**BAB II**

**TINJAUAN PUSTAKA**

1. **Telaah Pustaka**
2. **Mutu Laboratorium**
3. Pegertian mutu laboratorium

Mutu adalah ukuran kepuasan pelanggan untuk mendapatkan hasil yang benar secara langsung setiap saat dengan tepat waktu dan menggunakan sumber daya yang efektif serta efisien. Mutu laboratorium klinik meliputi mutu layanan dan mutu hasil pemeriksaan. Mutu layanan merupakan aktivitas yang diberikan sesuai dengan kebutuhan dan harapan pelanggan, sedangkan mutu hasil pemeriksaan laboratorium adalah hasil pemeriksaan laboratorium dapat dipercaya sesuai standar mutu (Siregar, dkk., 2018).

Pelayanan laboratorium klinik merupakan bagian integral pelayanan kesehatan yang diperlukan untuk membantu menegakkan diagnosis melalui hasil pemeriksaan laboratorium. Hasil pemeriksaan yang bermutu menjadi tujuan kegiatan pemeriksaan laboratorium. Pelayanan laboratorium klinik fokus pada mutu, efektif, efisien dan profesional. Mutu hasil pemeriksaan laboratorium memberikan kontribusi penting dalam praktik klinik. Mutu hasil pemeriksaan laboratorium dapat ditentukan dari proses pemeriksaan mulai dari tahap pra analitik, analitik dan pasca analitik (Siregar, dkk., 2018).

1. Tahap pemeriksaan laboratorium
2. Tahap pra analitik

 Tahap pra analitik adalah serangkaian kegiatan sebelum dilakukan pemeriksaan spesimen yang meliputi persiapan pasien, pengambilan dan penampungan spesimen, penanganan spesimen, pengiriman spesimen, pengolahan dan penyimpanan spesimen. Kegiatan pra analitik dilakukan agar spesimen *representative* sesuai dengan keadaan pasien, tidak terjadi kesalahan jenis spesimen serta mencegah tertukarnya spesimen (Siregar, dkk., 2018). Kesalahan yang terjadi pada tahap pra analitik adalah yang terbesar yaitu 62% (Mengko, 2013).

1. Tahap analitik

Tahap analitik merupakan tahapan analisis spesimen. Kegiatan laboratorium pada tahapan ini meliputi:

1. Reagen

Reagen yang digunakan untuk pemeriksaan dipastikan memenuhi syarat, tidak melebihi batas kedaluwarsa atau masa kedaluwarsa benar, tidak terjadi perubahan fisik yaitu isi tidak mengeras dan tidak ada perubahan warna, cara pelarutan atau cara pencampuran benar, cara pengenceran benar serta pelarutnya harus memenuhi syarat (Kemenkes, 2013).

1. Instrumen

Instrumen yang akan digunakan dipastikan bersih, memenuhi standar, dan terkalibrasi.

1. Kontrol kualitas (*quality control*)

Kontrol kualitas digunakan untuk menilai data analitik dan mendeteksi kesalahan analitik laboratorium. Kesalahan analitik di laboratorium terdiri atas dua jenis yaitu kesalahan acak (*random error*) dan kesalahan sistematik (*systematic error*). Kesalahan acak untuk mengukur tingkat presisi, sementara kesalahan sistematik mengukur tingkat akurasi suatu metode atau alat (Sukorini, dkk., 2010).

1. Metode pemeriksaan
2. Kompetensi pelaksana

 Tujuan pengendalian tahap analitik adalah untuk menghasilkan data analisis yang akurat, reliable dan valid sehingga dapat digunakan untuk menegakkan diagnosis (Sukorini, dkk., 2010). Tingkat kesalahan pada tahap analitik tidak sebesar tahap pra analitik yaitu sebesar 15% akan tetapi laboratorium tetap harus memperhatikan kegiatan pada tahap ini (Mengko, 2013).

1. Tahap pasca analitik

Tahap pasca analitik adalah usaha pengendalian untuk mengurangi faktor kesalahan pada data hasil analisis pemeriksaan laboratorium (Sukorini, dkk., 2010). Tahap pasca analitik dilakukan sebelum hasil diserahkan kepada pasien yang meliputi pencatatan dan pelaporan hasil pemeriksaan. Tingkat kesalahan pada tahap pasca analitik hanya sekitar 23%, tetapi tetap memegang peranan yang penting. Kesalahan tahap pasca analitik akan menyebabkan terjadinya kesalahan diagnosis pasien (Siregar, dkk., 2018).

1. **Reagen**
2. Pengertian reagen

Reagen adalah zat kimia yang digunakan untuk mendeteksi, mengukur, memeriksa dan menghasilkan zat lain dalam suatu reaksi. Reagen memiliki sifat dan karakteristik yang berbeda-beda (Kemenkes, 2013).

1. Macam-macam reagen
2. Menurut bentuknya

 Jenis reagen dibagi menjadi dua yaitu reagen kimia basah dan reagen kimia kering. Reagen kimia basah (*wet chemistry*) biasanya berupa liofilisat, bubuk dan siap pakai, sedangkan reagen kimia kering (*dry chemistry*), bentuknya berupa cip, strip dan cartride siap pakai (Kemenkes, 2010).

1. Menurut tingkat kemurnian reagen

 Menurut tingkat kemurnian reagen dapat dibedakan menjadi dua yaitu reagen tingkat analitis (*analytical reagent*/AR) dan zat kimia tingkat lain. Reagen tingkat analitis merupakan reagen yang terdiri atas zat-zat kimia yang mempunyai tingkat kemurnian tinggi. Kemurnian zat-zat ini dicatumkan pada botol atau wadah reagen. Penggunaan bahan kimia *analytical reagent* tidak dapat digantikan degan zat kimia tingkat lain (Kemenkes, 2013).

 Zat kimia tingkat lain tersedia dalam tingkatan dan penggunaan yang berbeda. Macam-macam zat kimia tingkat lain yaitu tingkat kemurnian kimiawi (*chemically pure grade*), tingkat praktis (*partical grade*), tingkat komersial (*commercial* grade) dan tingkat teknis (*technical grade*) (Kemenkes, 2013).

 Tingkat kemurnian kimiawi (*chemically pure grade*) pada bahan kimia organik dalam penggunanya harus melalui tahap pengujian yang teliti sebelum digunakan secara rutin. Tidak adanya zat pengotor dalam satu lot belum tentu lot lain pada tingkatan ini cocok untuk analisis. Tingkat praktis (*partical grade*) merupakan kadar zat kimia yang bebas diperjual belikan di pasaran. Tingkat komersial (*commercial grade*) Tingkat teknis (*technical grade*) umumnya digunakan di industri kimia (Kemenkes, 2013).

 Zat kimia yang digunakan untuk pemeriksaan di laboratorium klinik adalah zat kimia tingkat analitis atau bahan kimia organik pada tingkat kemurnian kimiawi yang telah melalui tahap pengujian. Jenis tingkatan zat kimia lainnya tidak boleh digunakan sebagai reagen di laboratorium kesehatan (Kemenkes, 2013).

1. Menurut cara pembuatannya, reagen dibagi menjadi dua yaitu reagen buatan sendiri dan ragen jadi (komersial) yang dibuat oleh pabrik atau produsen (Kemenkes, 2013).
2. Hal-hal yang harus diperhatikan

Berdasarkan Keputusan Menteri Kesehatan RI Nomor 1792 tahun 2010, sebelum melakukan pemeriksaan terdapat hal-hal yang perlu diperhatikan pada reagen yaitu:

1. Izin edar dari Kementerian Kesehatan RI
2. Etiket/label/wadah
3. Tanggal produksi harus diperhatikan, nomor *batch* reagen
4. Tanggal atau batas kedaluwarsa
5. Stabilitas reagen. Reagen yang sudah dibuka masa stabilitasnya menjadi lebih pendek.
6. Keadaan fisik reagen

Pemantapan Mutu Internal

Pra Analitik

Analitik

Pasca Analitik

Instrumen

Metode Pemeriksaan

Reagen

*Quality Control*

Kompetensi Pelaksana

Reagen Komersial

Reagen Buatan Sendiri

Reagen Kerja

Reagen Kerja Segera digunakan untuk Pemeriksaan Enzim ALP

Penyimpanan Reagen Kerja Selama Periode Waktu Tertentu

Reaksi enzimatik membentuk kompleks enzim-substrat, konsentrasi substrat berbanding lurus dengan laju reaksi dan aktivitas (konsentrasi) reaktan. Substrat pada reagen kerja yang segera digunakan untuk pemeriksaan

Reaksi enzimatik membentuk kompleks enzim-substrat, konsentrasi substrat berbanding lurus dengan laju reaksi dan aktivitas (konsentrasi) reaktan. Substrat pada reagen kerja yang segera digunakan untuk pemeriksaan

1. Kemasan dalam keadaan utuh,isi tidak mengeras dan tidak ada perubahan warna
2. Suhu penyimpanan
3. Stabilitas reagen

Stabilitas reagen merupakan kemampuan untuk mempertahankan sifat dan karakteristik agar identitas, kekuatan, kualitas dan kemurniannya tidak berubah dalam batas yang ditetapkan pada periode penggunaan dan penyimpanan (*shelf-life*). *Shelf-life* adalah periode penggunaan dan penyimpanan atau keadaan suatu produk tetap memenuhi spesifikasi jika disimpan dalam wadah sesuai degan persyaratan yang telah ditetapkan (Depkes, 2009).

Stabilitas reagen kit *Alkaline Phosphatase* sampai tanggal kedaluwarsa yang tertera jika disimpan pada suhu 2-8°C, sedangkan stabilitas reagen kerja adalah selama 1 bulan apabila disimpan pada suhu 2-8°C dan 5 hari pada suhu 15-25°C. Penyimpanan reagen *Alkaline Phosphatase* diletakkan pada wadah tertutup dan tidak terkena cahaya secara langsung pada suhu 2-8°C dan 15-25°C sesuai petunjuk penyimpanan reagen (DiaSys, 2014).

1. **Akivitas Enzim *Alkaline Phosphatase***
2. Pengertian enzim

 Enzim merupakan molekul protein yang berfungsi untuk mengatalisis reaksi biokimia. Enzim dalam sel biasanya memiliki konsentrasi yang rendah (Ngili, 2009). Molekul enzim (holoenzim) meliputi bagian bukan polipeptida yang memegang peran penting dalam mekanisme kerja enzim atau disebut kofaktor dan bagian yang merupakan rantai polipeptida disebut apoenzim (Sinaga, 2012). Setiap enzim bersifat spesifik terhadap substrat yang diubah menjadi produk (Sacher dan McPherson, 2004).

 Prinsip kerja enzim adalah mengatalisis reaksi dengan menurunkan energi aktivasi dari reaksi tersebut. Energi aktivasi adalah energi yang diperlukan untuk membentuk kompleks enzim-substrat dan menghasilkan produk. Energi aktivasi yang lebih rendah akan meningkatkan kecepatan reaksi. Menurut *International Union of Biochemistry and Molecular Biology* (IUMB) enzim dibagi menjadi 6 golongan yaitu oksidoreduktase, transferase, hidrolase, liase, isomerase dan ligase (Sinaga, 2012).

1. Pengertian enzim *Alkaline Phosphatase*

 *Alkaline Phosphatase* (ALP) merupakan sekelompok isoenzim yang terletak di lapisan luar membran. Enzim ALP dalam serum sebagian besar berasal dari hati dan tulang serta dalam jumlah yang lebih kecil terdapat di usus, plasenta, mukosa ileum dan ginjal. *Alkaline phpsphatase* di dalam hati terdapat pada membran kanalikuli hepatosit. Enzim ALP termasuk golongan enzim hidrolitik yang mengatalisis monoester fosfat dan bekerja secara optimal pada pH basa. PH optimum enzim ALP antara 9,0-10,0 tergantung pada substratnya. ALP berfungsi secara khusus untuk melepaskan fosfat anorganik dari ester fosfat organik bersamaan dengan produksi alkohol (Lowe dan John, 2018). Reaksi tersebut dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Reaksi Enzim *Alkaline Phosphatase*

Sumber: Onyesom, dkk., 2009.

1. Peningkatan aktivitas enzim *Alkaline Phosphatase*

Enzim *Alkaline Phosphatase* adalahenzim hati yang dapat masuk ke saluran empedu yang terletak di bawah hati. Aktivitas *Alkaline Phosphatase* meningkat apabila terjadi hambatan saluran empedu. Hambatan saluran empedu disebabkan oleh adanya batu empedu atau penyempitan saluran empedu (Bastiansyah, 2008).

Pemeriksaan enzim ALP merupakan pemeriksaan yang sensitif untuk mendeteksi penyakit hepatobiliar karena keberadaan enzim tersebut di dalam serum terutama berasal dari hati. Penyakit hepatobiliar menunjukkan adanya sumbatan pada saluran empedu (kolestasis) karena batu empedu, tumor dan radang (Kee, 2008)

Pemeriksaan enzim ALP tidak dapat digunakan sebagai diagnosis parameter tunggal untuk mendiagnosis kerusakan hati, sehingga diperlukan parameter lain sebagai pembanding. Kadar ALP meningkat sampai 20 kali dari nilai normal pada sirosis biliaris primer (saluran empedu meradang dan tersumbat) pada keadaan disorganisasi dan sirosis hati serta penyakit yang ditandai dengan peradangan, regenerasi dan obstruksi duktus biliaris intrahepatika (kerusakan saluran empedu yang terjadi di dalam parenkim hati). Peningkatan sampai 10 kali pada obstruksi duktus biliaris ekstrahepatika (kerusakan saluran empedu yang terjadi di luar parenkim hati). Penyakit hepatoselular seperti hepatitis (penyakit radang hati) sering menyebabkan peningkatan sedang ALP (Sacher dan McPherson, 2004).

1. Faktor-faktor yang memengaruhi aktivitas enzim *Alkaline Phosphatase*
2. Konsentrasi substrat

Konsentrasi substrat dan produk dalam reaksi enzimatis biasanya lebih besar dibandingkan konsentrasi enzim. Setiap molekul enzim bekerja mengatalisis reaksi pengubahan dari banyak molekul substrat menjadi produk. Konsentrasi substrat dan kecepatan reaksi yang rendah menunjukkan bahwa kompleks enzim-substrat yang terbentuk sedikit.



Gambar 2. Pengaruh Konsentrasi Substrat terhadap Aktivitas Enzim

Sumber : International Biology Education, 2012.

1. Suhu

 Peningkatan suhu akan meningkatkan energi kinetik dan frekuensi tumbukan antar molekul yang bereaksi akibatnya kecepatan reaksi akan bertambah (Murray, dkk., 2012). Reaksi yang paling cepat terjadi adalah pada suhu optimal. Suhu optimal merupakan suhu ketika aktivitas katalitik enzim berada pada titik maksimum. Enzim yang bekerja di dalam tubuh manusia umumnya memiliki suhu optimal seperti suhu normal tubuhh yaitu 37°C. Suhu yang melebihi suhu optimal akan menyebabkan enzim terdenaturasi maka sisi aktifnya terganggu dan kecepatan katalitiknya akan menurun (Sinaga, 2012).



Gambar 3. Pengaruh Suhu terhadap Aktivitas Enzim

Sumber : International Biology Education, 2012.

1. pH

 Enzim bekerja pada rentang pH tertentu karena di luar rentang tersebut akan mengalami perubahan konformasi enzim sehingga aktivitas katalitiknya hilang. Setiap enzim memiliki pH optimal yaitu pH tertentu yang menunjukkan aktivitas katalitik enzim pada titik maksimum (Sinaga, 2012).

Enzim *Alkaline Phosphatase* sensitif pada pH tinggi (Dean, 2002). Aktivitas maksimal enzim *Alkaline Phosphatase* pada pH 9-10. Enzim akan terdenaturasi pada pH tinggi atau rendah. Proses deaturasi ini akan menghalangi ikatan enzim dengan substrat sehingga aktivitas katalitiknya akan menurun (Murray, dkk., 2012).



Gambar 4. Pengaruh pH terhadap Aktivitas Enzim

 Sumber : International Biology Education, 2012.

1. Konsentrasi enzim

 Konsentrasi enzim akan memengaruhi kecepatan aktivitas katalitik. Konsentrasi enzim yang semakin tinggi akan mempercepat reaksi katalitiknya. Kenaikan konsentrasi enzim berbanding lurus secara linear dengan kecepatan reaksi katalitiknya apabila suhu dan pH konstan serta konsentrasi substrat cukup tinggi (Sinaga, 2012).



Gambar 5. Pengaruh Konsentrasi Enzim terhadap Aktivitas Enzim

Sumber : International Biology Education, 2012.

1. Aktivator

Aktivator enzim merupakan molekul yang berikatan dengan enzim untuk meningkatkan kecepatan reaksi. Enzim yang dihasilkan dalam bentuk inaktif disebut proenzim atau zimogen. Zimogen akan berubah menjadi aktif ketika berhubungan dengan aktivatornya. Aktivator ditemukan dalam bentuk ion logam anorganik, terutama ion logam atau kation (Sumardjo, 2009). Aktivator untuk enzim plasma fosfatase adalah ion Mg2+ dan Zn2+ (Dean, 2006).

1. Inhibitor

Kerja enzim dapat dihambat oleh zat lain yang disebut inhibitor. Ikatan inhibitor dengan enzim akan menyebabkan penurunan kecepatan reaksi enzimatis. Inhibitor dapat menghambat kerja enzim sementara atau secara tetap. Inhibitor enzim dapat dibedakan menjadi dua yaitu inhibitor irreversibel atau yang bersifat menginaktivasi enzim secara tetap dan reversibel yang sifat penghambatnya dapat dipulihkan kembali. Efek kinetik inhibitor irreversibel adalah menurunkan konsentrasi enzim, sehingga menurunkan konsentrasi maksimum kompleks ES (enzim substrat) yang terbentuk. Inhibitor reversible dapat dibagi menjadi dua yaitu inhibitor kompetitif dan nonkompetitif (Sinaga, 2012).



**Konsentrasi Substrat (mg/mL)**

Gambar 6. Pengaruh Inhibitor terhadap Aktivitas Enzim

Sumber : International Biology Education, 2012.

1. **Pemeriksaan Aktivitas Enzim *Alkaline Phosphatase***
2. Metode dan reaksi

Pemeriksaan aktivitas enzim *Alkaline Phosphatase* merupakan salah satu tes fungsi hati. Kerusakan pada sel hati ditandai dengan meningkatnya aktivitas enzim *Alkaline Phosphatase* (Kee, 2008).

Metode pemeriksaan aktivitas enzim ALP sesuai *International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* (IFCC) adalah tes fotometrik kinetik menggunakan *p-nitrophenylphosphate* sebagai substrat (DiaSys, 2014). Prinsip pemeriksaan enzim ALP adalah mengatalisis *p-nitrophenylphosphate* menjadi *phosphatase* dan *p-nitrophenol* pada pH basa. Kecepatan hidrolisis *p-nitrophenylphosphate* sebanding dengan aktivitas ALP yang diukur dengan intensitas warna kuning *p-nitrophenol* bila dibaca pada panjang gelombang 405 nm (Dean, 2002).

Reaksi aktivitas enzim *Alkaline Phosphatase* adalah :

*p-nitrophenylphosphate* + H2O AP *phosphatase* + *p-nitrophenol*

1. Komponen reagen *Alkaline Phosphatase*
2. Diethanolamine

Diethanolamine atau DEA adalah senyawa kimia organik yang merupakan amina sekunder dan dialkohol. Diethanolamine bertindak sebagai basa lemah. Diethanolamine merupakan cairan tidak berwarna atau kristal putih solid berminyak, memiliki bau ammonia dan lebih padat dari air (The Dow Chemical Company, 2014). Diethanolamine digunkan untuk menjaga kestabilan aktivitas enzim ALP selama pemeriksaan dengan mencegah perubahan pH oleh CO2 dari udara (Marks, dkk., 2012).

1. Kofaktor *Magnesium choride*

Kofaktor *Magnesium choride* akan diikat oleh enzim ALP dan ikut serta dalam proses katalitik (Marks, dkk., 2012). *Magnesium choride* digunakan untuk merangsang aktivitas enzimatik (Dean, 2002).

1. *P-nitrophenylphosphate*

*P-nitrophenylphosphate* atau pNPPmerupakan substrat non-protein untuk *Alkaline Phosphatase* yang digunakan dalam uji spekrofotometri konvensional. Substrat *P-nitrophenylphosphate* akan dikatalisis oleh enzim ALP membentuk produk *phosphatase* dan *p-nitrophenol* (Sinaga, 2012). Substrat *p-nitrophenylphosphate* merupakan substrat yang kurang terhidrolisis dan bekerja secara optimal pada pH basa yaitu 9 sampai 10 (Dean, 2002).

Substrat pNPPsecara perlahan akan berubah menjadi produk (*phosphatase* dan *p-nitrophenol*) pada suhu kamar tanpa adanya enzim. Produk yang terbentuk akan menjadi inhibitor kompetitif enzim *Alkaline Phosphatase* yang akan mengganggu ikatan enzim dengan substrat (Dean, 2002).

1. Nilai rujukan

Tabel 1. Nilai Rujukan Aktivitas Enzim *Alkaline Phosphatase* dalam Serum

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  | Laki-laki (IU/L) | Perempuan (IU/L) |
| **Anak-anak** |  |  |
| 1 – 30 hari | 75 – 316 | 48 – 406 |
| 1 bulan – 1 tahun | 82 – 383 | 124 – 341 |
| 1 – 3 tahun | 104 – 345 | 108 – 317 |
| 2 – 6 tahun | 93 – 309 | 96 – 297 |
| 7 – 9 tahun | 86 – 315 | 69 – 325 |
| 10 – 12 tahun | 42 – 362 | 51 – 332 |
| 13 – 15 tahun | 74 – 390 | 50 – 162 |
| 16 – 18 tahun | 52 – 171 | 47 – 119 |
| **Dewasa** | 40 – 130 | 35 – 105 |

Sumber: DiaSys, 2014.

1. **Kerangka Teori**

Pra analitik

Analitik

Pasca analitik

Instrumen

Kontrol Kualitas

Kompetensi Pelaksana

Reagen

Metode Pemeriksaan

Reagen Kimia Basah

Reagen Kimia Kering

*Sample Start*

*Substrat Start*

Segera dipakai

Disimpan

Aktivitas Enzim Maksimal

Mutu Laboratorium

Mutu Pelayanan

Mutu Pemeriksaan

Substrat Tidak Stabil

Kompleks Enzim Substrat Terganggu

Gambar 7.Kerangka Teori

Keterangan :

🡪Diteliti

🡪Tidak diteliti

1. **Hubungan Antar Variabel**

Variabel Bebas :

Variasi Lama Penyimpanan Reagen Kerja pada Suhu Kamar

Variabel Terikat :

Aktivitas Enzim *Alkaline Phosphatase* Metode Kinetik

Gambar 8. Hubungan Antar Variabel

1. **Hipotesis**

Ada pengaruh lama penyimpanan ragen kerja pada suhu kamar terhadap hasil pengukuran aktivitas enzim *Alkaline Phosphatase* metode kinetik.