

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Telaah Pustaka**

##### **1. Pengendalian Mutu**

Laboratorium klinik adalah fasilitas kesehatan yang melakukan pengukuran, penetapan dan pengujian bahan yang berasal dari manusia untuk mengevaluasi kondisi kesehatan, penyakit atau faktor yang memengaruhi kesehatan manusia. Faktor utama yang memengaruhi kualitas laboratorium meliputi mutu pemeriksaan dan mutu pelayanan (Infolabmed, 2022).

Pengendalian mutu laboratorium bertujuan untuk menghasilkan pemeriksaan yang berkualitas dengan cara mengurangi atau meminimalkan kesalahan yang terjadi. Hasil pemeriksaan harus memenuhi standar yang berlaku, dengan memperhatikan aspek teknis seperti akurasi dan presisi yang tinggi. Pengendalian mutu dalam pemeriksaan laboratorium dilaksanakan melalui dua cara, yaitu secara internal dan eksternal (Infolabmed, 2022).

##### **a. Pemantapan Mutu Eksternal (PME)**

Pemantapan Mutu Eksternal adalah kegiatan yang dilakukan secara berkala oleh pihak yang berasal dari luar laboratorium untuk memantau dan mengevaluasi kinerja laboratorium dalam bidang tertentu. Penyelenggaraan kegiatan PME dilaksanakan oleh pihak pemerintah, swasta atau internasional. Setiap Laboratorium Puskesmas wajib mengikuti Pemantapan Mutu Eksternal yang diselenggarakan oleh pemerintah secara teratur dan periodik meliputi semua bidang pemeriksaan laboratorium. Pemantapan mutu

eksternal untuk berbagai bidang pemeriksaan diselenggarakan pada berbagai tingkatan, yaitu:

- 1) Tingkat nasional/tingkat pusat : Kementerian Kesehatan
- 2) Tingkat Regional : BBLK
- 3) Tingkat Provinsi/wilayah : BBLK/ BLK

b. Pemantapan Mutu Internal (PMI)

Pemantapan Mutu Internal (PMI) adalah kegiatan pencegahan dan pengawasan yang dilaksanakan oleh setiap laboratorium secara terus menerus agar tidak terjadi atau mengurangi kesalahan atau penyimpangan sehingga diperoleh hasil pemeriksaan yang tepat mencakup semua kegiatan yang dilakukan mulai dari sebelum pemeriksaan dimulai, meliputi tahap pra-analitik, analitik, dan pasca-analitik.

Pengendalian pada tahap pra-analitik adalah tahap dengan tingkat kesalahan tertinggi, yaitu antara 60%-70%. Tujuan pengendalian pada tahap ini adalah memastikan bahwa spesimen yang diterima benar dan berasal dari pasien yang tepat serta memenuhi semua persyaratan yang telah ditentukan (Siregar dkk, 2018).

Pada tahap analitik, pengendalian bertujuan untuk memastikan hasil dan dapat digunakan untuk mendukung diagnosis. Kesalahan yang terjadi pada tahap ini berkisar antara 10%-15%. Pemantapan mutu internal pada tahap ini mencakup aspek-aspek seperti peralatan, bahan kontrol, reagen, metode pemeriksaan, dan kualitas tenaga laboratorium (Siregar dkk, 2018).

Pengendalian pada tahap pasca-analitik dilakukan sebelum hasil pemeriksaan diserahkan kepada pasien. Tahap ini mencakup penulisan, interpretasi, dan pelaporan hasil pemeriksaan. Potensi kesalahan pada tahap pasca-analitik adalah antara 15%-20%. Untuk memastikan hasil laboratorium yang akurat dan tepat, seluruh metode dan prosedur operasional laboratorium harus terintegrasi dengan baik (Siregar dkk, 2018).

## 2. Bahan-Bahan Laboratorium

### a. Reagen

Reagen adalah bahan kimia yang digunakan dalam reaksi untuk mendeteksi, mengukur, mempelajari, atau menghasilkan zat lain (Siregar dkk, 2018 Berdasarkan Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 62 Tahun 2017 tentang Alat Kesehatan dan Alat Kesehatan Diagnostik In Vitro, reagen diklasifikasikan menjadi dua jenis:

- 1) Reagen kimia basah (*wet chemistry*), bentuknya bisa berupa liofilisat, bubuk dan siap pakai.
- 2) Reagen kimia kering (*dry chemistry*), bentuknya bisa berupa chip, strip dan *catridge* yang siap digunakan. Menurut cara pembuatannya, reagen dibagi menjadi dua kategori:
  - a) Reagen buatan sendiri
  - b) Reagen jadi (komersial), reagen yang dibuat oleh pabrik/produsen.

### b. Bahan Kontrol

Standar adalah suatu zat yang konsentrasi atau kemurniannya diketahui dan ditentukan dengan penimbangan. Bahan standar atau terkontrol

digunakan untuk memantau kualitas hasil pengujian rutin. Bentuk bahan kontrol yaitu cair, padat bubuk dan padat strip.

Pembuatan bahan kontrol dapat dibuat sendiri atau beli dalam bentuk jadi.

- 1) Bahan kontrol yang dibuat sendiri yaitu *pooled sera* (kumpulan serum), larutan spikes dari bahan kimia murni dan hemolisisat.
- 2) Bahan kontrol dalam bentuk sudah jadi yaitu bahan kontrol yang tidak mempunyai nilai rujukan sebagai tolak ukur (*control unassayed*) dan bahan kontrol yang diketahui nilai rujukannya serta batas toleransi (*control assayed*) (Siregar dkk., 2018).

Untuk dapat digunakan sebagai bahan kontrol suatu pemeriksaan, bahan tersebut harus memenuhi persyaratan sebagai berikut:

- a) Memiliki komposisi sama atau mirip dengan spesimen. Misalnya untuk pemeriksaan urin digunakan bahan kontrol urin atau zat yang menyerupai urin.
  - b) Komponen yang terkandung di dalam bahan kontrol harus stabil, artinya selama masa penyimpanan bahan ini tidak boleh mengalami perubahan.
  - c) Hendaknya disertai dengan sertifikat analisis yang dikeluarkan oleh pabrik yang bersangkutan pada bahan kontrol jadi (komersial).
- c. Bahan standar

Bahan standar adalah zat-zat yang konsentrasi atau kemurniannya diketahui dan diperoleh dengan cara penimbangan. Ada 2 macam standar, yaitu:

### 1) Bahan Standar Primer

Bahan standar primer merupakan zat termurni dalam kelasnya, yang menjadi standar untuk semua zat lain. Bahan standar primer umumnya mempunyai kemurnian > 99%, bahkan banyak yang kemurniannya 99,9%. Kemurnian bahan standar primer dapat dilihat pada sertifikat analisis (CoA=*Certificate of Analysis*) tertelusur ke *Standard Reference Material (SRM)*.

- a. Tidak higroskopis.
- b. Mempunyai komposisi yang jelas.
- c. Dapat disiapkan dengan kemurnian > 99,0%.
- d. Dapat dianalisis secara tepat.
- e. Mempunyai ekivalensi berat yang tinggi sehingga kesalahan penimbangan berefek minimal terhadap konsentrasi larutan standar.
- f. Larutan standar primer merupakan larutan yang dibuat dari bahan standar primer.
- g. Stabil.
- h. Dapat dibakar sampai suhu 105-110°C tanpa perubahan kimia, atau tidak meleleh, tersublimasi, terdekomposisi atau mengalami reaksi kimia sampai suhu 120-130°C.

### 2) Bahan Standar Sekunder

Bahan standar sekunder merupakan zat-zat yang konsentrasi dan kemurniannya ditetapkan melalui analisis dengan perbandingan terhadap bahan standar primer.

### 3) Darah

Darah adalah cairan tubuh yang memiliki fungsi utama dalam membawa oksigen, mendukung sistem imun tubuh dan menjaga hemostasis. Komposisi darah terdiri dari 55% cairan (plasma) dan 45% sel darah. Pemeriksaan darah dapat dilakukan menggunakan serum atau plasma yang berasal dari bagian cairan atau darah utuh. Jenis spesimen yang diperiksa tergantung pada jenis pemeriksaan yang dilakukan.

Ada tiga jenis sampel yang biasa digunakan dalam pemeriksaan darah, yaitu:

#### a. Plasma

Biasanya jernih dan kekuningan, diperoleh dengan memisahkan sel-sel darah setelah darah dalam tabung antikoagulan disentrifugasi.

#### b. Darah utuh (*whole blood*)

Terdiri dari sel-sel darah dan plasma. Seperti plasma, darah utuh juga memerlukan antikoagulan untuk mencegah pembekuan.

#### c. Serum

Serum adalah bagian cair dari darah yang diperoleh setelah pemisahan darah beku melalui sentrifugasi. Serum umumnya jernih dengan warna kekuningan. Proses ini terjadi setelah faktor pembekuan darah terpisah, meninggalkan sebagian besar komponen non-koagulasi dalam serum (Bishop, 2023).

#### 4) Serum

Serum adalah bagian cair dari darah yang dihasilkan setelah darah mengalami koagulasi, sehingga tidak mengandung sel darah maupun fibrinogen. Meskipun begitu, beberapa protein koagulasi dan protein lainnya yang tidak terlibat dalam proses hemostasis tetap terdapat dalam serum dengan kadar yang mirip dengan plasma. Jika koagulasi tidak sempurna, serum dapat mengandung sisa fibrinogen atau produk pemecahannya. (Bishop, 2023).

Setelah dibiarkan membeku selama sekitar 15 menit, darah dipisahkan menggunakan *centrifuge*. Hasilnya, darah membentuk gumpalan tidak beraturan. Jika koagulasi terjadi secara sempurna, gumpalan darah ini akan mudah terlepas dari dinding tabung. Cairan yang terpisah dari gumpalan tersebut tidak lagi berwarna merah keruh, melainkan kuning jernih. Gumpalan darah terdiri dari elemen figuratif yang telah mengalami koagulasi spontan, sedangkan cairan berwarna kuning jernih yang terpisah disebut serum (Kemenkes, 2019).

Adapun macam-macam serum yang tidak normal yaitu sebagai berikut:

##### a. Serum hemolisis

Hemolisis merupakan pecahnya eritrosit yang menyebabkan pelepasan zat-zat di dalamnya, sehingga serum atau plasma tampak berwarna kemerahan dan berpotensi mengganggu hasil analisis laboratorium (Ariyani, dkk., 2019).

b. Serum lipemik

Serum lipemik adalah serum yang tampak keruh, berwarna putih atau menyerupai susu akibat adanya hiperlipidemia. Kekeruhan ini umumnya disebabkan oleh peningkatan kadar trigliserida dalam darah (Maulana, 2017).

c. Serum ikterik

Serum ikterik adalah serum yang tampak berwarna kuning kecokelatan akibat peningkatan kadar bilirubin dalam darah (hiperbilirubinemia) (Sujono dkk., 2023).

5) Enzim

a) Definisi enzim

Enzim adalah polimer biologis yang berperan sebagai katalis dalam reaksi kimia penting untuk memecah nutrisi, sehingga menyediakan energi dan *chemical building blocks*. Selanjutnya *chemical building blocks* kemudian dirangkai menjadi protein, DNA, membran, sel dan jaringan, serta menghasilkan energi yang mendukung motilitas sel dan kontraksi otot. Kekurangan jumlah atau kualitas enzim utama dapat menyebabkan kelainan genetik, kekurangan nutrisi atau pembentukan zat toksik (Wahyuni, 2017).

Enzim adalah protein yang berfungsi sebagai katalisator dalam mempercepat reaksi kimia dalam metabolisme makhluk hidup tanpa terlibat langsung dalam reaksi tersebut. Enzim bekerja dengan cara yang lebih spesifik untuk menentukan reaksi mana yang akan

dipercepat, berbeda dengan katalisator anorganik, sehingga ribuan reaksi dapat terjadi tanpa menghasilkan produk sampingan yang berbahaya (Washudi, 2016).

Struktur enzim terdiri dari apoenzim (bagian protein) dan bagian prostetik (non-protein) yang membentuk holoenzim. Sisi aktif enzim bertanggung jawab atas aktivitas katalitiknya. Keseimbangan enzim diperlukan untuk metabolisme, menghasilkan energi dan membangun komponen dasar tubuh. Kekurangan atau kelebihan enzim dapat menyebabkan gangguan metabolik atau penyakit. Enzim juga menjadi indikator diagnostik penting dalam kesehatan dan memiliki aplikasi luas di berbagai industri. Seperti katalis lainnya, enzim tidak habis selama reaksi dan kembali ke bentuk semula di akhir proses (Juniarti, 2023).

Kinerja enzim dipengaruhi oleh beberapa faktor, di antaranya suhu, pH, konsentrasi enzim, hasil akhir produk, konsentrasi substrat, serta adanya inhibitor dan aktivator (Sinaga, 2012).

#### b) Suhu

Enzim yang terbuat dari protein dipengaruhi oleh suhu karena suhu memengaruhi pergerakan molekul. Pada suhu optimal, tumbukan antara enzim dan substrat terjadi dengan kecepatan tertinggi. Setiap enzim memiliki suhu optimal di mana aktivitas enzim mencapai puncaknya. Suhu yang jauh lebih tinggi dari suhu optimal dapat menyebabkan enzim terdenaturasi, mengubah bentuk, struktur dan fungsinya.

Sebaliknya, suhu yang jauh lebih rendah, seperti pada 0°C, membuat enzim tidak aktif. Enzim pada manusia berfungsi optimal pada suhu 35–40°C (Wahyudiati, 2017).

c) Derajat Keasaman (pH)

Enzim berfungsi dipengaruhi oleh derajat keasaman lingkungan, seperti halnya protein. Enzim bekerja paling baik pada pH optimal, yang umumnya berada di sekitar pH netral, yaitu antara 6 hingga 8. Jika pH berada di luar rentang tersebut, kerja enzim bisa terganggu, bahkan dapat terdenaturasi. Enzim akan mengalami denaturasi dan kehilangan kemampuannya untuk bekerja dengan maksimal pada pH yang jauh lebih tinggi dari pH optimal (Wahyudiati, 2017).

d) Hasil akhir produk

Jika sel memproduksi lebih banyak produk daripada yang dibutuhkan, kelebihan produk tersebut dapat menghambat aktivitas enzim. Hal ini dikenal sebagai inhibitor umpan balik (*feedback inhibitor*). Ketika produk yang berlebihan digunakan, aktivitas enzim akan kembali normal. Mekanisme ini sangat penting dalam proses yang dapat dibalik (*reversible*), karena mencegah sel menghabiskan sumber daya molekul yang berguna untuk menghasilkan produk yang tidak diperlukan (Wahyudiati, 2017).

e) Konsentrasi Enzim

Pada reaksi dengan konsentrasi enzim yang jauh lebih rendah dibandingkan dengan substrat, penambahan enzim akan meningkatkan

laju reaksi secara linier. Artinya, kecepatan reaksi enzimatik sebanding langsung dengan konsentrasi enzim. Namun, ketika konsentrasi enzim dan substrat telah seimbang, laju reaksi akan mencapai nilai konstan (Wahyudiati, 2017).

f) Konsentrasi Substrat

Pada konsentrasi substrat yang rendah, bagian aktif enzim hanya dapat mengikat sedikit substrat. Namun, ketika konsentrasi substrat ditingkatkan, lebih banyak substrat yang dapat berikatan dengan bagian aktif enzim. Hal ini meningkatkan jumlah kompleks enzim-substrat, yang pada gilirannya mempercepat reaksi. Namun, pada konsentrasi substrat yang cukup tinggi, semua bagian aktif enzim sudah terisi substrat atau jenuh. Dalam kondisi ini, peningkatan konsentrasi substrat tidak akan menambah jumlah kompleks enzim-substrat, sehingga hasil reaksi tidak akan meningkat lebih lanjut (Ischak dkk., 2017).

g) Zat Penghambat (Inhibitor)

Kerja enzim dapat dihambat oleh zat penghambat atau inhibitor. Terdapat dua jenis inhibitor, yaitu inhibitor kompetitif dan inhibitor nonkompetitif. Inhibitor kompetitif menghambat aktivitas enzim dengan cara berikatan pada sisi aktif enzim, sehingga bersaing dengan substrat untuk menempati lokasi tersebut. Sedangkan inhibitor nonkompetitif tidak bersaing dengan substrat untuk berikatan pada enzim. Inhibitor ini berikatan pada lokasi lain selain sisi aktif enzim.

Setelah inhibitor terikat, struktur sisi aktif enzim akan berubah, sehingga substrat tidak dapat mengikat enzim (Wahyudiati, 2017).

h) Penggolongan enzim berdasarkan daya katalisis

Penggolongan enzim menurut IUBMB (*International Union of Biochemistry and Molecular Biology*) terbagi menjadi enam kategori yang dijelaskan pada tabel berikut ini.

Tabel 2. Penggolongan Enzim

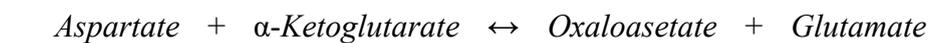
No	Kelompok	Sifat Biokimia
1.	<i>Oksidoreduktase</i>	Mempercepat reaksi oksidasi-reduksi, yang melibatkan pemindahan elektron, hidrogen atau oksigen.
2.	<i>Transferase</i>	Mengkatalisis transfer gugus fungsional dari satu molekul donor ke molekul akseptornya.
3.	<i>Hidrolase</i>	Mengkatalisis reaksi penambahan molekul air pada ikatan kimia, yang diikuti dengan penguraian (hidrolisis).
4.	<i>Liase</i>	Mengkatalisis penambahan molekul seperti air, ammonia atau karbon dioksida pada ikatan rangkap atau penghilangan molekul tersebut untuk membentuk ikatan rangkap.
5.	<i>Isomerase</i>	Mengkatalisis reaksi isomerisasi, termasuk perubahan konfigurasi isomer L menjadi D atau perpindahan gugus dalam suatu molekul.

6. *Ligase* Mempercepat reaksi penggabungan dua molekul dengan melepaskan molekul pirofosfat dari nukleosida trifosfat.
7. *Translocase* Mengkatalisis perpindahan ion atau molekul kecil melintasi membran biologis atau antar kompartemen dalam sel.

---

Sumber: Sinaga, 2012.

i) Mekanisme Kerja Enzim AST



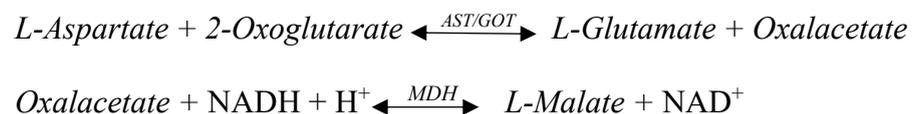
*Aspartate Aminotransferase* (AST) berperan dalam metabolisme asam amino, khususnya dalam siklus Krebs. Enzim ini mengkatalisis transfer gugus -NH amino dari asam aspartat ke  $\alpha$ -ketoglutarat, menghasilkan oksaloasetat dan glutamat. Proses ini juga membutuhkan vitamin B6 fosfat sebagai koenzim. AST terdapat dalam dua isoenzim, yaitu isoenzim mitokondrial dan sitoplasmik, yang masing-masing ditemukan di dalam sel hati, otot, dan jantung. Seperti ALT, AST merupakan biomarker penting untuk menilai kerusakan hati dan digunakan secara luas dalam tes fungsi hati (Murray dkk., 2023).

6) Pemeriksaan Aktivitas Enzim *Aspartate Aminotransferase* (AST)

*Aspartate Aminotransferase* (AST), yang juga dikenal dengan nama *Glutamat Oksaloasetat Transaminase* (GOT), adalah enzim mitokondria yang berfungsi mengkatalisis pemindahan gugus amino secara bolak-balik dari asam aspartat ke *asam  $\alpha$ -oksaloasetat*, menghasilkan asam glutamat

dan oksaloasetat (Agrawal dkk., 2016). AST merupakan salah satu enzim yang dapat menunjukkan kerusakan jaringan otot dan hati melalui peningkatan aktivitas enzim dalam darah (Kendran dkk., 2017). Biasanya, pada kerusakan hati, peningkatan aktivitas ALT (*Alanine Aminotransferase*) lebih menonjol dibandingkan dengan AST.

Pemeriksaan aktivitas enzim AST merupakan salah satu indikator untuk mendeteksi kerusakan hati. Namun, AST bukanlah enzim yang sepenuhnya spesifik untuk hati karena enzim ini juga ditemukan dalam konsentrasi tinggi di jantung, otot rangka, otak dan ginjal. Oleh karena itu, pemeriksaan simultan antara Alanine Aminotransferase (ALT) dan Aspartate Aminotransferase (AST) sering digunakan untuk membedakan kerusakan hati dari kerusakan organ lain seperti jantung atau otot rangka. (Kasper dkk., 2019).



Pemeriksaan ini dilakukan tanpa penambahan reagen Piridoksal fosfat, yang biasa disebut sebagai “*sample start*”. Metode ini menggunakan reagen kerja atau monoreagen dengan campuran perbandingan 4 bagian reagen 1 dan 1 bagian reagen 2 (4:1). Prinsip pemeriksaan metode ini adalah AST mengkatalisis pemindahan gugus amino dari L-Aspartat ke 2-Oksoglutarat, menghasilkan L-Glutamat dan Oksaloasetat. Oksaloasetat kemudian mengalami reduksi, dan terjadi oksidasi NADH (Nikotinamida Adenosin Dinukleotida Hidrogen) menjadi NAD<sup>+</sup> (Nikotinamida

Adenosin Dinukleotida) dengan bantuan enzim Malat Dehidrogenase (MDH) (Kemenkes RI, 2013).

Berdasarkan Glory Diagnostics (2024) reagen untuk pemeriksaan *Aspartate Aminotransferase* terbagi menjadi dua, yaitu reagen 1 dan reagen 2. Komposisi dari reagen 1 dan reagen 2 sebagai berikut:

a) Reagen 1

TRIS (pH 7,8)	121 mmol/
L-Aspartate	362 mmol/L
MDH ( <i>malate dehidrogenase</i> )	> 460 U/L
LDH ( <i>lactate dehidrogenase</i> )	> 600 U/L

b) Reagen 2

2-Oxoglutarate	75 mmol/L
NADH	1,3 mmol/L

2. Nilai normal aktivitas enzim AST

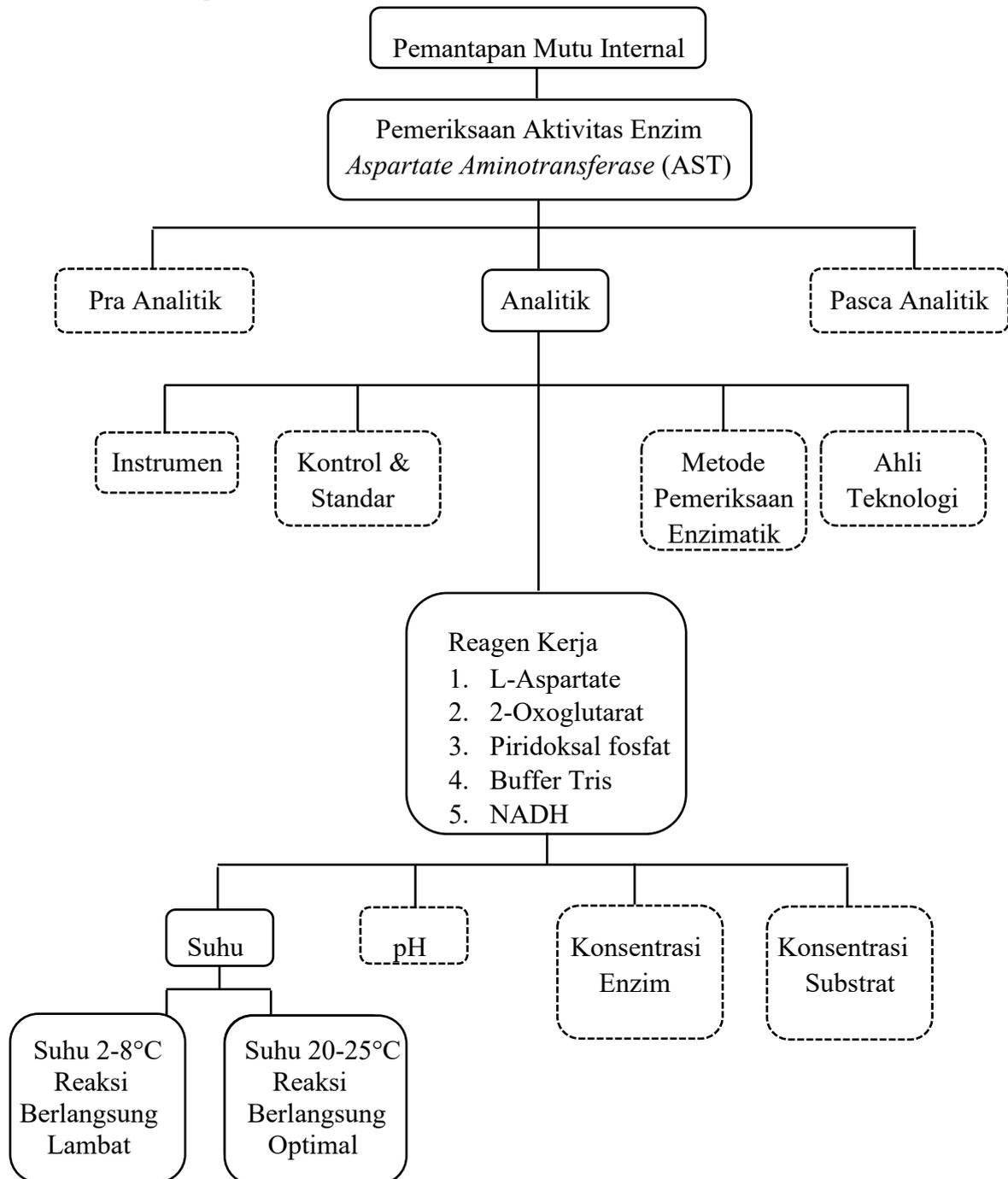
Tabel 3. Nilai Rujukan *Aspartate Aminotranferse* (AST)

Dewasa	37°C	hingga 40 U/L (0,67 $\mu$ kat/L)
	30°C	hingga 25 U/L (0,42 $\mu$ kat/L)

Sumber: Glory Diagnostics, 2024

Pada bayi baru lahir, kadar AST dapat mencapai beberapa kali lipat dari nilai normal dewasa, sementara pada anak-anak, kadar AST mendekati nilai dewasa. (Kasper et al., 2019).

## B. Kerangka Teori



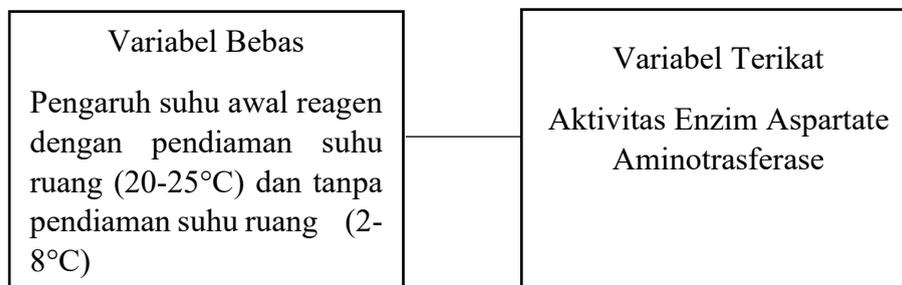
Gambar 1. Kerangka Teori

Keterangan:

Garis lurus ( — ) : dilakukan penelitian

Garis putus putus ( - - - - ) : tidak dilakukan penelitian

### C. Hubungan Antar Variabel



Gambar 2. Hubungan Antar Variabel

### D. Hipotesis

Karena suhu memengaruhi energi kinetik dan aktivitas enzim AST, maka penggunaan reagen pada suhu yang lebih mendekati suhu optimal (suhu ruang) akan menghasilkan aktivitas enzim yang lebih tinggi dibandingkan dengan reagen pada suhu dingin. Oleh karena itu, terdapat pengaruh suhu awal reagen terhadap hasil pemeriksaan aktivitas enzim *Aspartate Aminotransferase* (AST).