

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Pemantapan Mutu Internal Laboratorium Klinik

Menurut Siregar dkk (2018) pemantapan mutu internal adalah kegiatan pencegahan dan pengawasan yang dilaksanakan oleh masing-masing laboratorium untuk mengurangi kejadian *error*, sehingga hasil pemeriksaan memiliki mutu yang baik berkaitan dengan presisi dan akurasi. Pemantapan mutu internal dibagi menjadi tiga tahapan, yaitu : pra analitik, analitik dan pasca analitik.

a. Tahapan Pra analitik

Tahap pra analitik adalah kegiatan di laboratorium sebelum dilakukan pemeriksaan dengan tujuan memastikan agar spesimen yang akan diperiksa benar identitas yang mencerminkan keadaan pasien yang sebenarnya serta memenuhi syarat-syarat kelayakan sampel (Siregar dkk., 2018). Menurut Depkes RI (2013) tahap pra analitik dibagi menjadi : formulir permintaan pemeriksaan, persiapan pasien, faktor pada pasien yang dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan, persetujuan setelah penjelasan, pengambilan spesimen dan penyimpanan serta pengiriman spesimen.

b. Tahapan Analitik

Tahap analitik adalah pemrosesan sampel yang bertujuan untuk menjamin bahwa hasil pemeriksaan dapat dipercaya, sehingga tindakan

kepada pasien dapat dilakukan dengan tepat. Tahap analitik lebih mudah di kontrol karena proses berjalan di laboratorium (Siregar dkk., 2018). Menurut Depkes RI (2013) tahap pra analitik dibagi menjadi : pereaksi, peralatan, metode pemeriksaan, kompetensi pelaksana dan kontrol kualitas.

c. Tahapan Pasca analitik

Tahap pasca analitik dilakukan sebelum hasil pemeriksaan diserahkan kepada pasien bertujuan untuk mendapatkan hasil pemeriksaan yang valid dan dapat digunakan untuk menentukan diagnosis dengan tepat (Siregar dkk., 2018). Menurut Depkes RI (2013) tahap pra analitik dibagi menjadi : verifikasi, validasi, pencatatan dan pelaporan hasil serta buku ekspedisi.

2. Bahan Laboratorium

a. Reagen

Reagen adalah suatu zat kimia yang digunakan dalam reaksi untuk mendeteksi, mengukur, memeriksa dan menghasilkan zat lain (Depkes RI, 2013). Berdasarkan tingkat kemurniannya reagen dibagi menjadi dua, yaitu :

1) Reagen Tingkat Analitis (*Analytical Reagen/AR*)

Reagen tingkat analitis adalah reagen yang berisi zat-zat kimia yang memiliki kemurnian sangat tinggi, sehingga penggunaanya tidak dapat digantikan oleh zat kimia tingkat lain. Kemurnian zat-zat tersebut dicantumkan pada wadahnya (Siregar dkk., 2018).

2) Zat Kimia Tingkat Lain

Kebutuhan pemeriksaan menggunakan reagen yang memiliki tingkatan yang berbeda. Berdasarkan hal itu, tingkat yang zat kimia dibagi menjadi empat, yaitu :

a) Tingkat Kemurnian Kimiawi (*Chemically Pure Grade*)

Penggunaan reagen pada laboratorium klinik tingkatan ini harus melewati tahapan pengujian yang teliti sebelum dipakai secara rutin. Beberapa bahan organik berada pada tingkatan ini. Kecocokan untuk analitis harus diperiksa per satu lot karena tidak adanya zat pengotor pada satu lot bukan berarti lot-lot yang lain bisa digunakan (Depkes RI, 2013).

b) Tingkat Komersial (*Commercial Grade*)

Reagen tingkat komersil adalah reagen yang banyak diperjualbelikan secara bebas di pasaran (Siregar dkk., 2018).

c) Tingkat Teknis (*Technical Grade*)

Reagen tingkat teknis adalah zat-zat tingkatan ini digunakan dalam bidang industri kimia (Siregar dkk., 2018).

b. Jenis-jenis Reagen

Menurut Kemenkes RI (2010), jenis-jenis reagen dibedakan menjadi dua, yaitu :

1) Reagen Kimia Basah (*Wet Chemistry*)

Reagen kimia basah biasanya berupa liofilisat, bubuk dan siap pakai.

2) Reagen Kimia Kering (*Dry Chemistry*)

Reagen kimia kering biasanya berupa *cup*, *strip* dan *catridge*.

c. Kondisi Reagen

Pemilihan reagen untuk pemeriksa harus diperhatikan untuk menjaga presisi dan akurasi pemeriksaan, sehingga didapatkan mutu yang berkualitas. Menurut Kemenkes RI (2010), hal-hal yang harus diperhatikan dalam pemilihan reagen sebelum pemeriksaan adalah sebagai berikut:

- 1) Adanya ijin edar dari Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- 2) Terdapat etiket pada wadah.
- 3) Memperhatikan tanggal produksi dan nomor *batch* reagen.
- 4) Memperhatikan batas kadaluarsa.
- 5) Memperhatikan stabilitas reagen. Reagen yang sudah dibuka memiliki stabilitas lebih pendek dari yang belum dibuka.
- 6) Memperhatikan keadaan fisik reagen.
- 7) Kemasan reagen harus utus, tidak mengeras dan tidak ada perubahan warna.
- 8) Memperhatikan suhu penyimpanan.

d. Penyimpanan Reagen

Stabilitas reagen adalah kemampuan suatu produk reagen untuk mempertahankan sifatnya agar sama dengan yang dimilikinya pada saat dibuat meliputi identitas, kekuatan, kualitas dan kemurnian dalam batasan yang ditetapkan sepanjang periode penyimpanan dan penggunaan (*shelf-life*). *Shelf-life* merupakan periode waktu

penggunaan dan penyimpanan, dapat diartikan dimana suatu produk tetap memenuhi spesifikasinya jika disimpan dalam wadah yang sesuai dengan kondisi penjualan di pasar (Raharjo, 2017).

Stabilitas reagen Gamma GT sampai tanggal kadaluarsa jika disimpan pada suhu $2^{\circ}\text{C} - 8^{\circ}\text{C}$ dan dihindarkan dari kontaminasi serta reagen dua harus dihindarkan dari cahaya langsung. Stabilitas campuran reagen 1 dan reagen 2 adalah stabil sampai 4 minggu jika disimpan pada suhu $2^{\circ}\text{C} - 8^{\circ}\text{C}$ dan stabil sampai 5 hari jika disimpan pada suhu $15^{\circ}\text{C} - 25^{\circ}\text{C}$ (Dyasis, 2016).

e. Standar

Bahan standar adalah bahan yang diketahui kemurniannya dan diperoleh dari cara penimbangan (Kemenkes RI, 2010). Macam-macam bahan standar, antara lain:

1) Bahan Standar Primer

Bahan standar primer merupakan bahan yang memiliki kemurnian mencapai 99,9%. Kemurnian dari bahan ini dapat dilihat pada sertifikat analisisnya (Kemenkes RI, 2010). Syarat-syarat bahan standar primer, antara lain: stabil, dapat dibakar pada suhu $105^{\circ}\text{C} - 110^{\circ}\text{C}$ tanpa perubahan, tidak higroskopis, mempunyai komposisi yang jelas, kemurnian lebih dari 99%, dapat dianalisis secara cepat dan mempunyai ekivalensi berat (Kemenkes RI, 2010).

2) Bahan Standar Sekunder

Bahan standar sekunder adalah zat dan konsentrasi kemurniannya ditetapkan melalui analisis dengan perbandingan terhadap standar primer (Kemenkes RI, 2010).

f. Bahan Kontrol

Menurut Kemenkes RI (2010), bahan kontrol adalah bahan yang digunakan untuk memantau ketepatan pemeriksaan berfungsi untuk mengevaluasi kualitas hasil pemeriksaan harian. Bahan kontrol dapat berasal dari manusia, binatang maupun bahan kimia murni dengan bentuk yang bermacam-macam, yaitu cair, bubuk dan strip.

1) Jenis-jenis Bahan Kontrol

a. Buatan Sendiri

1) *Pooled Sera*

Serum kumpulan merupakan campuran bahan sisa serum pasien yang dikumpulkan sehari-hari. Keuntungan dari bahan kontrol ini adalah mudah didapat, murah, bahan berasal dari manusia, tidak perlu dilarutkan dan laboratorium mengetahui asal bahan kontrol. Kekurangan dari bahan kontrol ini adalah sampel harus disimpan di suhu -70°C dan analisis statistik harus dilakukan 3 - 4 bulan (Siregar dkk., 2018).

2) Larutan *Spikes*

Larutan *spikes* adalah bahan kontrol yang terbuat dari bahan kimia murni (Siregar dkk., 2018).

3) Hemolisat

Hemolisat adalah bahan kontrol yang terbuat dari lisat (Siregar dkk., 2018).

b. Buatan Pabrik

1) Bahan Kontrol *Unassayed*

Bahan kontrol *unassayed* adalah bahan kontrol yang tidak memiliki nilai rujukan. Nilai rujukan didapatkan dari melakukan periode pendahuluan. Keuntungan dari bahan kontrol ini adalah lebih tahan lama, dapat digunakan untuk semua pemeriksaan, tidak perlu membuat sendiri dan analisis statistik dilakukan satu tahun sekali. Kekurangan dari bahan kontrol ini adalah kadang ada variasi pada botol yang berbeda dan kesalahan rekonstitusi (Siregar dkk., 2018).

2) Bahan Kontrol *Assayed*

Bahan kontrol *assayed* adalah bahan kontrol yang diketahui nilai rujukannya dan batas toleransi berdasarkan metode pemeriksaannya. Bahan kontrol ini dapat digunakan untuk menentukan akurasi dan menilai alat serta cara baru. Kekurangan bahan ini adalah harga yang mahal dan penentuan analisis statistik yang susah (Siregar dkk., 2018).

3. Enzim

Enzim merupakan biokatalisator yang mempercepat berbagai macam reaksi serta bekerja secara spesifik dalam mengkatalisis suatu reaksi

tertentu untuk substrat tertentu pula (Sinaga, 2012). Enzim biasanya terdapat dalam konsentrasi yang sangat rendah di dalam sel yang meningkatkan laju reaksi tanpa mengubah posisi kesetimbangan reaksi (Ngili, 2010). Menurut IUBMB (*International Union of Biochemistry and Molecular Biology*) enzim-enzim diklasifikasikan menjadi 6 golongan yang ditunjukkan pada tabel 1.

Tabel 1. Pengelompokan Enzim Menurut IUBMB

No	Kelompok/kelas	Sifat Biokimia
1	Oksidoreduktase	Mengkatalisis reaksi reduksi-oksidasi terhadap berbagai gugus.
2	Transferase	Mengkatalisis berbagai reaksi transfer gugus fungsional dari molekul donor ke molekul akseptornya.
3	Hidrolase	Mengkatalisis reaksi penambahan molekul air pada suatu ikatan, dilanjutkan dengan penguraian (hidrolisis).
4	Liase	Mengkatalisis reaksi penambahan dan pelepasan molekul air, ammonia dan karbondioksida pada suatu ikatan rangkap.
5	Isomerase	Mengkatalisis berbagai reaksi isomerisasi dan reaksi perpindahan posisi suatu gugus.
6	Ligase	Mengkatalisis reaksi dua gugus kimia disatukan menggunakan energi yang berasal dari ATP.

Sumber : Sinaga, 2012.

4. Enzim *Gamma Glutamyl Transferase*

a. Pengertian Enzim *Gamma Glutamyl Transferase*

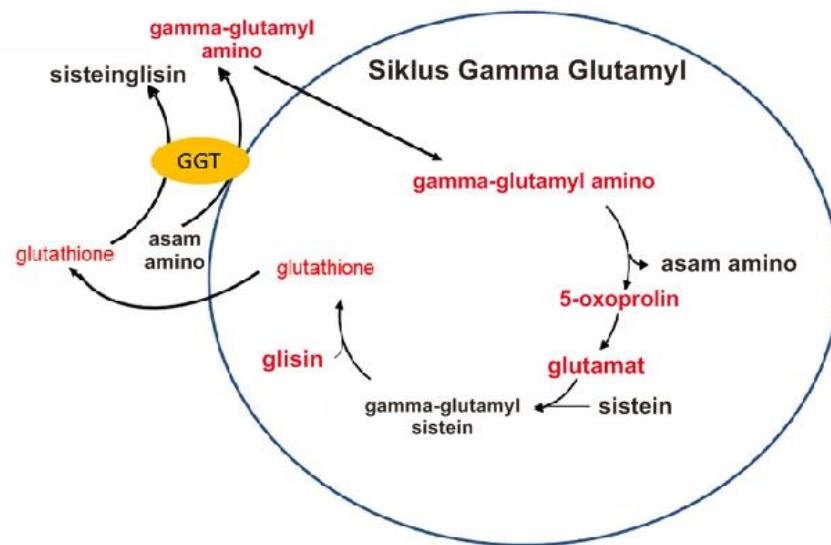
Gamma Glutamyl Transferase (Gamma GT) adalah enzim yang berperan memindahkan asam amino dalam siklus gamma glutamyl. Enzim ini ditemukan pada sitoplasma, namun dalam jumlah yang lebih besar ditemukan di membran sel (Ndrepepa dan Kastrati, 2016).

Enzim *Gamma Glutamyl Transferase* (Gamma GT) adalah enzim yang banyak ditemukan pada hati dan ginjal, dalam jumlah sedikit dapat ditemukan pada limpa, kelenjar prostat dan otot jantung. Gamma-GT merupakan parameter uji yang sensitif mendeteksi beragam jenis penyakit parenkim hati (Dillon dan Miller, 2016).

b. Peran Enzim *Gamma-Glutamyl Transferase*

Gamma Glutamyl Transferase (Gamma GT) berperan dalam siklus γ -glutamyl yang membantu transfer asam amino ke dalam sel. Asam amino ekstrasel akan bereaksi dengan γ -glutamyl-sisteinilglisin dengan dikatalisis oleh enzim Gamma GT yang berada di membran sel. Terbentuk asam γ -glutamylamino dan melepaskan sisteinglisin. Sisteinglisin akan dipecah menjadi sistein dan glisin, sedangkan γ -glutamylamino melepaskan asam amino di dalam sel dan 5-oksoprolin. Asam amino akan digunakan untuk kebutuhan sel dan 5-oksoprolin akan diubah menjadi glutamat. Glutamat yang

terbentuk akan bergabung dengan sistein menjadi γ -glutamilsistein. γ -glutamilsistein bergabung dengan glisin dan membentuk glutathione yang dapat digunakan kembali (Bacchawat dan Yadav, 2018).

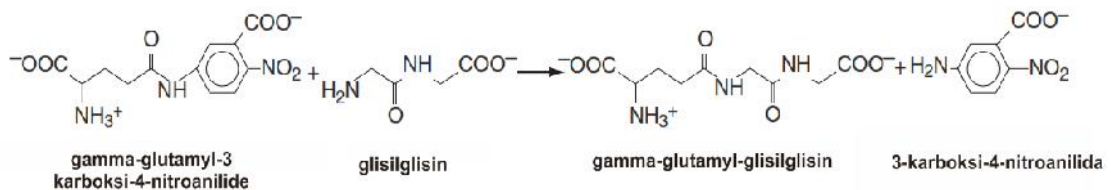


Gambar 1. Siklus *Gamma Glutamy*
Sumber : Cho dkk., 2019.

5. Mekanisme Reaksi Enzim *Gamma Glutamy Transferase*

Enzim Gamma GT bekerja dengan memindahkan suatu gugus γ -glutamil dari suatu peptida atau senyawa lain yang mengandung gugus ini ke suatu molekul akseptor. Gamma GT bekerja pada suatu peptida yang mengandung residu glutamat yang terikat ke bagian molekul lain melalui suatu ikatan peptida dengan γ -karboksi (Verma dkk, 2015).

Reaksi yang dikatalisis oleh enzim ini adalah sebagai berikut:

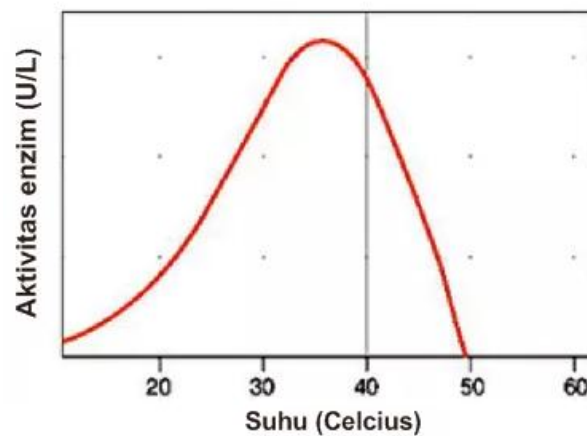


Gambar 2. Reaksi Enzim *Gamma Glutamy Transferase*
Sumber : Ikeda dan Taniguchi, 2000.

6. Faktor yang Mempengaruhi Kerja Aktivitas Enzim Gamma GT

a. Suhu

Enzim memiliki suhu optimal untuk aktivitas katalitiknya. Laju reaksi yang dikatalisis oleh enzim meningkat ketika suhu dinaikkan, namun berangsur-angsur menurun pada kenaikan suhu selanjutnya. Selama periode waktu tertentu, enzim akan dinonaktifkan bahkan pada suhu sedang. Penyimpanan enzim pada suhu 5°C atau lebih rendah pada umumnya paling cocok. Beberapa enzim kehilangan aktivitasnya ketika dibekukan. Enzim-enzim yang bekerja di dalam tubuh seperti Gamma GT, suhu optimalnya adalah 37°C (Worthington Biochemical Corporation, 2019).

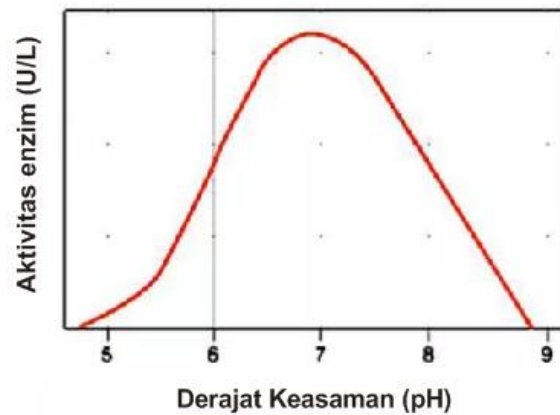


Gambar 3. Pengaruh Suhu terhadap Aktivitas Enzim
Sumber : International Biology Education, 2012.

b. Derajat Keasaman (pH)

Enzim dipengaruhi oleh perubahan pH. Nilai pH optimal adalah titik dimana enzim berada pada sisi paling aktifnya. Nilai pH yang sangat tinggi atau rendah umumnya mengakibatkan hilangnya aktivitas untuk sebagian besar enzim (Worthington Biochemical Corporation, 2019).

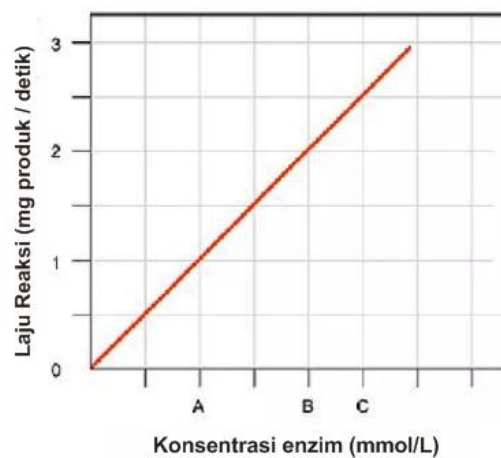
Enzim Gamma GT akan bekerja optimal pada pH 6 – 8 (Ikeda dan Taniguchi, 2000).



Gambar 4. Pengaruh pH terhadap Aktivitas Enzim
Sumber : International Biology Education, 2012.

c. Konsentrasi Enzim

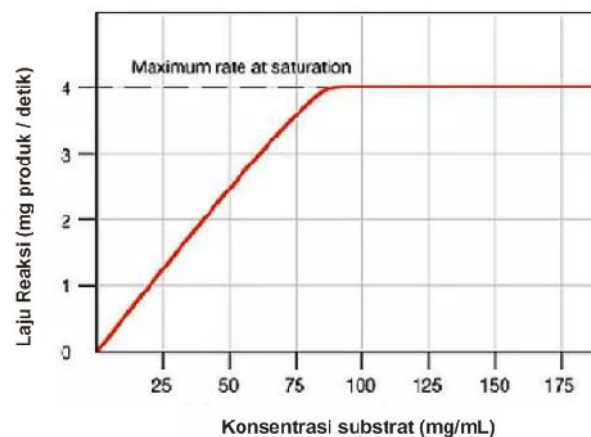
Konsentrasi enzim akan mempengaruhi kecepatan reaksi katalitik yang dilakukannya. Pengaruh peningkatan laju reaksi konsentrasi enzim harus menggunakan substrat yang berlebih. Setiap perubahan dalam jumlah produk yang terbentuk selama periode waktu tertentu akan tergantung pada tingkat enzim yang ada (Worthington Biochemical Corporation, 2019).



Gambar 5. Pengaruh Konsentrasi Enzim terhadap Aktivitas Enzim
Sumber : International Biology Education, 2012.

d. Konsentrasi Substrat

Kecepatan reaksi sangat dipengaruhi konsentrasi substrat, apabila jumlah enzim konstan dan konsentrasi substrat secara bertahap meningkat, kecepatan reaksi akan meningkat hingga mencapai maksimum. Peningkatan konsentrasi substrat tidak akan meningkatkan kecepatan reaksi, namun ketika kecepatan maksimum ini telah dicapai semua enzim yang tersedia telah dikonversi menjadi kompleks enzim substrat (Worthington Biochemical Corporation, 2019).



Gambar 6. Pengaruh Konsentrasi Substrat terhadap Aktivitas Enzim
Sumber : International Biology Education, 2012.

e. Inhibitor

Inhibitor enzim adalah zat yang mengubah aksi katalitik enzim dan dapat memperlambat atau menghentikan reaksi katalisis. Inhibitor dibedakan menjadi dua, yaitu kompetitif dan non kompetitif (Worthington Biochemical Corporation, 2019).

a) Kompetitif

Penghambatan kompetitif terjadi ketika substrat dan zat yang

menyerupai substrat atau keduanya ditambahkan ke enzim (Worthington Biochemical Corporation, 2019).

b) Non Kompetitif

Inhibitor non kompetitif adalah zat yang ketika ditambahkan ke enzim dapat mengubah enzim dengan tidak terikatnya substrat ke sisi aktif enzim. Penghambatan substrat terjadi apabila terdapat konsentrasi substrat yang berlebih (Worthington Biochemical Corporation, 2019).

7. Pemeriksaan Aktivitas Enzim *Gamma-Glutamyl Transferase*

a. Prinsip dan Metode Pemeriksaan

Prinsip pemeriksaan aktivitas enzim Gamma GT adalah mengkatalisis pemindahan asam glutamat ke akseptor seperti glisilglisin. Proses ini melepaskan 5-amino-2-nitrobenzoate yang dapat diukur pada panjang gelombang 405 nm. Peningkatan absorbansi pada panjang gelombang ini menunjukkan aktivitas enzim Gamma GT (Dyasis, 2016).

Metode pemeriksaan enzim Gamma GT yang telah distandarisasi oleh IFCC (*International Federation of Chemical Chemistry*) adalah fotometri kinetik menurut Szasz / Persijn. Hasil yang diperoleh menggunakan faktor khusus yang tersedia dalam kit reagen (Dyasis, 2016).

b. Reagen

1) Komposisi Reagen

Reagen pemeriksaan enzim Gamma GT terbagi menjadi dua, yaitu reagen 1 dan reagen 2. Berikut komposisi reagennya:

a) Reagen 1

TRIS	pH 8,28	135 mmol/L
<i>Glycylglycine</i>		135 mmol/L

b) Reagen 2

<i>L-Gamma-glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide</i>	22 mmol/L
--	-----------

2) Fungsi Komponen Reagen

a) Buffer TRIS

Buffer TRIS banyak digunakan sebagai larutan penyangga pH dalam media biologis. Karakteristik buffer TRIS adalah tidak higroskopis, mudah larut dalam air, tersedia dalam kemurnian yang tinggi, stabil dalam suhu ruang dan umumnya tidak mengganggu sistem enzim (Annisa, 2019).

b) *Glycylglycine*

Glycylglycine merupakan senyawa sintetis yang berfungsi sebagai substrat akseptor. Substrat akseptor merupakan molekul yang akan menerima gugus -glutamyl dari substrat donor (Sadikin, 2019).

c) *L-Gamma-glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide*

L-Gamma-glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide merupakan senyawa sintesis yang berfungsi sebagai substrat donor (Ikeda dan Taniguchi, 2000). Substrat donor sebagai pembawa dari gugus - glutamyl yang akan dipindahkan ke substrat akseptor oleh enzim Gamma GT (Sadikin, 2019). Karakteristik substrat ini adalah kelarutannya tinggi dan mudah terhidrolisis (Ikeda dan Taniguchi, 2000).

c. Nilai Rujukan

Tabel 2. Nilai Rujukan Kadar Enzim *Gamma Glutamyl Transferase* dalam Serum

Kategori	Nilai Rujukan	
	Wanita	Pria
Dewasa	< 38 U/L	< 55 U/L
Anak-anak		
1) 1 hari – 6 bulan	15 – 132 U/L	12 – 122 U/L
2) 6 bulan – 1 tahun	1 – 39 U/L	1 – 39 U/L
3) 1 – 12 tahun	4 – 22 U/L	3 – 22 U/L
4) 13 – 18 tahun	4 – 24 U/L	2 – 42 U/L

Sumber : Dyasis, 2016.

d. Uji Kesesuaian

1) Uji Konsistensi *Cohen's Kappa*

Statistik kappa adalah uji statistik yang sering digunakan untuk menilai keandalan antar penilai atau menilai keandalan antar metode pengukuran atau menilai keandalan antar alat pengukuran. Keandalan yang dinilai sangat penting karena data yang dikumpulkan merupakan representasi benar dari variabel yang diukur (McHugh, 2012). Statistik kappa diaplikasikan pada

kesepakatan yang menggunakan variabel kategori (Bujang dan Baharum, 2017). Kappa adalah bentuk dari koefisien korelasi, tetapi koefisien korelasi belum bisa ditafsirkan. Penafsiran dapat dilakukan dengan koefisien korelasi kuadrat atau koefisien determinasi. Koefisien determinasi adalah jumlah variasi dalam variabel terikat yang dapat dijelaskan oleh variabel bebas (McHugh, 2012).

Tabel 3. Interpretasi *Cohen's Kappa*

Koefisien Korelasi Kuadrat Kappa	Tingkat Konsistensi
0 – 2,0	Tidak ada
0,21 – 0,39	Sangat lemah
0,40 – 0,59	Lemah
0,60 – 0,79	Sedang
0,80 – 0,90	Kuat
> 0,90	Sangat kuat

Sumber : McHugh, 2012.

2) *Interclass Correlation Coefficients (ICC)*

a. Pengertian *Interclass Correlation Coefficients (ICC)*

Interclass Correlation Coefficients (ICC) adalah perkiraan statistik yang mengukur sejauh mana kesepakatan dan konsistensi diantara dua atau lebih pengukuran kuantitatif (variabel numerik) baik pengukuran berulang (*test-retest*) dan metode atau instrumen. ICC juga dirancang untuk mengukur tingkat keandalan, konsistensi dan stabilitas (Bujang dan Baharum, 2017).

b. Penentuan Jumlah Sampel Minimum pada ICC

Parameter yang diperhitungkan dalam menentukan jumlah sampel minimum adalah nilai-nilai dari R_0 dan R_1 . R_0 adalah nilai ICC

yang ditentukan dalam hipotesis nol (H_0), sedangkan R_1 adalah nilai ICC yang ditentukan dalam hipotesis alternatif (H_a) (Bujang dan Baharum, 2017).

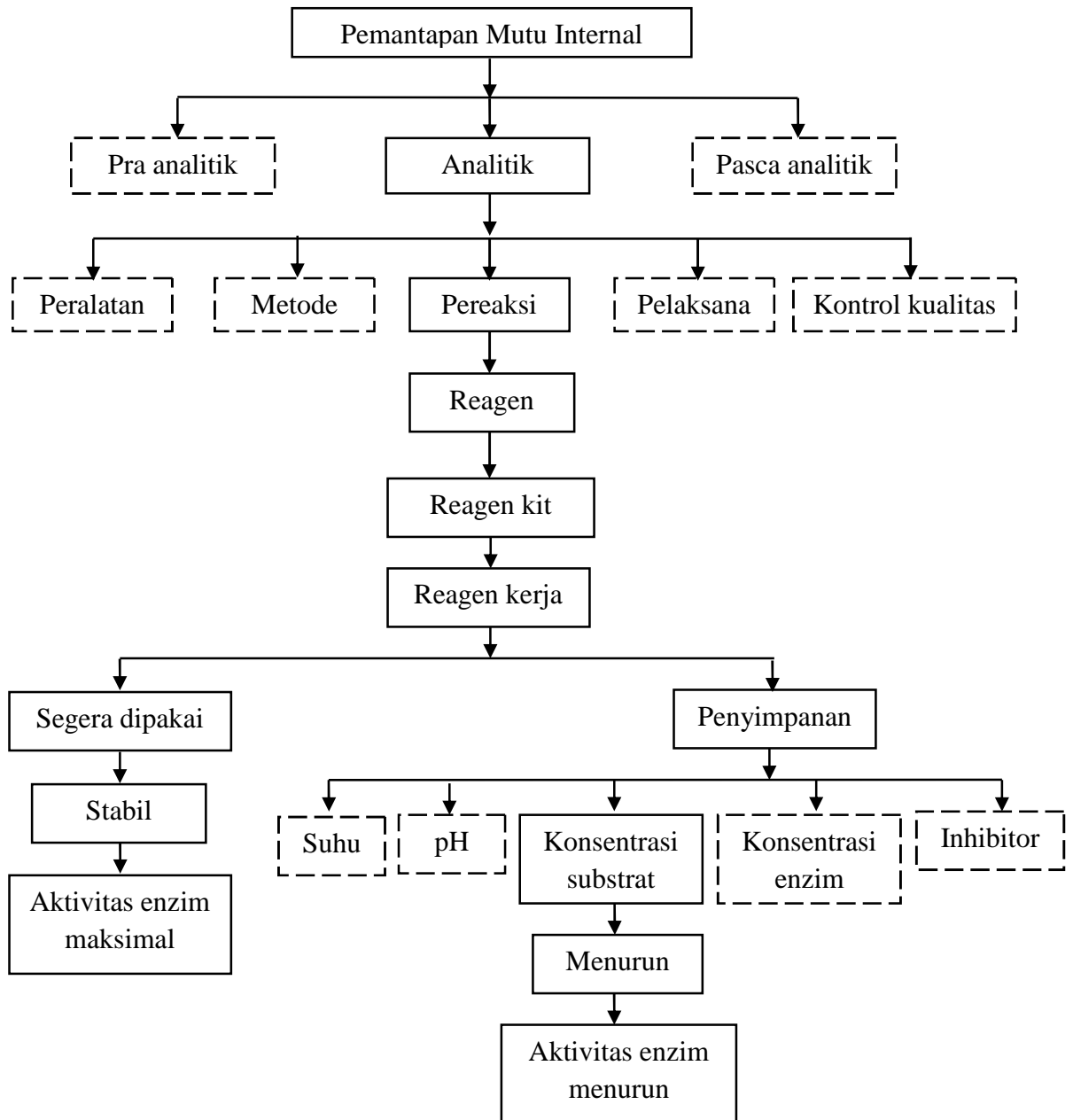
1) Pengukuran Keandalan Berulang (*Test-retest Reliability*)

Pengukuran keandalan berulang mengukur tingkat konsistensi antara dua pengukuran numerik atau kuantitatif pada waktu yang berbeda. Penentuan jumlah sampel minimum untuk mendeteksi nilai ICC 0,5; 0,6 dan 0,7 adalah 22, 15 dan 10 sampel (Bujang dan Baharum, 2017). Penentuan jumlah sampel minimum dapat dilihat pada lampiran 4 sesuai nilai-nilai ICC yang dikehendaki.

2) Pengukuran Keandalan Metode atau Instrumen

Pengukuran Keandalan Metode atau instrumen adalah membandingkan konsistensi yang diperoleh dari dua metode atau dua instrumen yang berbeda, dimana salah satu metode atau instrumen adalah *gold standart* (baku emas) dari suatu pengukuran. Khusus pengukuran ini, nilai-nilai ICC yang dianjurkan dari R_0 minimal adalah 0,90 dalam hipotesis nol, kemudian untuk nilai yang lebih tinggi dari R_1 minimal adalah 0,95 atau 0,97 dalam hipotesis alternatif (Bujang dan Baharum, 2017).

B. Kerangka Teori

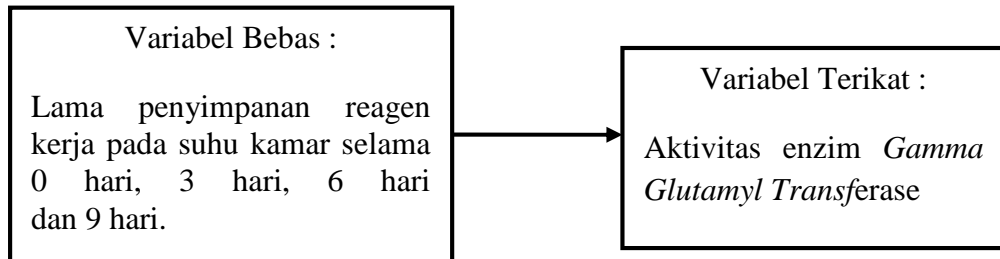


Gambar 7. Kerangka Teori

: diteliti

: tidak diteliti

C. Hubungan Antar Variabel



Gambar 8. Hubungan Antar Variabel

D. Hipotesis

Ada kesesuaian yang tinggi hasil pengukuran aktivitas enzim *Gamma Glutamyl Transferase* metode kinetik menggunakan reagen baru dan setelah penyimpanan pada suhu kamar.