

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Pemantapan Mutu Laboratorium

Pemantapan mutu laboratorium klinik atau yang dikenal dengan *quality assurance (QA)* merupakan suatu proses terstruktur yang mencakup seluruh kegiatan yang bertujuan untuk menjamin keakuratan (*accuracy*) dan ketelitian (*precision*) hasil pemeriksaan laboratorium. Program ini dilaksanakan secara berkesinambungan untuk memastikan bahwa seluruh tahapan dalam proses pemeriksaan mulai dari pra -analitik, analitik, hingga pasca - analitik berjalan sesuai dengan standar operasional prosedur dan prinsip mutu yang telah ditetapkan (Tuntun, 2018).

Dalam konteks pelayanan kesehatan, pemantapan mutu memiliki peranan strategis karena hasil pemeriksaan laboratorium sering menjadi dasar utama dalam penegakan diagnosis, pemantauan terapi, serta evaluasi kondisi klinis pasien. Pemantapan mutu bertujuan untuk mendeteksi, mencegah, dan mengoreksi berbagai sumber kesalahan yang mungkin timbul selama proses pemeriksaan, baik yang berasal dari faktor manusia, alat, bahan, maupun metode analisis yang digunakan. Pemantapan mutu dalam konteks laboratorium klinik mencakup dua komponen utama, yaitu pemantapan mutu internal dan pemantapan mutu eksternal (Tuntun, 2018).

2. Pemantapan Mutu Internal

a. Definisi Pemantapan Mutu Internal

Pemantapan Mutu Internal (*Internal Quality Control* atau *IQC*) merupakan suatu sistem pengawasan mutu yang diterapkan secara rutin dan sistematis di dalam laboratorium untuk menjamin konsistensi proses pemeriksaan. Kegiatan ini mencakup serangkaian prosedur yang dirancang dan dijalankan oleh petugas laboratorium sendiri guna memantau stabilitas kinerja metode, peralatan, serta bahan pemeriksaan yang digunakan dalam proses analisis (Fernandez-calle, *et all.*,2022).

b. Tujuan Pemantapan Mutu Internal

Berdasarkan Permenkes Nomor 43 tentang Cara Penyelenggaraan Laboratorium Klinik yang Baik, Pemantapan Mutu Internal (PMI) memiliki tujuan utama untuk menjamin bahwa seluruh kegiatan pemeriksaan di laboratorium klinik diselenggarakan sesuai dengan prinsip *Good Laboratory Practice (GLP)* dan standar manajemen mutu yang berlaku. Pelaksanaan pemantapan mutu bertujuan agar laboratorium mampu memberikan pelayanan yang bermutu, menghasilkan data pemeriksaan yang akurat, serta dapat dipertanggung jawabkan secara ilmiah maupun etis.

c. Tahapan

Menurut Permenkes Tahun 2015 pelaksanaan PMI mencakup tiga tahapan utama, yaitu tahap pra - analitik, analitik, dan pasca - analitik. Ketiga tahapan ini saling berkaitan dan berperan penting dalam menjamin mutu hasil pemeriksaan laboratorium.

1) Tahap Pra Analitik

Tahap pra analitik meliputi seluruh kegiatan yang terjadi sebelum proses analisis sampel dilakukan. Kegiatan dalam tahap ini mencakup persiapan pasien, pengambilan dan penanganan spesimen, identifikasi, pelabelan, transportasi, penyimpanan, serta pencatatan data sampel. Kesalahan pada tahap ini dapat menyebabkan penyimpangan besar terhadap hasil akhir pemeriksaan. Oleh karena itu, pengendalian mutu pada tahap pra analitik dilakukan dengan memastikan setiap prosedur sesuai dengan standar operasional, termasuk pemeriksaan kesesuaian identitas pasien, jenis spesimen, dan kondisi penyimpanan bahan uji.

2) Tahap Analitik

Tahap analitik merupakan inti dari proses pemeriksaan di laboratorium. Dalam Permenkes No. 15 Tahun 2015 dijelaskan bahwa pengendalian mutu internal pada tahap ini dilakukan dengan menggunakan bahan kontrol yang memiliki nilai rujukan tertentu untuk memantau kinerja alat, metode, dan petugas pemeriksa. Laboratorium wajib melakukan pemeriksaan bahan kontrol secara berkala, mencatat hasilnya, dan melakukan analisis statistik untuk memastikan bahwa hasil uji tetap berada dalam batas kendali yang dapat diterima. Apabila ditemukan penyimpangan laboratorium harus segera melakukan tindakan korektif sesuai prosedur yang berlaku.

3) Tahap Pasca Analitik

Tahap pasca - analitik mencakup kegiatan setelah pemeriksaan selesai, termasuk validasi hasil, pelaporan, dan pendistribusian data pemeriksaan. Pengendalian mutu internal pada tahap ini dilakukan dengan memeriksa kembali konsistensi dan kelengkapan hasil sebelum diserahkan kepada pengguna jasa. Semua hasil pemeriksaan harus terdokumentasi dengan baik, serta disertai mekanisme penyimpanan data yang aman untuk keperluan audit dan evaluasi mutu (Permenkes, 2015).

3. Bahan Kontrol

a. Pengertian Bahan Kontrol

Bahan kontrol merupakan spesimen buatan yang memiliki karakteristik serupa dengan sampel pasien dan digunakan untuk memverifikasi ketepatan sistem pemeriksaan laboratorium. Menurut Buku Kendali Mutu (SC), bahan kontrol berfungsi sebagai alat ukur yang membantu laboratorium menilai sejauh mana sistem analitik mampu memberikan hasil yang konsisten dan akurat. Penggunaan bahan kontrol menjadi komponen esensial dalam pelaksanaan Pemantapan Mutu Internal (PMI), karena melalui pemantauan hasil bahan kontrol dapat diketahui apakah proses analitik berada dalam batas kendali mutu yang ditetapkan (Tuntun, 2018).

b. Penyimpanan Bahan Kontrol

Bahan kontrol internal harus disimpan pada kondisi suhu yang sesuai untuk menjaga kestabilannya dan untuk menjamin mutu hasil pemeriksaan laboratorium. Idealnya dipertahankan dalam rentang suhu antara 2°C hingga 8°C. Suhu tersebut dinilai optimal karena dapat memperlambat proses degradasi kimiawi maupun biologis yang berpotensi mengubah konsentrasi analit di dalam bahan kontrol (Nordtest, 2018).

c. Syarat dan Kriteria Bahan Kontrol

Agar dapat digunakan dalam pemeriksaan laboratorium, bahan kontrol harus memenuhi kriteria berikut:

1. Mempunyai komposisi yang mirip dengan spesimen (misalnya: untuk pemeriksaan urine digunakan bahan kontrol urine).
2. Stabil selama penyimpanan, tidak mengalami perubahan sifat fisik atau kimia.
3. Dilengkapi dengan sertifikat analisis dari pabrik pembuat (untuk bahan kontrol komersial).

d. Jenis Bahan Kontrol

Berdasarkan sumber dan cara pembuatannya, bahan kontrol dapat dibedakan menjadi dua jenis utama:

1. Bahan Kontrol Komersial

Bahan kontrol komersial adalah bahan yang diproduksi secara industri dengan komposisi dan nilai acuan yang telah diketahui. Jenis

ini memiliki keunggulan berupa stabilitas yang tinggi, masa simpan yang panjang, serta nilai rujukan yang sudah tervalidasi (Putra, 2025).

2. Bahan Kontrol Internal (*In-House Control*)

Bahan kontrol internal dibuat oleh laboratorium menggunakan bahan biologis yang tersedia, seperti campuran serum pasien (*pooled serum*), hemolizat, atau larutan standar yang dipersiapkan secara mandiri. Meskipun memerlukan proses validasi internal, bahan kontrol jenis ini sering digunakan apabila bahan komersial tidak tersedia atau kurang sesuai dengan jenis pemeriksaan tertentu. Bentuk bahan kontrol terdiri dari bahan kontrol cair, bubuk padat (liofilisat), atau strip. Bentuk liofilisat umumnya lebih stabil (Putra, 2025).

4. *Pooled* Serum Yang Diproses Kering Beku (Liofilisat)

a. Pengertian *Pooled* Serum Yang Diproses Kering Beku (Serum Liofilisat)

Serum liofilisat merupakan sediaan serum yang telah melalui proses pengeringan beku (*freeze-drying*) untuk menghilangkan kadar airnya, sehingga menghasilkan bentuk serbuk kering yang stabil dan mudah disimpan dalam jangka waktu lama. Serum liofilisat digunakan sebagai bahan kontrol mutu (*quality control material*) pada pemeriksaan kimia klinik, baik untuk pengendalian mutu internal (IQC) maupun penilaian mutu eksternal (EQAS). Bentuk liofilisat dianggap lebih stabil dibandingkan serum cair, karena mampu mempertahankan kadar analit (Handayati, 2022).

b. Proses Pembuatan Serum Liofilisat

Proses pembuatan serum ini dilakukan melalui beberapa tahapan utama, yaitu:

1) Pengumpulan dan Seleksi Serum

Tahap awal dimulai dengan pengambilan darah dari donor sehat yang telah melalui pemeriksaan laboratorium dasar untuk memastikan kondisi normal dari parameter biokimia seperti glukosa, kolesterol, trigliserida, kreatinin, dan enzim hati. Setiap sampel diuji untuk menyingkirkan penyakit infeksi menular, seperti HIV dan hepatitis B, demi keamanan bahan biologis. Serum yang telah memenuhi kriteria selanjutnya digabung (*pooled*) untuk memperoleh volume yang cukup dan memastikan komposisi analit yang seragam antar-vial (Handayati, 2022).

2) Homogenisasi dan Pembagian ke Vial

Serum gabungan kemudian dihomogenkan menggunakan alat vortex agar seluruh komponen biokimia terdistribusi secara merata. Setelah homogen, serum dibagi ke dalam vial-vial kaca steril dengan volume tertentu (biasanya 1 – 2 mL per vial) menggunakan pipet untuk menjamin keseragaman volume (Wibiseno, Handayati and Arifin, 2022).

3) Proses Pembekuan

Setelah dimasukkan ke dalam vial, serum dibekukan secara cepat pada suhu sangat rendah (sekitar $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ hingga $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$). Pembekuan ini

bertujuan untuk mengubah air di dalam serum menjadi kristal es tanpa merusak struktur protein atau enzim. Tahapan ini penting untuk menjaga integritas molekul selama proses pengeringan berikutnya (Jamtsho, 2013).

4) Proses Kering Beku (*Freeze-Drying*)

Tahap inti pembuatan serum liofilisat adalah pengeringan beku di bawah tekanan rendah. Vial berisi serum beku dimasukkan ke dalam alat *freeze-dryer*. Pada alat ini, air yang telah membeku akan mengalami sublimasi, yaitu perubahan langsung dari fase padat ke fase gas tanpa melewati fase cair. Proses ini menghasilkan serum berbentuk serbuk kering (liofilisat) yang bebas air namun tetap mempertahankan struktur biokimia analit. Hasil pengeringan ini memiliki kadar air yang sangat rendah (<1%), sehingga meningkatkan stabilitas terhadap degradasi enzimatik dan mikrobiologis (Handayati, 2022).

5) Rekonstitusi

Serum liofilisat yang telah kering disimpan di suhu 2–8°C. Sebelum digunakan, serum liofilisat direkonstitusi dengan air destilasi steril (aquabides) untuk mengembalikan ke bentuk cair. Serum cair hasil rekonstitusi kemudian diuji menggunakan alat kimia klinik otomatis terhadap berbagai parameter. (Wibiseno *et al*, 2022) .

5. Natrium Azida

Natrium azida (NaN_3) adalah senyawa kristal putih yang larut dalam air dan sering digunakan sebagai pengawet atau bakteriostatik dalam reagen

laboratorium, untuk mencegah pertumbuhan mikroba dan menjaga stabilitas larutan. Konsentrasi yang umum dianjurkan dalam reagen *AST* berkisar 0,02-0,1%, cukup untuk menjaga sterilitas reagen tanpa mempengaruhi aktivitas enzim yang diukur. Namun, penambahan natrium azida secara berlebihan dapat menimbulkan interferensi pada pengukuran *AST*. Sehingga nilai aktivitas enzim yang dihasilkan menjadi rendah atau tidak akurat, karena senyawa ini dapat menghambat reaksi enzimatik atau mempengaruhi NADH yang digunakan sebagai indikator. Oleh karena itu, pemakaian natrium azida dalam pemeriksaan *AST* harus disesuaikan dengan dosis aman sesuai pedoman laboratorium (Syamsudin *et al.* 2023)

6. Uji Homogenitas

Uji homogenitas merupakan tahap penting dalam penilaian mutu bahan kontrol sebelum digunakan dalam kegiatan pengujian maupun uji profisiensi antar laboratorium. Uji ini bertujuan untuk memastikan bahwa seluruh unit bahan uji memiliki keseragaman karakteristik yang cukup sehingga tidak menimbulkan perbedaan hasil pengukuran akibat ketidakhomogenan bahan, tetapi benar-benar mencerminkan variasi kinerja analitik antar laboratorium (Nordtest, 2018). Berdasarkan (ISO 13528, 2015), uji homogenitas dapat dilakukan sebagai berikut:

1) Pemilihan Sampel Secara Acak

Sejumlah unit bahan uji diambil secara acak dari satu batch dalam bentuk akhir, umumnya sebanyak sepuluh unit atau lebih, agar mewakili keseluruhan bahan dan menghindari bias pengambilan.

2) Pengukuran Berulang

Setiap unit yang dipilih diuji terhadap parameter yang sama dengan dua atau lebih pengulangan. Pengukuran ini digunakan untuk menilai variasi di dalam unit (dalam-sampel) dan antara-unit (antara-sampel).

3) Evaluasi Kriteria Homogenitas

Nilai s_s dibandingkan dengan simpangan baku penilaian profisiensi (σ_{pt}). Bahan uji dianggap homogen apabila memenuhi kriteria:

$$s_s \leq 0.3 \times \sigma_{pt}$$

Keterangan :

s_s : Standar deviasi antar sampel.

σ_{pt} : Simpangan baku untuk penilaian profisiensi.

Jika tidak memenuhi batas tersebut, bahan perlu dihomogenkan kembali atau variasinya diperhitungkan dalam ketidakpastian pengukuran.

4) Pelaporan Hasil

Semua hasil pengukuran dan analisis disajikan dalam laporan yang mencakup nilai statistik, hasil evaluasi, dan kesimpulan mengenai tingkat homogenitas bahan uji (ISO 13528, 2015).

7. Uji Stabilitas

Uji stabilitas merupakan proses penilaian kemampuan suatu analit dalam sampel untuk mempertahankan sifat fisikokimianya selama periode waktu tertentu. Ketidakstabilan ditunjukkan oleh perubahan karakteristik analit seiring waktu, yang dapat dimodelkan melalui persamaan ketidakstabilan (Gomez-Rioja *et al.*, 2023). Uji stabilitas memiliki fungsi utama untuk memastikan bahwa suatu bahan, sampel, atau reagen tetap

memiliki karakteristik dan komposisi yang konsisten selama masa penyimpanan maupun penggunaan (Samin dan Susanna TS, 2016). Menurut ISO 13528 uji stabilitas dilakukan dengan cara:

- a. Sampel disimpan selama 2 bulan.
- b. Setelah penyimpanan, dilakukan kembali analisis kadar menggunakan metode yang sama seperti pada uji homogenitas.
- c. Hasil analisis pertama (sebelum penyimpanan) dibandingkan dengan hasil setelah penyimpanan, dan kestabilan ditentukan melalui persamaan:

$$|X_r - Y_r| < 0.3\sigma$$

Keterangan :

X_r : Rata-rata hasil awal.

Y_r : Rata-rata hasil setelah penyimpanan.

σ : Simpangan baku untuk penilaian profisiensi (ISO, 2022).

8. Enzim *Aspartate Aminotransferase (AST)*

a. Pengertian Enzim

Enzim merupakan molekul biologis kompleks yang berperan penting dalam mengkatalisis berbagai reaksi kimia yang mendukung kehidupan. Enzim bekerja sebagai biokatalis, yaitu zat yang mempercepat laju reaksi kimia tanpa mengalami perubahan permanen pada struktur molekulnya setelah reaksi berlangsung. Dengan adanya enzim, proses biokimia yang secara alami memerlukan waktu lama dapat berlangsung lebih cepat dan efisien pada kondisi fisiologis normal (Ribeiro *et al.*, 2023).

b. Fungsi Enzim

Enzim berfungsi sebagai katalis biologis yang mempercepat reaksi kimia di dalam tubuh dengan menurunkan energi aktivasi tanpa mengalami

perubahan permanen setelah reaksi berlangsung. Enzim membantu menjaga efisiensi dan keteraturan proses metabolisme, karena setiap enzim bekerja secara spesifik terhadap substrat tertentu. Selain itu, enzim juga berperan dalam mengatur aktivitas metabolik, menetralkan zat beracun, serta mendukung berbagai proses fisiologis dan bioteknologis. Secara keseluruhan, enzim memastikan reaksi biokimia dalam tubuh berlangsung cepat, terarah, dan efisien (Ribeiro *et al.*, 2023).

9. Pengertian Enzim *Aspartate Aminotransferase (AST)*

Aspartate Aminotransferase (AST) juga dikenal dengan nama *Serum Glutamate Oxaloacetate Transaminase (SGOT)*, merupakan enzim yang berperan penting dalam reaksi transaminasi, yaitu proses pemindahan gugus amino antara asam amino dan asam keto. Enzim ini mengkatalisis perpindahan gugus amino dari asam aspartat ke α -ketoglutarat untuk menghasilkan asam oksaloasetat dan glutamat. Reaksi ini merupakan bagian dari siklus metabolisme asam amino dan memiliki keterkaitan erat dengan siklus asam sitrat / *Krebs cycle* (Sydpath, 2022).

AST termasuk dalam kelompok enzim transaminase yang banyak ditemukan di jaringan dengan aktivitas metabolik tinggi, terutama hati, otot jantung, otot rangka, ginjal, dan eritrosit. Karena penyebarannya yang luas, enzim ini tidak hanya merefleksikan fungsi hati, tetapi juga dapat mencerminkan kondisi metabolik sistemik. Dalam konteks sindrom metabolik (MetS), peningkatan kadar *AST* sering dikaitkan dengan adanya gangguan metabolisme lipid dan resistensi insulin, yang pada akhirnya

dapat menimbulkan penumpukan lemak dalam hati (steatosis hepatic) serta gangguan fungsi hepatoseluler (Raya-Cano *et al.*, 2023)

Dalam keadaan fisiologis, kadar *AST* di dalam darah relatif rendah karena keberadaannya terbatas di dalam sel hati, jantung, otot rangka, ginjal, dan jaringan lain. Namun ketika terjadi kerusakan hepatoseluler baik akibat infeksi virus, konsumsi alkohol berlebih, maupun peradangan kronis membran sel hati menjadi permeabel atau mengalami nekrosis, sehingga enzim *AST* dilepaskan ke dalam sirkulasi darah. Hal inilah yang menyebabkan peningkatan kadar *AST* serum, yang dapat diukur melalui uji fungsi hati (Dr Asfia *et al.*, 2024).

10. Metabolisme Enzim *Aspartate Aminotransferase (AST)*

AST adalah enzim dari kelompok aminotransferase yang berfungsi mentransfer gugus amino dari asam aspartat ke α -ketoglutarat, menghasilkan oksaloasetat dan glutamat dalam reaksi. Enzim ini ditemukan di banyak jaringan tubuh khususnya hati, jantung, otot rangka, ginjal dan sel darah merah yang menunjukkan bahwa metabolisme *AST* memiliki jangkauan sistemik, bukan hanya terbatas pada hati. Secara struktural, *AST* memiliki dua isoenzim utama: isoenzim sitoplasmik (cAST) dan isoenzim mitokondrial (mAST). Kedua bentuk menjalankan reaksi yang sama secara umum, tetapi lokasi seluler yang berbeda memberi implikasi berbeda terhadap fungsi metabolik dan pelepasan ke dalam sirkulasi saat terjadi kerusakan jaringan (Ndrepepa, 2021).

Dalam jalur metabolik, oksaloasetat yang dihasilkan oleh aktivitas *AST* dapat memasuki siklus asam sitrat (Krebs cycle) untuk produksi ATP, serta terlibat dalam shuttle malat-aspartat yang memindahkan ekivalen tereduksi (NADH) dari sitosol ke mitokondria. Kondisi seperti kerusakan mitokondria atau stres oksidatif pada jaringan non-hati dapat menyebabkan pelepasan *AST* ke dalam darah. Karena *AST* berada di mitokondria sejumlah jaringan, peningkatan kadar *AST* dapat mencerminkan kondisi metabolik sistemik atau gangguan metabolisme hepatic yang lebih mendalam (Ndrepepa, 2021).

11. Metode Pemeriksaan Aktivitas Enzim *Aspartate Aminotransferase*.

Pemeriksaan aktivitas *AST* umumnya dilakukan dengan metode kinetik, seperti yang direkomendasikan oleh International Federation of Clinical Chemistry (IFCC). Metode ini melibatkan dua reaksi berurutan:

- a. Reaksi transaminasi: L-aspartat + α -ketoglutarat $\leftrightarrow$ oksaloasetat + L-glutamat.
- b. Reaksi reduksi oksaloasetat: Oksaloasetat direduksi menjadi malat oleh enzim Malat Dehidrogenase (MDH), bersamaan dengan perubahan NADH menjadi NAD⁺.

Penurunan absorbansi NADH yang terukur pada panjang gelombang 340 nm dengan spektrofotometer akan mencerminkan aktivitas enzim *AST* dalam sampel. Aktivitas *AST* dapat dipengaruhi oleh faktor-faktor seperti kualitas sampel (misalnya hemolisis), suhu, pH, konsentrasi reagen, dan prosedur penanganan laboratorium (Hidayati, 2019).

12. Nilai Rujukan

Menurut UCSF Health (2023), rentang nilai referensi aktivitas enzim *Aspartate Aminotransferase (AST)* pada orang dewasa secara umum berkisar antara 8–33 U/L. Nilai referensi ini digunakan sebagai acuan untuk menilai kondisi fisiologis normal maupun adanya kemungkinan kerusakan jaringan, khususnya pada hati, jantung, dan otot. Perlu diperhatikan bahwa nilai referensi *AST* dapat sedikit berbeda antar laboratorium akibat variasi metode analisis, reagen yang digunakan, serta kondisi specimen (Names *et al.*, 2023).

13. Pemeriksaan Enzim *AST*

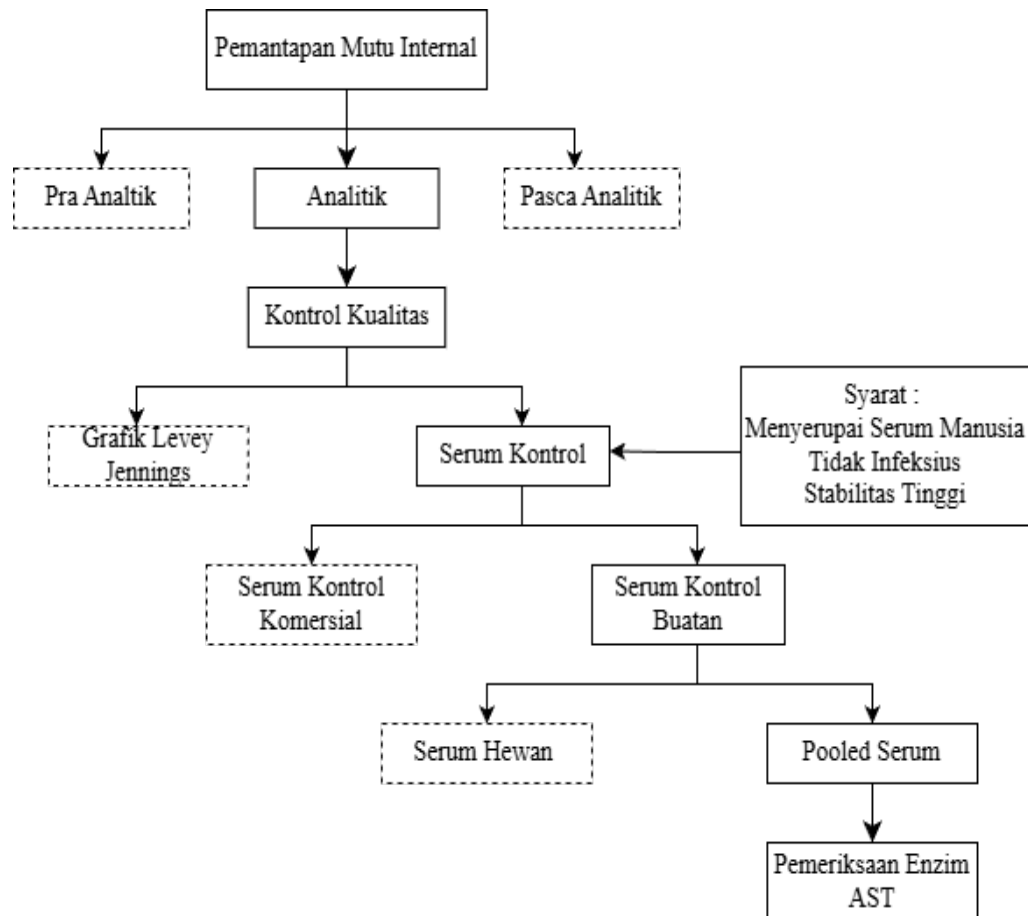
a. Prosedur Pemeriksaan Enzim *AST* (Dewi M K, 2021)

1. Menyiapkan working reagent yaitu *reagent 1* dan *reagent 2*.
2. *Reagent* yang akan digunakan harus suhu ruang.
3. Memasukkan *reagent* kerja ke tempat *reagent*.
4. Menggunakan kontrol serum (*high & low*) untuk memverifikasi kinerja alat sebelum pemeriksaan sampel pasien.
5. Setelah hasil kontrol masuk (*in control*), menu enzim *AST/SGOT* dipilih pada panel *auto-analyzer*.
6. Memasukkan sampel serum (misal 10–100 μL , tergantung alat).
7. Setelah memasukkan sampel ke alat, pilih menu metode.
8. Memilih metode kinetik UV IFCC, pengukuran absorbansi pada 340 nm.
9. Hasil pemeriksaan kadar enzim *AST* keluar pada layar.

b. Komposisi *Reagent AST*Tabel 1. Komposisi Reagen *AST*

Reagen	Komponen	Volume
Reagen 1	TRIS Buffer (pH 7,5–7,8)	80–125 mmol/L
	L-Aspartate	200–340 mmol/L
	Malate Dehydrogenase (MDH)	≥ 600 –1100 U/L
	Lactate Dehydrogenase (LDH)	≥ 900 –2100 U/L
	Detergen & pengawet	Tercantum pada produk kit
Reagen 2	α -Ketoglutarate (2-Oxoglutarate)	15–85 mmol/L
	NADH (tereduksi)	0,18–1,4 mmol/L
	Detergen & pengawet	Tercantum pada produk kit

B. Kerangka Teori



Gambar 1. Kerangka Teori

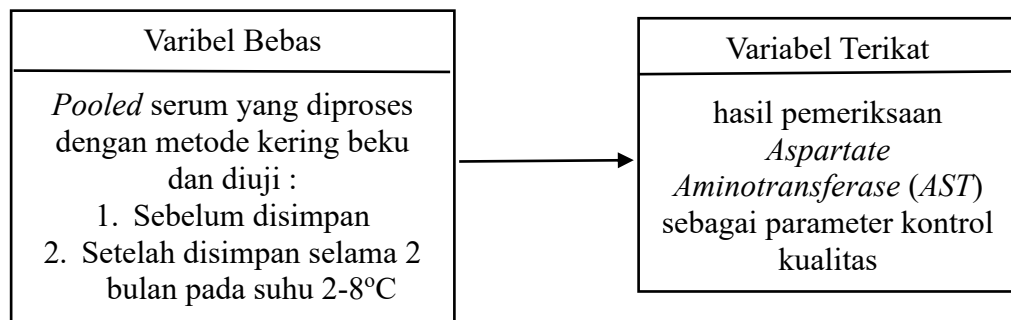
Sumber: Disusun peneliti berdasarkan Tuntun (2018), ISO 13528:2015, Handayati (2022), dan Westgard (2020)

Keterangan :

: Diteliti

: Tidak Diteliti

C. Hubungan Antar Variabel



Gambar 2. Hubungan Antar Variabel

D. Hipotesis

Hipotesis pada penelitian ini adalah *pooled* serum yang diproses kering beku homogen dan stabil terhadap parameter *Aspartate Aminotransferase (AST)*.