

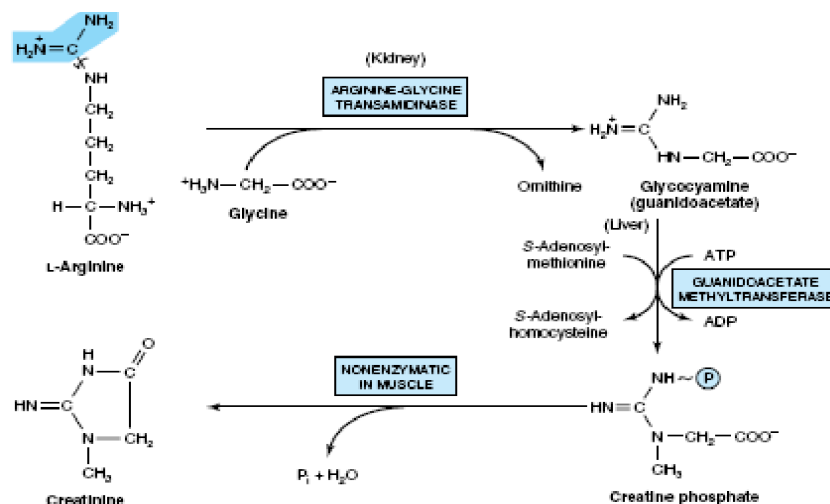
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Kreatinin

Kreatinin adalah produk akhir dari metabolisme kreatin otot dan kreatin fosfat, disintesis dalam hati, ditemukan dalam otot rangka dan diekskresikan dalam urine (Andryani, 2018). Pembentukan kreatinin dimulai dengan transamidinasi dari arginin menjadi glisin membentuk asam guanidoasetat (GAA). Reaksi tersebut terjadi terutama di ginjal, GAA diangkut ke hati dan dimetilasi oleh S-adenosil metionin untuk membentuk kreatin. Kreatin memasuki sirkulasi dan 90% digunakan dan disimpan oleh jaringan otot. Dalam reaksi yang dikatalisis oleh kreatin fosfokinase sebagian besar kreatin otot mentransfer ikatan fosfat energi tinggi dari ATP menjadi kreatin fosfat. (Hosten, 1990).



Gambar 1. Biosintesis Kreatin dan Kreatinin
Sumber : Murray, 2003.

2. Metode Pemeriksaan Kreatinin

Pada penelitian ini pemeriksaan kadar kreatinin dilakukan menggunakan metode *Jaffe*. Prinsip pemeriksaan kreatinin yaitu kreatinin akan bereaksi dengan asam pikrat dalam suasana basa membentuk kompleks warna kuning-oranye, kompleks warna yang terbentuk dibaca secara kolorimetri pada panjang gelombang 500-560 nm. (Kee, 2007). Reaksi *jaffe* akan efektif jika terjadi pada pH 10,0 – 11,7 (Rustini, 2015).

Reaksi:

Kreatinin + asam pikrat \longrightarrow kreatinin pikrat kompleks

Keuntungan dari reaksi *jaffe* adalah sederhana dan penggunaannya mendapat dukungan klinisi secara luas selama bertahun-tahun. Kerugian dari reaksi *jaffe* adalah gangguan yang signifikan dari senyawa-senyawa selain kreatinin. Menurut Turgeon (2012) Kromogen non-kreatinin yang bereaksi dengan reaksi *jaffe* meliputi :

a. Protein

Reaksi *jaffe* terganggu dengan keberadaan protein dan beberapa bentuk degradasinya. Albumin adalah protein utama yang disintesis oleh hati dan bersirkulasi dalam darah (Turgeon, 2012). Penggunaan asam pikrat dengan konsentrasi dikisaran 5-20 mmol/l mencegah albumin bereaksi dengan pikrat menghasilkan kromogen non kreatinin (Spencer, 1986). Kecepatan reaksi antara protein dengan pikrat tidak menjadi cepat pada waktu 80-100 detik setelah pencampuran. Peningkatan spesifisitas uji kinetik dicapai dengan memilih waktu

pengukuran 20-80 detik (Burtis, 2012). Untuk mengatasi hasil yang tinggi palsu konsentrasi asam pikrat yang digunakan sebesar 20 mmol/l dengan interval pembacaan dilakukan pada waktu 60 detik setelah pencampuran.

b. Glukosa

Senyawa yang memiliki gugus metilen aktif memiliki potensi untuk bereaksi dengan pikrat, hal tersebut terjadi pada sampel yang terkandung aseton dan glukosa. Konsentrasi glukosa 60-90 mmol/L dapat mengurangi pengukuran kadar sebanyak 30% (Burtis,2012).

c. Piruvat

Pemisahan serum dari komponen seluler yang tertunda menyebabkan peningkatan hasil kreatinin karena akumulasi piruvat dengan reaksi *jaffe*.

d. Keton

Keton yang berasal dari pemecahan lipid meningkat untuk memenuhi kebutuhan energi akibat penurunan pemanfaatan karbohidrat seperti diabetes, kelaparan dan muntah. Interferensi asetoasetat bervariasi dari peningkatan yang dapat diabaikan hingga peningkatan 3,5 mg/dl (310 μ mol/L) pada konsentrasi kreatinin yang tampak pada konsentrasi asetoasetat 8 mmol/l (Burtis, 2012). Keton bereaksi cepat dengan kreatinin pikrat dalam 20 detik setelah pencampuran reagen dan sampel menyebabkan hasil tinggi palsu (Burtis, 2012).

e. Konsentrasi Natrium Hidroksida

Konsentrasi natrium hidroksida adalah sejumlah mmol natrium hidroksida dalam liter. Natrium hidroksida (NaOH) digunakan sebagai pengatur pH yang kestabilannya kurang tahan terhadap perubahan suhu sehingga dapat mempengaruhi hasil reaksi (Rustini, 2015). Natrium hidroksida meningkatkan laju pembentukan kompleks berwarna dan mempercepat kerusakan. Pada konsentrasi diatas 500 mmol/l terjadi penurunan kompleks berwarna menyebabkan hasil rendah palsu. Konsentrasi diatas 200 mmol/l meningkatkan absorbansi dengan hasil kreatinin tinggi palsu (Burtis, 2012). Pengendalian suhu dan penggunaan konsentrasi NaOH sebesar 200 mmol/l dilakukan untuk meminimalisir gangguan.

Zat pengganggu lain pada metode *jaffe* adalah guanidin, hemoglobin F dan sefalosporin. Sephalosporin dengan konsentrasi 10 mmol/l bereaksi menghasilkan peningkatan kreatinin 500 $\mu\text{mol/l}$ (Spencer, 1986). Laju pembentukan kompleks *jaffe* dan absorptivitas kompleks bergantung pada suhu, dengan perbedaan terukur yang teramati antara 25°C sampai 37°C, akibatnya kontrol suhu merupakan komponen penting dalam reproduktifitas pengujian (Burtis, 2012).

3. Faktor yang Mempengaruhi Kadar Kreatinin

Nilai normal kadar kreatinin pada wanita adalah 0,6 – 1,1 mg/dl sedangkan pada laki-laki adalah 0,7 – 1,3 mg/dl (DiaSys). Peningkatan kadar kreatinin menunjukkan indikasi penyakit ginjal atau kerusakan

nefron lebih dari 50% (Soewoto, dkk., 2001). Kadar kreatinin yang rendah berkaitan dengan massa otot yang rendah seperti pada wanita dan seseorang dengan penyakit kronis, malnutrisi akibat asupan protein yang rendah membatasi pembentukan kreatinin, wanita hamil (terjadi peningkatan laju filtrasi glomerulus ginjal), penyakit hati lanjut menyebabkan berkurangnya produksi kreatinin akibat penurunan sintesis hati dan juga pada kondisi tubuh dengan kelebihan cairan.

Kadar kreatinin yang tinggi akibat dari aktifitas fisik yang berlebih seperti olahraga karena terjadi peningkatan pemecahan fosfokreatin yang terdapat didalam otot sebagai cadangan energi tubuh (Guyton, 2014). Diet kaya daging atau mengonsumsi suplemen kaya kreatin dapat meningkatkan konsentrasi kreatin intramuskular sehingga meningkatkan performa dan adaptasi tubuh atlet saat latihan (Kreider, 2017). Kreatin meningkat setelah asupan makanan kaya daging meskipun fungsi ginjal normal, karena proses pemasakan daging mengkonversi kreatin menjadi kreatinin (Rustini, 2015). Pengaruh obat-obatan (vitamin c, sefalosporin, aldedon, aspirin dan co-trimexazole), dan seseorang dengan usia lanjut memiliki keterbatasan fungsi organ ginjal.

4. Penyimpanan Sampel Terhadap Kadar Kreatinin

Beberapa spesimen yang tidak langsung diperiksa dapat disimpan dengan memperhatikan jenis pemeriksaan yang akan diperiksa (Kepmenkes, 2010). Penyimpanan spesimen dilakukan jika pemeriksaan ditunda, spesimen akan dikirim ke laboratorium lain atau disimpan karena

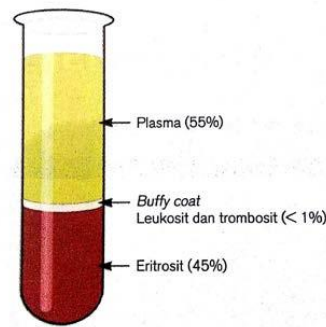
dikhawatirkan akan ada tambahan pemeriksaan sehingga pasien tidak akan mendapat penindakan pengambilan darah kembali (Hasan, 2017).

Stabilitas sampel serum dan plasma heparin pemeriksaan kreatinin pada suhu 4 – 25°C mencapai 7 hari menurut *leaflet* reagen DiaSys. Beberapa faktor yang menyebabkan penyimpanan analit kreatinin meningkatkan hasil akibat tidak spesifiknya metode *jaffe* oleh gangguan piruvat, asam askorbat, protein, glukosa (Turgeon, 2012), suhu (Pahwa, 2015) dan pH (Hosten, 1990). Penggunaan NaOH sebagai pengatur pH memiliki beberapa kelemahan yakni kestabilan pH yang kurang tahan terhadap perubahan suhu dapat mempengaruhi hasil reaksi pada kadar tertentu. Kontaminasi bakteri pada sampel yang disimpan terlalu lama akan mendapatkan hasil kreatinin rendah palsu. Mekanisme timbulnya gangguan ini akibat pertumbuhan bakteri yang dapat memperlambat laju reaksi *jaffe* dalam kasus ini jika tingkat gangguan rendah, dapat diatasi dengan memperpanjang waktu reaksi (Newman, 1999). Bakteri penghasil asam laktat merupakan salah satu bakteri yang cenderung tertarik pada habitat yang mengandung glukosa dan bakteri ini akan memfermentasikan senyawa tersebut menjadi asam laktat (Hasan, 2006).

5. Plasma

Plasma adalah supernatan darah yang hampir bebas dari sel yang mengandung antikoagulan dan diperoleh setelah sentrifugasi (WHO, 2002). Darah yang ditambah dengan antikoagulan tidak akan terjadi pembekuan dan darah akan tetap cair. Darah tersebut setelah didiamkan

beberapa menit atau setelah dilakukan sentrifugasi akan terpisah menjadi tiga bagian yaitu plasma yang berada dilapisan atas berupa cairan berwarna kuning, *buffycoat* yang berada di lapisan tengah berupa lapisan tipis sel leukosit dan trombosit serta eritrosit yang berada di lapisan bawah (Riswanto, 2013).



Gambar 2. Darah dengan Antikoagulan
Sumber : Kiswari, 2014.

Plasma masih mengandung fibrinogen, tidak mengandung faktor pembekuan II, V, VIII, tetapi mengandung serotonin tinggi. Dengan penambahan antikoagulan mencegah terjadinya pembekuan darah (Guder, 2009). Komposisi dari plasma diantaranya adalah 91 – 92% terdiri dari air, 7 – 8% mengandung protein plasma (albumin, globulin, fibrinogen dan trombin) (Gibson, 1995). Plasma bekerja sebagai medium (perantara) untuk penyaluran makanan, mineral, lemak, glukosa dan asam amino ke dalam jaringan dan mengangkut bahan buangan berupa urea, asam urat serta karbondioksida (Pearce, 1999). Tampilan sampel plasma hemolitik, plasma ikterik dan plasma lipemik berpotensi mengganggu pemeriksaan. (WHO, 2002).

a. Plasma Hemolisis

Plasma hemolisis ditandai dengan lapisan berwarna merah muda sebagai akibat dari kekuatan dinding eritrosit (Kiswari, 2014). Hemolisis dapat terjadi akibat kesalahan dalam penanganan tabung setelah pengambilan darah (Lieseke dan Zeibig, 2017). Hemolisis fisik disebabkan oleh penghancuran eritrosit oleh hipotonisitas serta penurunan atau peningkatan tekanan, zat yang mencemari juga dapat menyebabkan hemolisis *in-vitro* (WHO, 2002).

b. Plasma Ikterik

Plasma ikterik tampak berwarna kuning gelap atau kehijauan pada bagian darah yang cair dimana sering berkolorasi dengan kadar total bilirubin yang tinggi (Lieseke dan Zeibig, 2017). Bilirubin mengganggu sistem pengujian berbasis oksidase/peroksidase, bilirubin bereaksi dengan H_2O_2 yang terbentuk dalam sistem pengujian menyebabkan hasil lebih rendah secara sistematis dalam prosedur enzimatik yang digunakan untuk pengukuran kreatinin (WHO, 2002).

c. Plasma Lipemik

Lipemik terjadi akibat peningkatan konsentrasi trigliserida dalam plasma/serum karena asupan makanan dan perubahan metabolisme lipid. Lipemia mengganggu pengukuran fotometrik dengan hamburan cahaya dan penyerapan cahaya (WHO, 2002). Plasma lipemik berwarna putih susu karena hiperlipidemia (peningkatan kadar lemak dalam darah) atau adanya kontaminasi bakteri.

6. Heparin Tubes

Antikoagulan adalah aditif yang menghambat darah dan/atau plasma dari pembekuan memastikan bahwa konstituen yang akan diukur tidak berubah secara signifikan sebelum proses analitis (WHO, 2002). Tabung vakum adalah tabung reaksi hampa udara yang terbuat dari kaca atau plastik, apabila dilekatkan pada jarum, darah akan mengalir masuk ke dalam tabung dan berhenti mengalir ketika sejumlah volume tertentu telah tercapai.



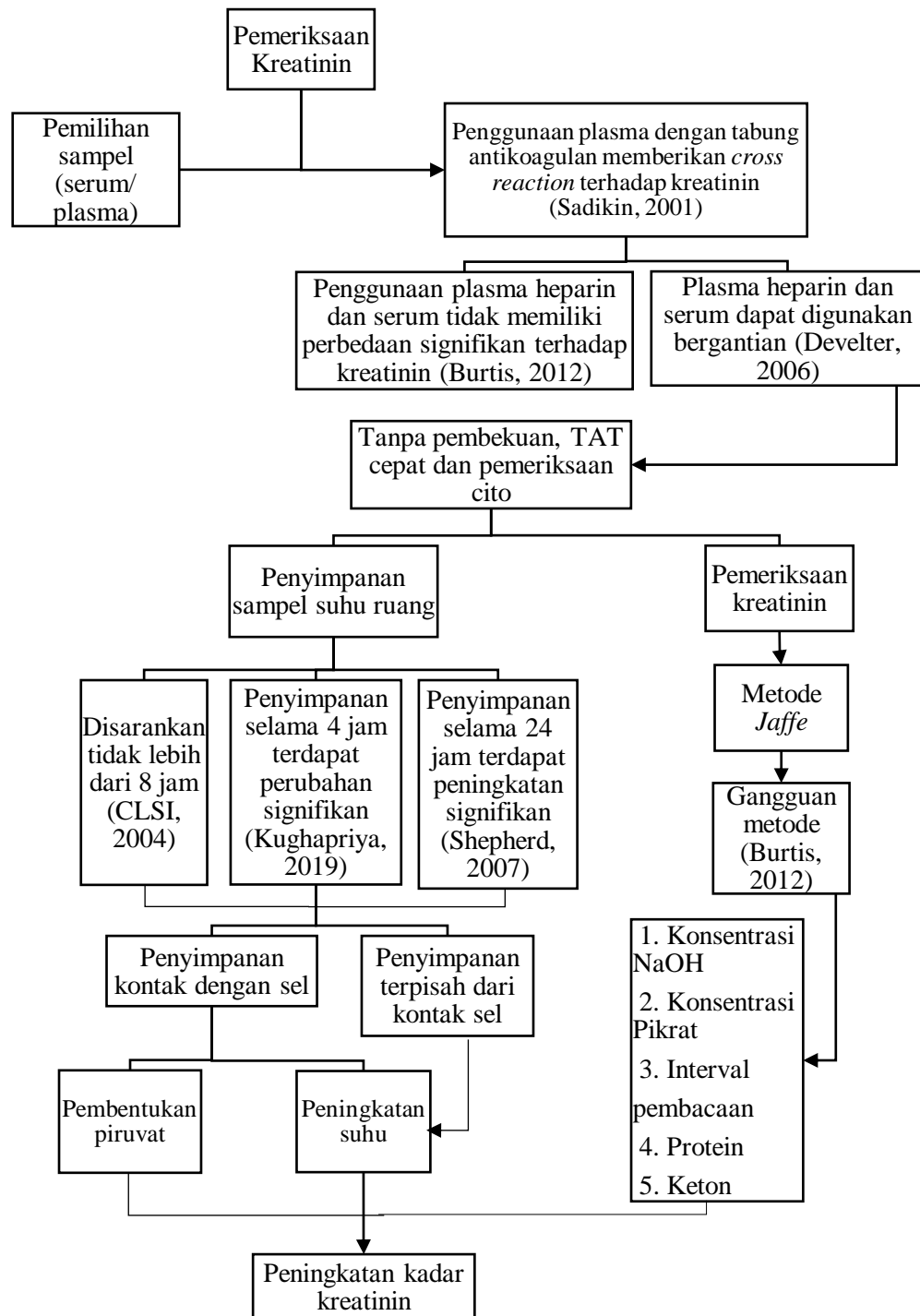
Gambar 3. *Vacutainer Lithium Heparin*
Sumber : Thomas Scientific, 2018.

Heparin digunakan sebagai antikoagulan *in vitro* dan *in vivo* yang bertindak sebagai zat yang menonaktifkan faktor pembekuan darah, trombin (Turgeon, 2012). Heparin bertindak sebagai antikoagulan dengan menciptakan kompleks dengan antitrombin III. Kompleks ini menghambat trombin dan faktor X yang diaktifkan untuk mencegah koagulasi (Dickinson, 2013).

Tabung plasma untuk kimia klinik tersedia dengan *spray-dried sodium heparin* atau zat adiktif *lithium heparin* (Dickinson, 2013). *Lithium heparin* adalah antikoagulan yang umum digunakan dalam

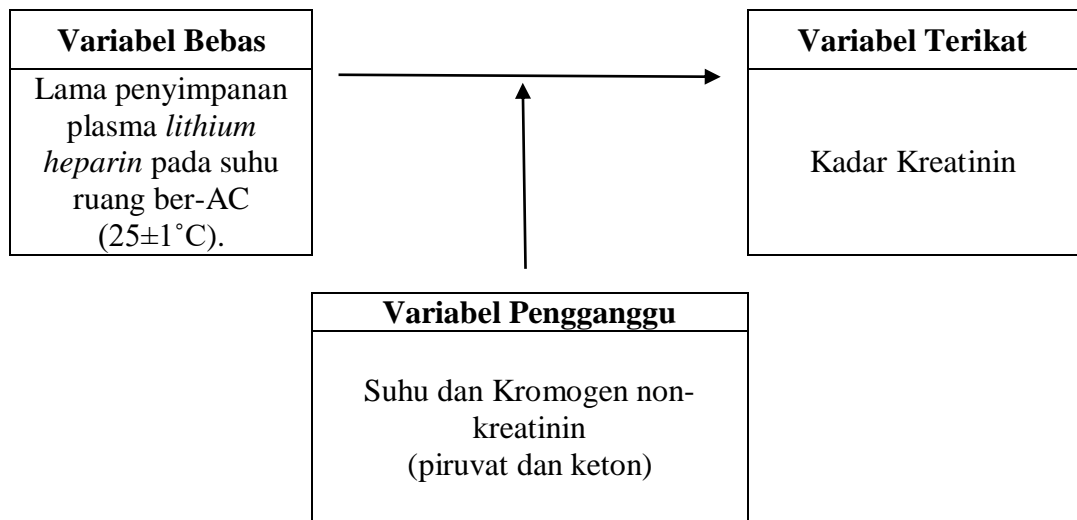
pemeriksaan kimia darah (Kokasih, 2016). *Lithium heparin* tidak boleh digunakan untuk spesimen yang digunakan menguji kadar lithium. Heparin sodium adalah mukopolisakarida alami yang sebagian besar tersusun oleh sekuens dari disakarida trisulfat: L-iduronic acid-2-sulfate-D-glucosamine-N, 6-disulfate (Bioberica, 2006). Heparin sodium tidak boleh digunakan untuk spesimen yang digunakan untuk menguji kadar natrium (Kiswari, 2014). Amonium heparin adalah garam *ammonium* glikosaminoglikans sulfat yang hadir sebagai campuran molekul heterogen dari sifat mukopolisakarida campuran yang bervariasi dalam molekul. *Ammonium heparin* tidak boleh digunakan untuk mengukur *ammonia* dan kreatinin (Turgeon, 2012).

B. Kerangka Teori



Gambar 4. Kerangka Teori

C. Hubungan Antar Variabel



Gambar 5. Hubungan antar Variabel

D. Hipotesis

Ada pengaruh lama penyimpanan plasma *lithium heparin* pada suhu ruang ber-AC ($25\pm 1^\circ\text{C}$) terhadap kadar kreatinin.