

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Laboratorium Klinik

a. Pengertian Laboratorium Klinik

Laboratorium klinik adalah suatu fasilitas yang mengintegrasikan berbagai proses analisis untuk mendukung diagnosis dan pengobatan pasien. Dalam konteks modern, laboratorium klinik telah berkembang dari praktik manual menjadi sistem yang sepenuhnya otomatis dan terintegrasi. Proses otomatisasi dalam laboratorium klinik, yang dikenal sebagai *Total Laboratory Automation* (TLA), mengintegrasikan semua fase pengujian, mulai dari pre-analitik hingga post-analitik, dalam satu sistem yang efisien. Laboratorium klinik berfungsi untuk melakukan berbagai tes diagnostik yang penting, yang dapat mencakup analisis darah, urin dan spesimen lainnya. Secara keseluruhan, laboratorium klinik merupakan komponen vital dalam sistem kesehatan modern, yang terus berkembang seiring dengan kemajuan teknologi dan kebutuhan untuk meningkatkan kualitas layanan Kesehatan (Armbruster dkk., 2014).

b. Tahap Pemeriksaan Laboratorium Klinik

1) Pra Analitik

Pra analitik adalah tahap pertama dalam proses pengujian spesimen pasien. Pada tahap ini dilakukan mulai dari persiapan,

pengambilan, dan pengolahan spesimen. Baik tahap analitik maupun pasca analitik memiliki tingkat kesalahan yang lebih rendah. Karena tahap pra-analitik yang sulit dikendalikan, seperti persiapan pasien, kesalahannya mencapai 68%. Laboratorium sulit mengendalikan hal ini, karena banyak variabel yang mempengaruhi kondisi pasien (Siregar dkk., 2018). Tahap pra analitik meliputi:

- a) Formular permintaan pemeriksaan
- b) Persiapan pasien
- c) Pengambilan dan penerimaan specimen
- d) Penanganan specimen
- e) Persiapan sampel untuk analisa (Permenkes, 2013).

2) Analitik

Tahap analitik pemeriksaan laboratorium mengacu pada pelaksanaan pemeriksaan yang diinginkan. Tahap ini mencakup pemeliharaan serta kalibrasi peralatan dan instrumen laboratorium yang digunakan dalam pemeriksaan dan implementasi kendali mutu (Lieseke & Zeibig, 2014). Tahapan pra analitik meliputi:

- a) Persiapan Reagen/media
 - i. Apakah reagen/media memenuhi syarat.
 - ii. Apakah masa kadaluwarsa tidak terlampaui.
 - iii. Apakah cara pelarutan atau pencampurannya sudah benar.
 - iv. Apakah cara pengenceran sudah benar.
 - v. Apakah pelarutnya (*aquadest*) memenuhi syarat.

b) Pipetasi Reagen dan sampel

- i. Apakah semua peralatan laboratorium yang digunakan bersih, memenuhi persyaratan.
- ii. Apakah pipet yang digunakan sudah dikalibrasi.
- iii. Apakah pipetasi dilakukan dengan benar.
- iv. Apakah urutan prosedur diikuti dengan benar.

c) Inkubasi

- i. Apakah suhu inkubasi sesuai dengan persyaratan.
- ii. Apakah waktu inkubasi tepat.

d) Pemeriksaan

Apakah alat/instrumen berfungsi dengan baik (dapat dipercaya) hasil pemeriksaan fungsi dan hasil perawatannya.

e) Pembacaan hasil

Apakah penghitungan, pengukuran, identifikasi dan penilaian sudah benar. (Permenkes, 2013)

3) Pasca Analitik

Tahap pasca analitik pemeriksaan laboratorium terdiri dari, pendokumentasian dan pelaporan hasil laboratorium, penyimpanan dan/atau pembuangan spesimen setelah pemeriksaan, serta penyampaian hasil pemeriksaan kepada pasien dan penyedia layanan (Lieseke & Zeibig, 2014). Tahap pasca analitik berisi pelaporan hasil yang memuat:

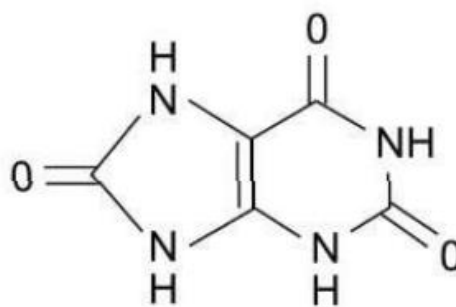
a) Apakah form hasil bersih

- b) Apakah tidak salah transkrip
- c) Apakah tulisan sudah jelas
- d) Apakah terdapat kecenderungan hasil pemeriksaan atau hasil abnormal. (Permenkes, 2013)

2. Asam Urat

a. Definisi Asam Urat

Asam urat (*uric acid* atau *monosodium urate*) adalah produk normal dari pemecahan atau katabolisme purin. Purin adalah sejenis protein (*nucleic acid*) yang berasal dari inti sel. Inti sel mengandung RNA (*ribonucleate acid*) dan DNA (*deoxyribonucleate acid*) yang terurai menjadi *hipoxantin* dan kemudian menjadi *xanthine* dengan bantuan enzim *oxidase xanthine*. Oleh karena itu, obat untuk menurunkan asam urat merupakan obat yang dapat menghambat *oxidase xanthine* (Tandra, 2021).



Gambar 1. Susunan Kimia Asam Urat

Asam urat merupakan asam lemah yang didistribusikan dalam cairan ekstraseluler sebagai natrium urat. Jumlah asam urat dalam

plasma tergantung pada jumlah makanan atau minuman yang mengandung purin, biosintesis asam urat dan laju ekskresi urat. Kadar asam urat serum plasma diatur oleh 4 komponen sistem transpor ginjal yang meliputi proses filtrasi, reabsorpsi, sekresi dan reabsorpsi pasca sekresi (Jaliana dkk., 2018) (Anggraini, 2022).

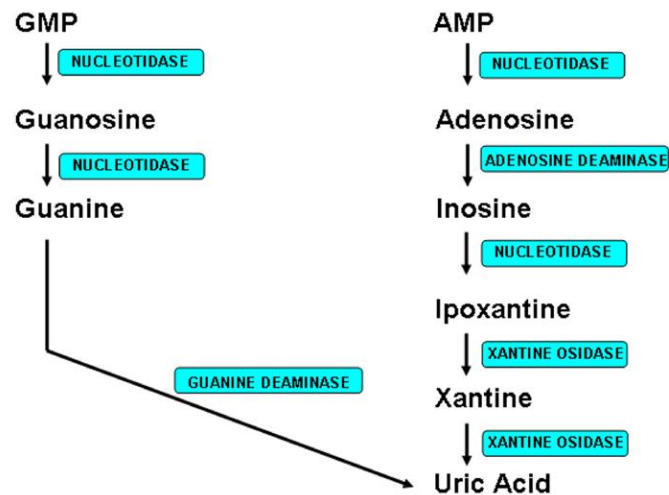
b. Metabolisme

Pada metabolisme tubuh yang berlangsung normal, asam urat dengan rumus kimia $C_5H_4N_4O_3$ dihasilkan dan dikeluarkan melalui urin oleh ginjal. Ketika terjadi gangguan pada fungsi ginjal, kadar asam urat dalam darah dapat meningkat, kondisi ini dikenal sebagai hiperurisemia. Kadar asam urat yang terlalu tinggi atau terlalu rendah dalam darah mengindikasikan adanya masalah pada metabolisme purin (Tandra, 2021).

Metabolisme asam urat melibatkan proses kompleks yang mencakup produksi dan ekskresi asam urat, yang merupakan produk akhir dari metabolisme purin. Asam urat dihasilkan dari pemecahan purin yang berasal dari makanan (*pools eksogen*) dan metabolisme purin endogen. Produksi asam urat terutama terjadi di hati, usus dan jaringan lain seperti otot dan ginjal (Maiuolo dkk., 2016).

Asam urat terbentuk melalui beberapa langkah enzimatik. Pertama, hipoksantin dioksidasi menjadi xantin oleh xantin oksidase (XO) dan guanin dideaminasi menjadi xantin. Selanjutnya, xantin dioksidasi lagi oleh xantin oksidase untuk membentuk asam urat. Pada

pH fisiologis, asam urat bersifat asam lemah dan sebagian besar ada dalam bentuk urat, garam dari asam urat (Maiuolo dkk., 2016).



Gambar 2. Degradasi enzimatik purin pada manusia

Sumber: (Maiuolo dkk., 2016)

Ekskresi asam urat terjadi terutama melalui ginjal, di mana sekitar dua pertiga dari total beban asam urat dikeluarkan. Proses ini melibatkan reabsorpsi dan sekresi di tubulus proksimal ginjal. Terdapat tiga transporter urat utama, yaitu URAT1d, GLUT9u dan ABCG2 berperan penting dalam regulasi kadar asam urat serum. Disfungsi transporter ini dapat menyebabkan gangguan transportasi urat dan berkontribusi pada kondisi hiperurisemia dan *gout* (Maiuolo dkk., 2016).

Sebagian besar asam urat diproduksi di hati dengan bantuan enzim xanthine oksidase. Setelah diproduksi, asam urat akan dibawa oleh darah ke ginjal, di mana proses filtrasi, penyerapan dan sekresi

mempengaruhi pengeluarannya dari tubuh. Jika konsumsi purin rendah, tubuh akan mengeluarkan sekitar 0,5 gram asam urat per hari, namun jika konsumsi purin normal jumlah tersebut bisa mencapai 1 gram per hari. Makanan yang mengandung banyak purin antara lain daging organ, kacang-kacangan dan ragi (Widmann, 1992).

c. Peran Asam Urat

Asam urat mempunyai dua fungsi berbeda. Dua fungsi utama asam urat adalah antioksidan (terutama dalam plasma) dan pro-oksidan (terutama dalam sel). Asam urat dianggap sebagai antioksidan yang kuat yang dapat menetralkan baik nitrogen reaktif maupun oksigen reaktif. Tidak semua radikal bebas, termasuk superoksida dapat diikat oleh asam urat. Asam urat mencegah hal tersebut masuk ke sel dan menghilangkan stres oksidatif dengan bertindak sebagai inhibitor transporter anion organik. Sebaliknya, jika asam urat bersentuhan dengan oksidan maka dapat menyebabkan radikal bebas dan kerusakan sel oksidatif. Asam urat itu sendiri dan/atau radikal bebas yang terkait menghasilkan NADPH di intraseluler melalui jalur oksidatif, yang dapat meningkatkan stres oksidatif. Kapasitas antioksidan asam urat dapat menjadi prooksidan pada kondisi tertentu, terutama dalam kasus asam urat tinggi (Novitasari dkk., 2021).

d. Faktor- Faktor yang Mempengaruhi Kadar Asam Urat dalam Tubuh Seseorang

1) Faktor genetik (keturunan)

Gen memiliki peran dalam menentukan bagaimana kualitas tertentu diturunkan dari satu generasi ke generasi berikutnya. Penting untuk melihat enzim yang dapat mendorong sintesis asam urat, jika pria memiliki kadar asam urat tinggi sebelum usia 25 tahun karena faktor genetik, terutama pada pria hemizigot, dapat memengaruhi hasil kadar asam urat. Terdapat kemungkinan bahwa anggota keluarga mewarisi penurunan kemampuan ginjal untuk memproduksi asam urat. Metabolisme purin yang berlebihan, salah satu produk sampingan dari metabolisme tubuh dari makanan yang mengandung purin, dianggap bertanggung jawab atas hubungan antara faktor keturunan dan kadar asam urat (Anggraini, 2022).

2) Asupan makanan

Konsumsi makanan tinggi purin dapat berpengaruh pada peningkatan kadar asam urat dalam darah. Membatasi konsumsi harian makanan tinggi purin, seperti daging, jeroan, berbagai sayuran dan kacang-kacangan, sangat penting terutama bagi orang yang memiliki kadar asam urat tinggi. Hal ini dapat terjadi karena metabolisme purin dalam tubuh bisa meningkat, menghasilkan lebih banyak asam urat sehingga kadar asam urat bisa tinggi (Anggraini, 2022).

3) Alkohol

Salah satu minuman yang mengandung purin adalah alkohol. Etanol yang ditemukan dalam minuman alkohol seperti bir,

tuak, tape dan lainnya dapat meningkatkan pembentukan asam urat, yang dapat meningkatkan jumlah nukleotida adenin. Menurut penelitian dari Jepang, injeksi etanol meningkatkan pembentukan nukleotida dan asam urat melalui perubahan *Adenosine Triphosphate* (ATP), yang dapat meningkatkan tingkat di mana adenosin trifosfat dipecah menjadi adenosin monofosfat, yang merupakan prekursor asam urat. Terjadinya penghambatan kompetitif laktat terhadap transportasi urat, mengakibatkan konversi alkohol menjadi asam laktat mengurangi ekskresi asam urat melalui tubulus proksimal (Anggraini, 2022).

4) Kegemukan (obesitas)

Orang yang mengalami obesitas akan mengalami peningkatan jumlah asam lemak bebas yang dilepaskan ke dalam aliran darah. Saat keadaan puasa, asam lemak bebas merupakan sumber energi utama pada tubuh. Pada keadaan obesitas, terjadi kelebihan asam lemak bebas yang masuk ke dalam jaringan. Terjadinya resistensi insulin disebabkan oleh kelebihan asam lemak bebas di otot. Perubahan xantin dapat disebabkan oleh kematian sel, hipoksia dan resistensi insulin. Tubulus proksimal reabsorpsi asam urat ginjal difasilitasi oleh insulin. Akibatnya akan terjadi peningkatan reabsorpsi pada kondisi hiperinsulinemia pra-diabetes, yang akan menimbulkan hiperurisemia (Anggraini, 2022).

5) Obat- obatan

Penggunaan obat diuretik secara signifikan meningkatkan kemungkinan terkena asam urat. Obat diuretik dapat meningkatkan jumlah reabsorpsi urat oleh ginjal, yang menyebabkan hiperurisemia. Aspirin dosis rendah, yang biasanya diberikan untuk tujuan kardioprotektif, juga sedikit meningkatkan kadar asam urat pada orang tua. Pasien yang menggunakan pirazinamid, etambutol dan niasin juga mengalami hiperurisemia (Anggraini, 2022).

6) Jenis kelamin

Asam urat biasanya lebih banyak menyerang laki-laki daripada perempuan. Meskipun kadar asam urat mungkin tidak meningkat sebanyak laki-laki ketika wanita mengalami *menopause*, mereka tetap berisiko terkena asam urat (Anggraini, 2022).

Pada wanita terdapat hormon estrogen didalam tubuh yang dihasilkan oleh ovarium (Hutagaol dkk., 2022). Hormon estrogen pada perempuan yang mampu menurunkan kadar asam urat dan pembuangan melalui ginjal. Sementara didalam tubuh laki-laki jumlah hormon estrogen lebih sedikit sehingga sistem ekskresi asam urat lebih susah untuk dikeluarkan. Pengaruh adanya hormon esterogen dalam tubuh inilah yang menyebabkan laki-laki lebih mudah terserang asam urat daripada perempuan. Ketika perempuan masuk dalam masa menopause, mereka juga akan berisiko terkena

serangan asam urat, meski peningkatan kadar asam urat mereka tidak setinggi laki-laki. Itu sebabnya gejala serangan *gout* pada penderita perempuan terlihat lebih lambat dibandingkan pada penderita laki-laki. Pertambahan usia merupakan faktor resiko penting pada pria dan wanita (Anggraini, 2022).

7) Usia

Usia mempengaruhi terjadinya peningkatan asam urat. Pada orang lanjut usia (lansia) kemampuan ekskresi ginjal menurun, hal ini mengakibatkan terhambatnya asam urat untuk keluar dari tubuh sehingga kristal asam urat menumpuk dalam tubuh. Penumpukan kristal asam urat dalam tubuh menyebabkan kadar asam urat meningkat (Anggraini, 2022).

8) Olahraga Berat

Olahraga berat menyebabkan konversi xanthine menjadi asam urat. Enzim xanthine oxidase merupakan sumber radikal bebas yang dihasilkan selama berolahraga (Anggraini, 2022).

e. Metode Pemeriksaan Asam Urat

1) Metode *electrode- based biosensors*

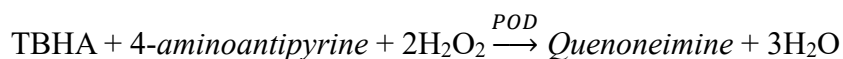
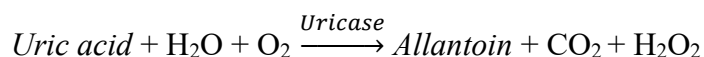
UASure blood uric meter dapat digunakan untuk mengukur kadar asam urat menggunakan teknik biosensor berbasis elektroda. Prinsip dari tes ini adalah *blood uric acid strips* menggunakan katalis dan teknik biosensor yang digabungkan dan dirancang khusus untuk pengukuran asam urat. Strip pemeriksaan dirancang

husus sehingga ketika darah ditetaskan pada zona reaksi dari strip, katalisator asam urat dalam strip tes akan menyebabkan oksidasi asam urat dalam darah tersebut (Hidayati, 2022).

2) Metode Enzimatik

Pemeriksaan kadar asam urat dengan metode enzimatik adalah *uricase* memecah asam urat menjadi alantoin dan hidrogen peroksida (Hidayati, 2022).

Berdasarkan Proline (2022) prinsip pemeriksaan asam urat dengan metode fotometrik enzimatik menggunakan 2, 4, 6-tribromo 3- hydroxysybenzoic acid (TBHBA), asam urat dioksidasi menjadi alantoin oleh enzim *uricase*. Hidrogen peroksida yang dihasilkan bereaksi dengan 4- aminoantipyrine dan 2, 4, 6- tribromo 3- hydroxysybenzoic acid (TBHBA) menjadi *quinoneimine*.



Berdasarkan *manufacturer* DiaSys Sistem GmbH (2023), metode TBHBA untuk pengukuran kadar asam urat dapat terpengaruh oleh beberapa substansi yang ada dalam sampel. Interferensi dapat terjadi dari:

1. Hemoglobin: Dapat mempengaruhi hasil pengukuran mulai dari konsentrasi 100 mg/dL.
2. Asam Askorbat: Dapat mengganggu hasil bahkan dalam konsentrasi minimal.

Limit of detection (LOD) untuk metode ini adalah 0.07 mg/dL (Diasys, 2023). Ini berarti bahwa metode ini dapat mendeteksi kadar asam urat dalam serum hingga batas terendah tersebut. Sensitivitas yang tinggi ini penting untuk diagnosis dini dan pemantauan kondisi yang terkait dengan kadar asam urat, seperti *gout* dan gangguan metabolisme purin.

f. Faktor pengganggu pemeriksaan (*interference factor*)

Interferensi dalam pemeriksaan asam urat dapat terjadi akibat keberadaan molekul lain dalam sampel yang dapat mempengaruhi hasil pengukuran. Beberapa molekul interferen yang umum ditemukan dalam analisis asam urat meliputi:

1) Asam Askorbat (Vitamin C)

Asam askorbat adalah antioksidan yang banyak terdapat dalam makanan dan suplemen. Dalam konteks pemeriksaan asam urat, asam askorbat dapat menyebabkan hasil yang tidak akurat jika tidak terpisah dengan baik dari asam urat. hal tersebut dapat terjadi karena asam askorbat memiliki potensi oksidasi yang sangat mirip dengan asam urat, sehingga keduanya dapat memberikan sinyal yang tumpang tindih pada elektrode yang digunakan untuk pengukuran, sehingga berpotensi mengarah pada hasil yang lebih tinggi dari kadar asam urat sebenarnya (*false positive*) (Chelmea dkk., 2023).

2) Dopamin

Dopamin adalah neurotransmitter yang terlibat dalam banyak fungsi fisiologis dan dapat ditemukan dalam sampel biologis. Dopamin juga memiliki sifat oksidasi yang mirip dengan asam urat, sehingga dapat menghasilkan sinyal serupa saat diukur menggunakan teknik elektrokimia. Dopamin sering hadir dalam sampel biologis, meskipun dalam konsentrasi yang lebih rendah dibandingkan asam urat. Kehadiran dopamin dapat mengganggu deteksi spesifik asam urat dan memengaruhi sensitivitas metode yang digunakan. Hasilnya, kadar asam urat yang terukur dapat tidak mencerminkan konsentrasi sebenarnya (Chelmea dkk., 2023).

3) Glukosa

Glukosa adalah sumber energi utama bagi sel-sel tubuh dan sering ditemukan dalam sampel darah dan urin. Walaupun glukosa dan urea tidak secara langsung menghasilkan sinyal oksidasi pada potensial yang sama, mereka dapat memengaruhi stabilitas dan aktivitas elektrode yang digunakan. Interaksi non-spesifik dengan permukaan elektrode dapat mengurangi akurasi pengukuran. Hal tersebut berdampak pada Kontaminasi sinyal atau degradasi elektrode dapat menyebabkan ketidakakuratan pengukuran. Ini biasanya menghasilkan variasi tinggi dalam pengukuran atau menurunkan sensitivitas alat (Chelmea dkk., 2023).

g. Nilai normal parameter

Besaran nilai asam urat normal menurut Proline (2022) adalah sebagai berikut:

Tabel 1. Nilai asam urat normal menurut

Usia	Perempuan mg/dL (μmol/L)	Laki-Laki mg/dL (μmol/L)
Dewasa	2,6 - 6,0 (155 - 357)	3,5 - 7,2 (208 - 428)
Anak-anak		
1-30 hari	1,0 - 4,6 (59 - 271)	1,2 - 3,9 (71 - 230)
31-365 hari	1,1 - 5,4 (65 - 319)	1,2 - 5,6 (71 - 330)
1-3 tahun	1,8 - 5,0 (106 - 295)	2,1 - 5,6 (124 - 330)
4-6 tahun	2,0 - 5,1 (118 - 301)	1,8 - 5,5 (106 - 325)
7-9 tahun	1,8 - 5,5 (106 - 325)	1,8 - 5,4 (106 - 319)
10-12 tahun	2,5 - 5,9 (148 - 348)	2,2 - 5,8 (130 - 342)
13-15 tahun	2,2 - 6,4 (130 - 378)	3,1 - 7,0 (183 - 413)
16-18 tahun	2,4 - 6,6 (142 - 389)	2,1 - 7,6 (124 - 448)

Sumber: (Proline, 2019)

B. Landasan Teori

Asam urat adalah hasil akhir proses metabolisme purin. Kadar asam urat yang terlalu tinggi atau terlalu rendah dalam darah mengindikasikan adanya masalah pada metabolisme purin (Tandra, 2021). Metode yang dijadikan sebagai *gold standard* dari pengukuran kadar asam urat yaitu metode spektrofotometer menggunakan alat *chemistry analyzer* dengan melakukan penyerapan cahaya pada panjang gelombang tertentu oleh sampel yang diperiksa. Pemeriksaan ini menggunakan serum sebagai sampel pemeriksaannya (Yulianti dkk., 2021).

Penelitian ini menggunakan alat fotometer Mindray BA-88A yang memiliki kemampuan untuk mengaspirasi sampel dengan rentang volume antara 200 hingga 9000 μL, dengan volume yang terukur untuk pengujian

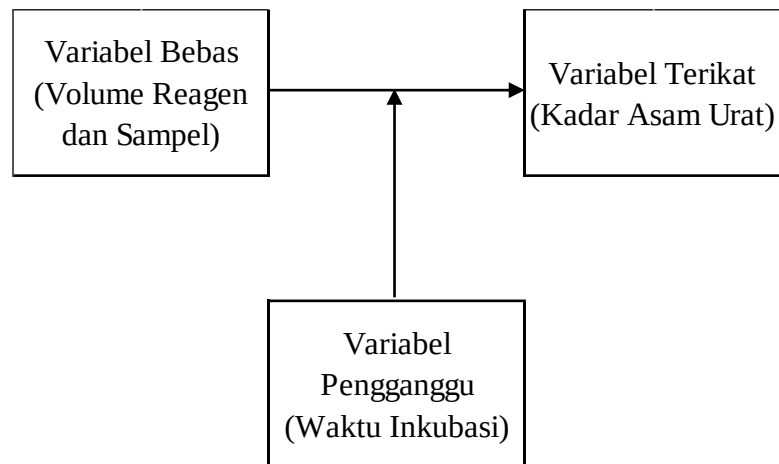
hanya 32 μL (Mindray, 2010). Metode TBHBA adalah salah satu metode yang digunakan untuk mengukur kadar asam urat dalam darah. *Limit of detection* (LOD) untuk metode ini adalah 0.07 mg/dL (Diasys, 2023).

Pemeriksaan asam urat dengan satu resep volume reagen dan sampel adalah prosedur yang menggunakan 20 μL sampel, 1000 μL reagen 1, dan 250 μL reagen 2, dengan inkubasi selama 30 menit pada suhu 20-25°C atau 10 menit pada suhu 37°C (Diasys, 2023). Pemeriksaan asam urat dengan setengah resep volume reagen dan sampel adalah prosedur menggunakan 10 μL sampel, 500 μL reagen 1, dan 125 μL reagen 2, dengan inkubasi yang sama seperti resep penuh.

Perbedaan volume sampel dan reagen antara resep penuh dengan setengah resep pada pemeriksaan kadar asam urat belum dieksplorasi lebih lanjut dalam penelitian yang ada. Meskipun kedua prosedur ini menggunakan kondisi inkubasi yang sama, belum ada penelitian yang secara spesifik mengkaji apakah pengurangan volume sampel dan reagen ini dapat memengaruhi ketepatan hasil pengukuran kadar asam urat.

Penelitian ini bertujuan untuk mengisi gap tersebut dengan mengevaluasi perbedaan hasil pemeriksaan kadar asam urat menggunakan resep penuh dan setengah resep. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi referensi praktis bagi laboratorium dalam memilih metode yang lebih efisien tanpa mengorbankan kualitas pemeriksaan.

C. Hubungan Antar Variabel



Gambar 3. Hubungan Antar Variabel

D. Hipotesis Penelitian

Penggunaan setengah resep reagen untuk pemeriksaan kadar asam urat dengan metode TBHBA (*2,4,6-tribromo-3-hydroxybenzoic acid*) dapat dilakukan.