

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Darah

Darah merupakan salah satu komponen cairan tubuh berwarna merah yang sangat penting untuk kelangsungan hidup manusia. Di dalam tubuh, darah memiliki volume sekitar satu per tiga belas dari total berat badan atau sekitar 5 liter. Sekitar 55% dari total volume darah merupakan cairan tubuh dan 45% sisanya merupakan sel darah (Irianto, 2012).

Darah adalah jaringan hidup di dalam pembuluh darah yang bertugas untuk membawa nutrisi, elektrolit dan vitamin, mentransportasikan oksigen, mengatur keseimbangan asam dan basa, mengatur suhu tubuh dengan cara konduksi, membawa panas tubuh ke seluruh jaringan tubuh melalui perantara jaringan arteri, vena dan kapilaris (Syarifuddin, 2000).

2. Serum

Serum adalah cairan yang berasal dari sisa penggumpalan atau pembekuan darah yang berwarna kuning muda dan tidak mengandung fibrinogen serta faktor pembekuan darah. Serum di dalam darah memiliki volume lebih sedikit dibanding dengan plasma (Hiru, 2013). Fibrinogen merupakan protein yang terkandung dalam plasma darah yang diubah menjadi fibrin dan menyebabkan terjadinya pembekuan darah karena protein larut dalam serum sehingga serum tidak lagi mengandung

fibrinogen tetapi zat-zat lain masih tetap ada di dalam serum (Evelyn, 2010).

Pembuatan serum diawali dengan membiarkan darah membeku selama 15-30 menit pada suhu ruang (suhu 20-25 °C) kemudian disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 5-15 menit. Sampel darah yang akan dibuat serum biasanya ditampung ke dalam tabung reaksi ataupun tabung vakum tanpa tambahan antikoagulan (tabung tutup merah). Pemisahan serum setelah proses sentrifugasi dilakukan paling lambat dalam waktu 2 jam (Permenkes, 2013).

Kandungan di dalam serum terdiri dari antigen, antibodi, hormon dan 6-8% protein yang tidak digunakan dalam proses pembekuan darah (Khasanah, 2015). Antibodi yang terkandung dalam serum berfungsi sebagai penghancur sekaligus benteng pertahanan terhadap protein asing (antigen) seperti virus, bakteri dan zat penyebab penyakit yang masuk ke dalam tubuh.

Serum telah menjadi sampel yang digunakan oleh hampir seluruh pemeriksaan kimiawi. Penggunaan serum sebagai pengganti plasma dalam pemeriksaan biokimia digunakan untuk mencegah pencemaran spesimen akibat antikoagulan yang mungkin mempengaruhi pemeriksaan (Sacher dan McPherson, 2012).

Tabel 1. Perbedaan Serum dan Plasma

Ciri	Plasma	Serum
Warna	Agak kuning dan jernih	Agak kuning dan jernih
Kekentalan	Lebih kental dari air	Lebih kental dari air
Antikoagulan	Perlu	Tidak perlu
Fibrinogen	Masih ada	Tidak ada
Serat fibrin	Tidak ada	Ada gumpalan
Pemisahan sampel	Pemusingan	Penggumpalan spontan
Gel terkumpul dalam	Endapan	Gumpalan
Suspensi kembali sel	Dapat	Tidak

Sumber: Sadikin, 2002.

3. Penyimpanan Serum untuk Pemeriksaan Kadar Kreatinin

Menurut Ruth dan Tankersly (2012), tahap praanalitik yang masih kurang diperhatikan di laboratorium yaitu tentang penyimpanan serum. Penyimpanan serum dilakukan apabila ada penundaan pemeriksaan, pengiriman spesimen ke laboratorium lain ataupun penyimpanan karena dikhawatirkan akan ada tambahan pemeriksaan atau pemeriksaan ulang sehingga tidak perlu melakukan pengambilan darah kembali kepada pasien.

Perubahan konsentrasi pada protein dapat terjadi akibat penyimpanan serum yang lama dengan suhu yang tidak tepat. Perubahan konsentrasi tersebut menyebabkan terjadinya degradasi protein yang memecah ikatan peptida dan mengubah protein menjadi asam amino, sehingga kadar protein menjadi lebih rendah selama penyimpanan. Hal tersebut akan berpengaruh terhadap hasil pemeriksaan kadar kreatinin karena kreatinin merupakan asam amino yang diproduksi oleh hati, pankreas dan ginjal (Meilinda, 2017). Sehingga apabila terjadi penundaan pemeriksaan dan serum tidak disimpan di dalam lemari es maka akan mempengaruhi kadar kreatinin. Sampel yang disimpan pada suhu 20-

25 °C hanya dapat stabil selama 2 hari dan jika disimpan pada suhu 2-8 °C akan stabil selama 5-7 hari (Hartini, 2016).

Peraturan Menteri Kesehatan nomor 43 tentang Penyelenggaraan Laboratorium Klinik yang Baik menyebutkan bahwa serum yang digunakan untuk pemeriksaan kadar kreatinin yang disimpan di dalam lemari es dengan suhu 4 °C stabil selama 24 jam, disimpan pada suhu 20-25 °C stabil selama 24 jam dan yang disimpan pada suhu -20 °C stabil selama 8 bulan.

4. Kreatinin

a. Pengertian kreatinin

Kreatin disintesis di hati dan akan diubah menjadi kreatinin, biasanya ditemukan dalam otot rangka yang berikatan dalam bentuk kreatin fosfat (CP) atau senyawa yang berfungsi untuk menyimpan energi. Kreatin fosfat tersebut diubah menjadi kreatinin melalui proses katalisasi enzim kreatin kinase (CK) dalam sintesis *Adenosin Triphospat* (ATP) dari *Adenosin Diphosphat* (ADP) (Sacher dan McPherson, 2012).

Kreatinin yang dikeluarkan oleh seseorang setiap harinya memiliki jumlah yang bergantung pada massa otot total dari aktivitas otot atau tingkat metabolisme protein. Tetapi pembentukan kreatinin harian umumnya berjumlah tetap, kecuali jika terjadi cedera fisik yang berat atau penyakit degeneratif yang menyebabkan kerusakan pada otot sehingga massa otot menurun (Riswanto, 2013).

Pada pasien yang mulai mengalami penuaan akan terjadi penurunan fungsi ginjal yang disertai dengan penurunan massa otot sedangkan konsentrasi kreatinin akan cenderung stabil, tetapi angka bersihan kreatin selama 24 jam akan mengalami penurunan (Sacher dan McPherson, 2012).

b. Metabolisme kreatinin

Sekitar 94% kreatin banyak ditemukan di jaringan otot. Kreatin dari otot diambil dari darah karena otot sendiri tidak mampu mensintesis kreatin. Kreatin darah berasal dari makanan dan biosintesis yang melibatkan berbagai organ terutama hati. Proses awal biosintesis kreatin berlangsung di ginjal yang melibatkan asam amino arginin dan glisin. Menurut salah satu penelitian *in vitro*, kreatin secara hampir konstan akan diubah menjadi kreatinin dalam jumlah 1,1% per hari (Wulandari, 2015).

Sebagian (16%) dari kreatinin yang terbentuk dalam otot akan mengalami degradasi dan diubah kembali menjadi kreatin. Sebagian kreatinin juga dibuang lewat jalur intestinal dan mengalami degradasi lebih lanjut oleh kreatininase bakteri usus. Kreatininase bakteri akan mengubah kreatinin menjadi kreatin yang kemudian akan masuk kembali ke darah (*enteric cycling*). Produk hasil dari degradasi kreatinin adalah 1-metilhidanton, sarkonsin, urea, metilamin, glioksilat, glikolat dan metilguanidin (Siregar, 2009).

Metabolisme kreatinin di dalam tubuh menyebabkan hasil ekskresi kreatinin tidak benar-benar konstan dan mencerminkan hasil filtrasi glomerulus. Meskipun pada orang yang sehat tanpa adanya gangguan fungsi ginjal, besarnya hasil degradasi dan ekskresi ekstrarenal kreatinin ini sangat kecil dan dapat diabaikan (Wyss, 2000).

5. Pemeriksaan Kreatinin

Pemeriksaan kreatinin merupakan indikator khusus pada gangguan fungsi ginjal dan dianggap lebih sensitif daripada pemeriksaan ureum dan BUN karena kadarnya dalam darah tidak dipengaruhi oleh asupan makanan ataupun minuman. Kreatinin merupakan produk sampingan dari katabolisme otot yang dihasilkan dari penguraian massa otot dan diproduksi dengan kecepatan konstan oleh hati dan otot. Pemeriksaan kreatinin darah merupakan salah satu parameter yang digunakan untuk menilai fungsi ginjal, karena konsentrasi kreatinin di dalam plasma dan ekskresinya pada urin dalam 24 jam relatif konstan. Oleh karena itu, pemeriksaan kreatinin ini penting dilakukan untuk mendeteksi awal gangguan fungsi ginjal (Kee, 2013).

a. Metode pemeriksaan kreatinin

1) Metode Jaffe

Metode ini pertama kali ditemukan oleh M. Jaffe pada tahun 1886. Metode ini dilakukan dengan cara mereaksikan kreatinin dalam serum dengan asam pikrat. Kreatinin dalam

larutan alkali akan membentuk kompleks berwarna merah-oranye apabila bereaksi dengan asam piruvat. Kompleks pikrat-kreatinin yang telah terbentuk tersebut lalu diukur kadar kreatininnya dengan fotometer pada panjang gelombang 510 nm. Serum lipemik, ikterik dan yang mengalami hemolisis tidak boleh digunakan sebagai bahan pemeriksaan kreatinin karena dapat mengganggu terbentuknya kompleks warna saat terjadinya reaksi. Kandungan bilirubin yang tinggi dalam serum ikterik dapat menurunkan kadar kreatinin baik pada pemeriksaan metode Jaffe maupun enzimatik.

2) Metode Enzimatik

Metode enzimatik untuk pemeriksaan kreatinin memiliki teknik yang memberikan hasil yang lebih akurat dibandingkan metode Jaffe sehingga teknik enzimatik lebih dipilih untuk praktek klinis. Tetapi metode enzimatik memiliki kelemahan yaitu biaya pemeriksaan yang mahal dan masa pakai dari sensor enzimatik yang terbatas pada aktivitas enzim tersebut. Sehingga metode Jaffe lebih banyak digunakan dalam pemeriksaan kreatinin (Drion, dkk., 2012).

b. Nilai rujukan

Tabel 2. Nilai Rujukan Kadar Kreatinin Metode Jaffe

Populasi	Sampel	Hasil
Pria Dewasa	Plasma atau serum	0,7-1,3 mg/dL
	Urin	800-2.000 mg/hari
Wanita Dewasa	Plasma atau serum	0,6-1,1 mg/dL
	Urin	600-1.800 mg/hari
Anak-Anak	Plasma atau serum	0,4-0,7 mg/dL

Sumber: Diasys, 2015.

6. Faktor yang Mempengaruhi Hasil Pemeriksaan Kreatinin

Menurut Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 43 Tahun 2013 tentang cara penyelenggaraan laboratorium yang baik, faktor pada pasien yang dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan kreatinin:

a. Obat-obatan

Obat-obatan yang dikonsumsi akan menyebabkan terjadinya respon tubuh terhadap obat tersebut. Pemberian obat secara intramuskular akan menimbulkan jejas pada otot sehingga menyebabkan enzim yang terkandung dalam sel otot akan masuk ke dalam darah, yang mana hal tersebut akan mempengaruhi hasil pemeriksaan antara lain pemeriksaan *Creatine kinase (CK)* dan *Lactic dehydrogenase (LDH)*.

b. Aktivitas fisik

Aktivitas fisik dapat menyebabkan terjadinya pemindahan cairan tubuh antara kompartemen di dalam pembuluh darah dan interstitial, kehilangan cairan karena berkeringat dan perubahan kadar hormon. Hal tersebut akan menyebabkan adanya perbedaan yang signifikan antara kadar gula darah pada arteri

dan vena serta terjadinya perubahan konsentrasi gas darah, kadar asam urat, kreatinin, aktivitas CK, AST, LDH, LED, Hb, hitung sel darah dan produksi urin.

c. Trauma

Trauma dengan luka perdarahan akan menyebabkan terjadinya penurunan kadar substrat maupun aktivitas enzim yang akan diukur, termasuk kadar Hb, hematokrit dan produksi urin. Hal ini terjadi akibat pemindahan cairan tubuh ke dalam pembuluh darah sehingga menyebabkan terjadinya pengenceran darah. Pada kasus lebih lanjut akan terjadi peningkatan kadar ureum dan kreatinin serta enzim-enzim yang berasal dari otot.

d. Jenis kelamin

Jenis kelamin juga mempengaruhi berbagai kadar dan aktivitas zat-zat di dalam tubuh. Kadar besi serum dan kadar Hb berbeda pada wanita dan pria, tetapi perbedaan ini menjadi tidak bermakna lagi setelah berumur 65 tahun. Perbedaan lainnya yang disebabkan oleh perbedaan gender adalah aktivitas CK dan kreatinin. Perbedaan tersebut disebabkan akibat massa otot pria yang relatif lebih besar daripada wanita. Namun sebaliknya, kadar hormon seks pada wanita seperti prolaktin dan kolesterol HDL akan lebih tinggi kadarnya daripada pria.

Pemeriksaan kreatinin dapat terganggu oleh askorbat, bilirubin, asam urat, piruvat, sefalosporin dan metildopa. Senyawa tersebut dapat

bereaksi terhadap reagen kreatinin dengan membentuk senyawa yang mirip dengan kreatinin sehingga dapat menyebabkan meningkatnya kadar kreatinin atau kadar kreatinin tinggi palsu. Penggunaan plasma EDTA, sitrat dan oksalat juga dapat mengganggu pemeriksaan kreatinin karena senyawa tersebut akan bereaksi dengan asam pikrat dari reagen kreatinin dan akan menghasilkan senyawa kompleks berwarna kemerahan. Apabila hal tersebut terbaca dalam fotometer maka akan menghasilkan kadar kreatinin yang lebih tinggi dari kadar yang sebenarnya.

Faktor-faktor yang mempengaruhi hasil pemeriksaan kreatinin menurut Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 43 Tahun 2013 tentang cara penyelenggaraan laboratorium yang baik antara lain:

a. Penanganan sampel

Pengambilan dan pengolahan spesimen harus dilakukan secara benar dengan memperhatikan teknik pengambilan darah, lamanya waktu saat melakukan pungsi vena, jumlah spesimen yang mencukupi, ketepatan waktu pengumpulan spesimen, wadah spesimen yang benar dan bahan yang digunakan (Kepmenkes, 2009).

Sampel yang tidak langsung diperiksa harus segera disimpan sesuai dengan aturan cara penyimpanan sampel yaitu disimpan pada suhu 2-8 °C. Hal tersebut dilakukan untuk menjaga

stabilitas sampel. Faktor yang mempengaruhi stabilitas sampel antara lain:

- 1) Terjadinya kontaminasi oleh kuman atau bahan kimia lain
- 2) Terjadinya metabolisme oleh sel-sel hidup atau kontaminan pada sampel
- 3) Terjadinya penguapan
- 4) Suhu yang tidak sesuai dengan aturan
- 5) Terkena paparan sinar matahari langsung

b. Peralatan atau instrumen

Penggunaan peralatan dalam pemeriksaan laboratorium harus sesuai dengan petunjuk penggunaan (*instruction manual*) yang tersedia pada peralatan tersebut. Pada setiap peralatan juga harus dilakukan pemeliharaan sesuai dengan petunjuk penggunaan agar diperoleh kondisi alat yang optimal, dapat beroperasi dengan baik dan tidak terjadi kerusakan. Kegiatan tersebut harus dilakukan secara rutin untuk seluruh peralatan laboratorium sehingga dapat meningkatkan kualitas produksi, keamanan kerja, pencegahan terhadap produksi yang tiba-tiba berhenti dan penurunan terhadap biaya perbaikan. Peralatan yang tidak dioperasikan sesuai dengan aturan yang ada akan menyebabkan ketidaksesuaian hasil pemeriksaan atau hasil pemeriksaan palsu.

c. Kalibrasi peralatan

Kalibrasi sangat diperlukan agar pemeriksaan laboratorium mendapatkan hasil yang sesuai dan terpercaya. Kalibrasi harus dilakukan secara berkala minimal satu kali dalam satu tahun atau sesuai dengan pedoman pabrikan prasarana dan alat kesehatan serta ketentuan peraturan perundang-undangan sesuai instruksi pabrik. Kegiatan ini dilakukan oleh teknisi penjual alat, petugas laboratorium yang memiliki kompetensi dan terlatih atau oleh institusi yang berwenang.

Pada pemeriksaan kadar kreatinin, peralatan yang digunakan sebagai penentu hasilnya adalah fotometer. Kalibrasi fotometer meliputi:

- 1) Ketepatan pengukuran absorban
- 2) Ketepatan panjang gelombang
- 3) Linearitas alat
- 4) *Stray light (stray energy)*

Stray light merupakan cahaya lain diluar panjang gelombang tertentu yang diinginkan. Sumbernya berasal dari sinar yang bocor dari luar dan sinar dari panjang gelombang lain maupun dari alat itu sendiri. *Stray light* dapat menyebabkan alat kehilangan linearitasnya dan puncak absorbansinya dapat tergeser.

d. Bahan kontrol

Bahan kontrol merupakan bahan yang digunakan untuk memantau ketepatan pemeriksaan laboratorium dan untuk mengawasi kualitas hasil pemeriksaan di laboratorium. Bahan kontrol dapat dibedakan berdasarkan sumbernya, bentuk dan cara pembuatannya. Bahan kontrol yang dibuat sendiri terdiri dari bahan kontrol yang dibuat dari serum (*pooled sera*), bahan kontrol yang dibuat dari bahan kimia murni atau larutan spikes, bahan kontrol yang terbuat dari lisat atau disebut juga hemolisat dan kuman kontrol yang dibuat dari strain murni kuman. Sedangkan bahan kontrol yang dibeli dalam bentuk sudah jadi atau bahan kontrol komersial terdiri dari:

1) Bahan kontrol *unassayed*

Bahan kontrol *unassayed* merupakan bahan kontrol yang nilai rujukannya dapat diperoleh setelah dilakukan periode pendahuluan. Bahan kontrol jenis ini bisa digunakan untuk semua pemeriksaan, lebih tahan lama dan praktis. Tetapi bahan kontrol ini tidak bisa dipakai sebagai kontrol akurasi karena tidak memiliki nilai rujukan dan hanya digunakan untuk memantau ketelitian pemeriksaan dan melihat ada tidaknya perubahan akurasi.

2) Bahan kontrol *assayed*

Bahan kontrol *assayed* merupakan bahan kontrol yang sudah diketahui nilai rujukan dan batas toleransi menurut metode pemeriksaannya. Dibandingkan dengan bahan kontrol *unassayed*, bahan kontrol ini dapat digunakan untuk kontrol akurasi dan presisi serta dapat menilai alat dan cara baru tetapi harga bahan kontrol *assayed* terbilang lebih mahal daripada bahan kontrol *unassayed*.

Persyaratan bahan kontrol agar dapat digunakan sebagai bahan kontrol suatu pemeriksaan antara lain:

- 1) Memiliki komposisi yang sama atau mirip dengan spesimen pemeriksaan
- 2) Komponen yang terkandung di dalam bahan kontrol harus stabil selama masa penyimpanan
- 3) Pada bahan kontrol komersial harus disertai dengan sertifikat analisis yang dikeluarkan oleh pabrik pembuatnya

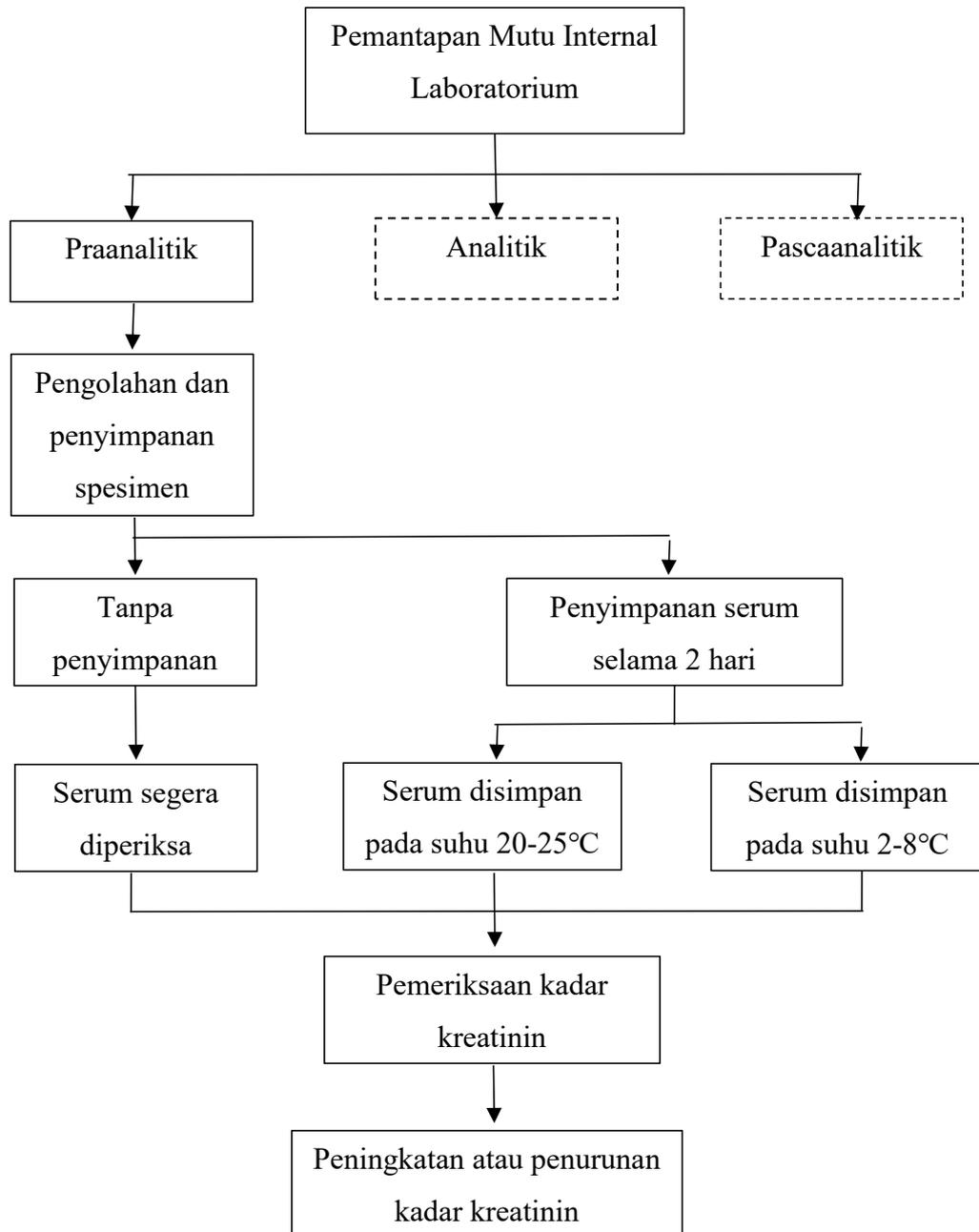
e. Reagen

Reagen merupakan zat kimia dalam suatu reaksi yang digunakan untuk mendeteksi, mengukur, memeriksa dan menghasilkan zat lain. Reagen yang digunakan di laboratorium ada yang dibuat sendiri dan ada yang sudah jadi atau komersial.

Reagen komersial harus memenuhi persyaratan dalam uji kualitas reagen sebagai berikut:

- 1) Etiket atau label wadah pada reagen komersial harus mencantumkan nama atau kode bahan, nomor batch, tanggal produksi dan batas kadaluarsa reagen tersebut.
- 2) Batas kadaluarsa yang tercantum dalam kemasan harus diperhatikan karena batas tersebut berlaku pada reagen yang belum dibuka. Apabila reagen tersebut wadahnya telah terbuka, maka masa kadaluarsanya akan menjadi lebih pendek dari reagen yang belum dibuka.
- 3) Keadaan fisik kemasan harus dalam keadaan utuh, tidak rusak dan tidak terdapat perubahan warna pada reagen tersebut.

B. Kerangka Teori



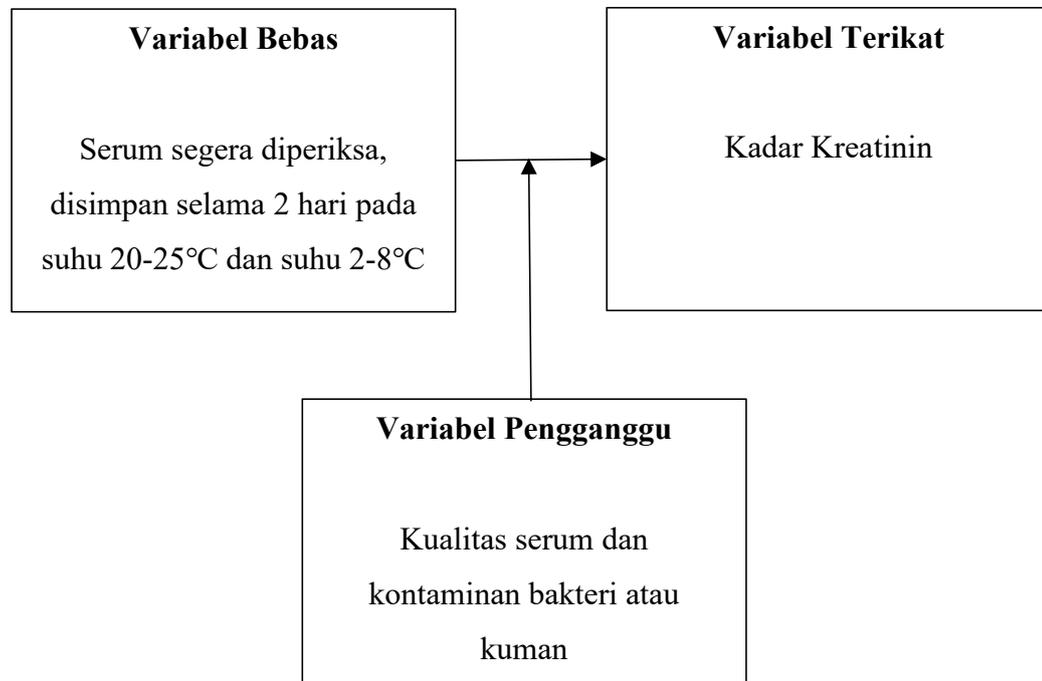
Keterangan:

Yang diteliti : _____

Yang tidak diteliti : - - - - -

Gambar 1. Kerangka Teori

C. Hubungan Antar Variabel



Gambar 2. Hubungan Antar Variabel

D. Hipotesis

Ada perbedaan kadar kreatinin pada serum segera diperiksa, disimpan selama 2 hari pada suhu 20-25 °C dan suhu 2-8 °C.