadi glutamat (Rudhiharso dkk., 2014).

5) *Nikotinamida Adenin Dinukleotida Hidrogenase (NADH)*

Nikotinamida Adenin Dinukleotida Hidrogenase (NADH) merupakan suatu koenzim yang merupakan bentuk tereduksi dari *Nikotinamida Adenin Dinukleotida (NAD)*. Reaksi oksidasi-reduksi yang menggunakan koenzim ini pada umumnya bersifat reversibel (Ischak dkk., 2017). Pada koenzim oksidasi-reduksi terjadi pemindahan elektron dari satu senyawa ke senyawa lain (Marks, 2012)

c. Stabilitas Reagen Pemeriksaan Aktivitas *Alanin Aminotransferase (ALT)*

Reagen pemeriksaan aktivitas ALT merupakan reagen komersial. Reagen ini dapat tetap stabil sampai akhir bulan kadaluwarsa jika reagen disimpan pada suhu 2 – 8°C dan kontaminasi dicegah. Penyimpanan reagen harus terhindar dari cahaya matahari langsung dan tidak boleh dibekukan. Reagen yang telah dicampur dengan P-5-P pada cara *substrat start* stabil selama 6 hari pada suhu 2 – 8°C dan 24 jam pada 15 – 25°C. Sedangkan reagen kerja yang dibuat dengan cara mencampurkan reagen 1 dan reagen 2 dengan perbandingan 4 : 1 untuk pemeriksaan dengan cara *sampel start* dapat stabil selama 4 minggu pada suhu 2 – 8°C dan 5 hari pada suhu 15 – 25°C (DiasSys, 2019).

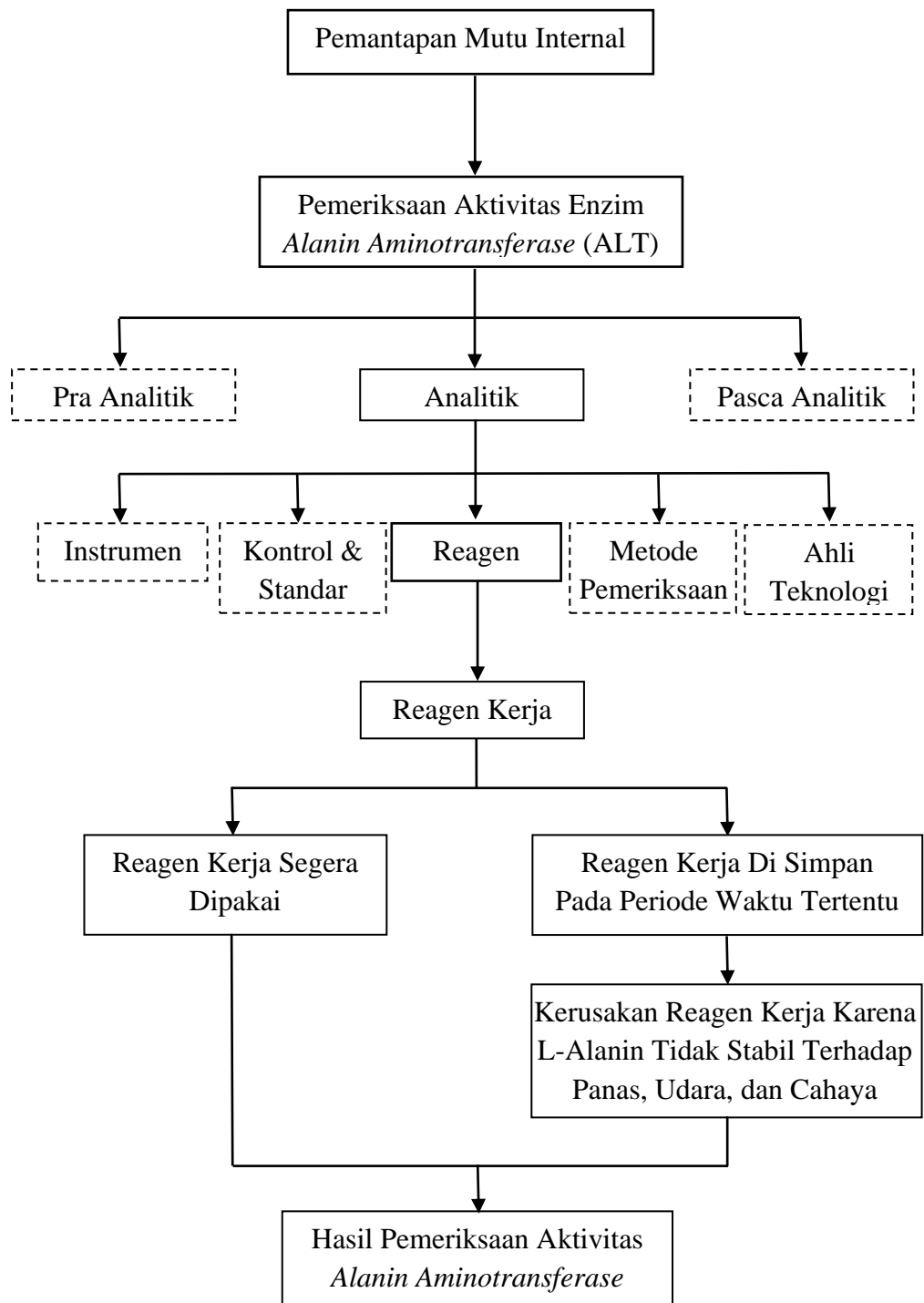
d. Nilai Rujukan *Alanin Aminotransferase* (ALT)

Tabel 1. Nilai Rujukan Aktivitas ALT Tanpa Penambahan P-5-P

Kategori	Nilai Rujukan
Wanita	< 31 U/L
Pria	< 41 U/L

Sumber: DiaSys, 2019

B. Kerangka Teori



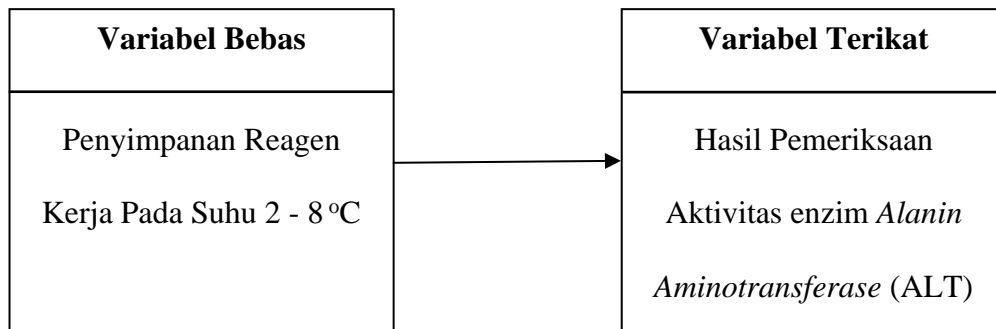
Gambar 1. Kerangka Teori

Keterangan:

Garis lurus (—) : dilakukan penelitian

Garis putus-putus (- - - - -) : tidak dilakukan penelitian

C. Hubungan Antar Variabel



Gambar 2. Hubungan Antar Variabel

D. Hipotesis

Ada pengaruh penyimpanan reagen kerja pada suhu 2 – 8°C terhadap hasil pemeriksaan aktivitas *Alanin Aminotransferase (ALT)*.