

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Laboratorium klinik

Laboratorium klinik merupakan fasilitas pelayanan kesehatan yang berfungsi untuk melakukan pemeriksaan terhadap spesimen biologis manusia seperti darah, urine, dan cairan tubuh lainnya. Pemeriksaan ini bertujuan untuk memperoleh informasi mengenai kondisi fisiologis maupun patologis tubuh yang diperlukan dalam proses diagnosis, pemantauan penyakit, penentuan terapi, hingga upaya pencegahan (WHO, 2019). Laboratorium klinik sangat berperan penting karena sekitar 70% keputusan medis bergantung pada hasil pemeriksaan laboratorium (John dkk., 2025). Besar peran laboratorium klinik dalam pengambilan keputusan medis mengharuskan setiap hasil pemeriksaan yang dihasilkan memiliki tingkat akurasi dan keandalan yang tinggi.

Hasil pemeriksaan yang dikeluarkan dari laboratorium harus tetap akurat dan dapat dipercaya, untuk itu setiap laboratorium klinik menerapkan sistem pemantapan mutu. Pemantapan mutu bertujuan untuk menjamin bahwa seluruh tahap pemeriksaan berjalan sesuai standar, mulai dari alat, ketepatan prosedur, hingga stabilitas reagen yang digunakan. Pemantapan mutu terdiri atas dua komponen utama, yaitu pemantapan mutu internal (PMI) dan pemantapan mutu eksternal (PME). Pemantapan mutu internal dilakukan secara rutin setiap hari untuk mengevaluasi

konsistensi alat dan reagen, sedangkan pengendalian mutu eksternal dilakukan melalui program uji banding antar laboratorium, sehingga hasil yang diperoleh dapat dibandingkan dan divalidasi secara eksternal (Plebani, 2020).

Pemantapan mutu Internal laboratorium dibagi menjadi tiga tahapan utama yaitu pra-analitik, analitik, dan pasca-analitik. Ketiganya merupakan satu kesatuan proses yang saling berkaitan untuk menghasilkan pemeriksaan yang valid dan reliabel (Kumar dkk., 2020). Pemantapan mutu internal meliputi:

a. Tahap Pra-analitik

Tahap pra-analitik merupakan tahapan awal dalam proses pemeriksaan laboratorium yang meliputi kegiatan mulai dari permintaan pemeriksaan hingga transportasi sampel ke laboratorium. Tahap pra-analitik menyumbang sekitar 60 – 70% kesalahan pemeriksaan laboratorium (Parambu dkk., 2024). Kesalahan yang sering terjadi pada tahap ini antara lain identitas pasien yang tidak sesuai, kesalahan jenis tabung, kesalahan teknik pengambilan serta hemolisis akibat pemindahan sampel darah yang salah (John dkk., 2025).

Teknik pengambilan sampel darah merupakan tahap yang sangat menentukan kualitas hasil pemeriksaan laboratorium, khususnya pada pemeriksaan kimia klinik. Pengambilan darah vena harus dilakukan dengan prosedur yang benar untuk menghindari terjadinya kesalahan

pada tahap pra-analitik seperti hemokonsentrasi, dan hemolisis. Menurut Kemenkes RI (2019), prosedur pengambilan sampel darah yang baik harus memperhatikan pemilihan vena, penggunaan tourniquet yang tidak melebihi satu menit, serta penusukan jarum dengan sudut yang tepat untuk meminimalkan trauma pada pembuluh darah.

Darah yang telah yang didapatkan dari proses pengambilan darah kemudian dilakukan proses pemindahan sampel dari spuit ke dalam tabung *vacutainer* dimana ini merupakan tahap yang perlu diperhatikan karena sering menyebabkan masalah pra-analitik apabila tidak dilakukan dengan benar. Prosedur standar dalam pemindahan sampel, jarum spuit dilepas terlebih dahulu sebelum darah dimasukkan ke dalam tabung, kemudian darah dialirkan perlahan melalui dinding tabung. Teknik ini bertujuan untuk mengurangi tekanan mekanik dan gaya geser yang dapat merusak membran eritrosit sehingga risiko terjadinya hemolisis dapat diminimalkan (CLSI, 2017). Sedangkan pemindahan sampel tanpa melepas jarum dapat meningkatkan tekanan darah keluar sehingga dapat menyebabkan pecahnya eritrosit dan memicu gangguan berupa hemolisis (Permenkes RI, 2019).

Rahayu & Kartika (2018) juga menekankan bahwa tekanan tinggi dari *plunger* spuit merupakan salah satu penyebab utama hemolisis mekanik dalam pemeriksaan laboratorium, terutama pada sampel serum yang akan dianalisis menggunakan metode spektrofotometri.

Studi lain juga menunjukkan bahwa metode pengambilan dan pemindahan darah yang tidak terkontrol dapat meningkatkan angka kejadian hemolisis dibandingkan sistem yang memanfaatkan tekanan terkontrol. Omar dkk. (2023) menjelaskan bahwa kontrol aliran darah selama proses pemindahan sampel berperan penting dalam menjaga stabilitas eritrosit dan mencegah interferensi hemolisis pada pemeriksaan kimia klinik. Oleh karena itu, pemindahan darah dengan melepas jarum spuit lebih direkomendasikan untuk mempertahankan kualitas serum dan keakuratan hasil pemeriksaan.

b. Tahap Analitik

Tahap analitik adalah proses inti pemeriksaan yang melibatkan analisis spesimen dengan menggunakan alat dan reagen tertentu. Kesalahan yang dapat terjadi pada tahap ini meliputi kesalahan kalibrasi alat, reagen kadaluwarsa, atau gangguan teknis pada instrumen (Plebani, 2020).

c. Tahap Pasca-analitik

Tahap pasca-analitik meliputi validasi, pelaporan hasil, serta penyampaian hasil pemeriksaan kepada pihak yang memerlukan. Pada tahap ini, kesalahan pengetikan, atau keterlambatan pengiriman laporan (Kumar dkk., 2020).

2. Darah dan Serum

Darah merupakan jaringan cair yang tersusun atas plasma dan komponen seluler yang berperan penting dalam mempertahankan fungsi fisiologis tubuh. Darah membawa oksigen, nutrisi, hormon, dan zat sisa metabolisme dari satu jaringan ke jaringan lainnya sehingga sangat penting untuk kehidupan. Dalam pemeriksaan laboratorium, darah menjadi spesimen utama karena mengandung berbagai komponen yang dapat mencerminkan kondisi kesehatan seseorang. Guyton & Hall (2021) menjelaskan bahwa melalui pemeriksaan darah dapat diperoleh gambaran mengenai status metabolik, fungsi organ, hingga proses patologis tertentu, sehingga darah menjadi bahan pemeriksaan dasar dalam kimia klinik, hematologi, dan imunologi. Komponen darah terdiri dari dua bagian utama, yaitu plasma darah dan elemen seluler yang meliputi eritrosit, leukosit, dan trombosit.

Eritrosit merupakan komponen terbesar yang berfungsi membawa oksigen dari paru-paru ke jaringan tubuh melalui hemoglobin. Kerusakan eritrosit, seperti hemolisis, dapat menyebabkan keluarnya komponen intraseluler eritrosit ke dalam plasma sehingga dapat mengganggu hasil pemeriksaan laboratorium (Tortora & Derrickson, 2020). Eritrosit merupakan sel darah yang memiliki kandungan intraseluler dengan komposisi elektrolit dan protein yang jauh berbeda dibandingkan plasma. Eritrosit di dalamnya terdapat hemoglobin, kalium dengan konsentrasi sangat tinggi, serta berbagai enzim intraseluler seperti alkali fosfatase,

laktat dehidrogenase, AST, ALT, dan enzim glikolitik lain. Eritrosit juga mengandung ion magnesium (Mg^{2+}) dan zinc (Zn^{2+}) yang dibutuhkan sebagai kofaktor untuk banyak reaksi enzimatik dalam tubuh (Putri dkk., 2020). Karena tidak memiliki inti dan organel, eritrosit mengandalkan metabolisme sederhana, namun kandungan enzim dan elektrolit di dalamnya tetap sangat tinggi dan stabil selama membran sel tidak rusak.

Ketika terjadi kerusakan pada eritrosit baik akibat kesalahan prosedur, tekanan mekanik, atau penanganan sampel yang tidak tepat, membran eritrosit akan pecah dan seluruh komponen intraseluler dilepaskan ke dalam serum atau plasma. Pecahnya eritrosit menyebabkan peningkatan kadar kalium, magnesium dan zinc yang dapat mempengaruhi aktivitas enzim seperti ALP, LDH, AST, dan ALT, sehingga dapat mengganggu hasil pemeriksaan kimia klinik (Zulfa & Hartati, 2020). Eritrosit yang pecah juga menyebabkan pelepasan enzim protease ke dalam serum. Enzim ini dapat merusak struktur protein pada enzim alkali fosfatase sehingga menurunkan aktivitas katalitiknya. Akibatnya, aktivitas enzim alkali fosfatase yang terukur dalam pemeriksaan dapat menjadi lebih rendah (Ramadhani dkk., 2019).

Kondisi tersebut menunjukkan bahwa kerusakan eritrosit tidak hanya menyebabkan perubahan komposisi elektrolit dan enzim dalam serum, tetapi juga dapat memengaruhi stabilitas dan aktivitas enzim yang diperiksa (Knezevic, 2020). Leukosit merupakan sistem yang berperan dalam pertahanan tubuh terhadap infeksi, sedangkan trombosit berfungsi

dalam proses hemostasis. Gangguan atau lisis pada leukosit maupun trombosit akibat penanganan sampel yang kurang tepat juga dapat memengaruhi integritas sampel dan hasil pemeriksaan (Guyton & Hall, 2021).

Darah pada umumnya dapat membeku apabila didiamkan, darah yang telah mengalami proses pembekuan akan terlihat bagian cair yang terpisah dari bekuan dan disebut sebagai serum. Serum merupakan komponen penting dalam pemeriksaan kimia klinik karena tidak mengandung faktor pembekuan, sehingga stabilitas enzim dan analit di dalamnya lebih terjaga. Agustina & Bastian (2023) menyatakan bahwa serum mengandung elektrolit, hormon, enzim, dan metabolit yang dapat menggambarkan kondisi fisiologis tubuh sehingga sangat ideal digunakan dalam berbagai pemeriksaan klinis. Kualitas serum sangat dipengaruhi oleh proses pengambilan darah, pembekuan, serta teknik sentrifugasi.

Serum dapat diklasifikasikan menjadi dua jenis, yaitu serum normal dan serum tidak normal. Serum normal memiliki warna jernih kekuningan dan tidak menunjukkan tanda gangguan seperti hemolisis, lipemia, atau ikterus. Serum jenis ini merupakan sampel yang paling ideal untuk pemeriksaan kimia klinik (A.R. Malik dkk., 2023). Serum yang tidak normal dapat dibedakan menjadi 3, yaitu:

a. Serum Hemolisis

Hemolisis adalah kondisi pecahnya membran eritrosit yang menyebabkan keluarnya komponen – komponen intarseluler ke

dalam plasma atau serum. Dalam konteks laboratorium, hemolisis menjadi salah satu penyebab utama ketidaksesuaian hasil pemeriksaan kimia klinik. Hemolisis tidak hanya menyebabkan perubahan komposisi kimia serum, tetapi juga memengaruhi stabilitas dan aktivitas enzim yang diperiksa melalui pelepasan berbagai komponen intraseluler, termasuk enzim proteolitik (A.R. Malik dkk., 2023).

Hemolisis dapat terjadi secara *in vivo* akibat penyakit, maupun secara *in vitro* akibat kesalahan teknis selama proses pengambilan darah (Marques-Garcia, 2020). Hemolisis *in vivo* disebabkan oleh kondisi patologis seperti anemia hemolitik, infeksi, atau reaksi transfusi darah, sedangkan hemolisis *in vitro* umumnya terjadi akibat kesalahan teknis pada tahap pengambilan dan penanganan darah. Kesalahan tersebut meliputi penggunaan jarum dengan *gauge* kecil, penarikan darah terlalu cepat, pengocokan sampel terlalu kuat, serta teknik pemindahan darah yang salah, seperti memindahkan darah dari spuit ke tabung tanpa melepas jarum (Kumar dkk., 2020). Serum akibat hemolisis biasanya berwarna merah muda hingga merah tua yang diakibatkan karena pecahnya eritrosit yang melepaskan hemoglobin ke dalam serum.

Hemolisis memiliki indeks atau tingkatan yang merupakan ukuran kuantitatif dari tingkat hemolisis suatu sampel darah, biasanya dinyatakan dalam satuan seperti mg/dL hemoglobin atau indeks hemolisis (HI) yang dihitung berdasarkan serapan pada panjang

gelombang tertentu (Lippi, 2020). Indeks ini penting untuk menilai kualitas sebelum analisis laboratorium. Menurut Liu dkk. (2021) indeks hemolisis yang tinggi (>50 mg/dL) dapat menyebabkan gangguan pada pemeriksaan enzim seperti alkali fosfatase, sehingga sampel perlu ditolak atau diulang.

Hemolisis dapat dideteksi secara visual maupun secara instrumentasi menggunakan spektrofotometer yang mengukur kadar hemoglobin bebas dalam serum, sehingga perlu diperkirakan tingkatannya berdasarkan indeks hemolisis dan visual serum, sesuai tabel berikut.

Tabel 1. Indeks Hemolisis

Indeks Hemolisis	Tampilan Serum	Derajat Hemolisis
<20 mg/dL	Bening	Tidak hemolisis
$20 - 100$ mg/dL	Merah muda	Hemolisis ringan
$100 - 200$ mg/dL	Merah	Hemolisis sedang
>300 mg/dL	Merah tua	Hemolisis berat

Sumber: Adiga & Yogis, 2020.

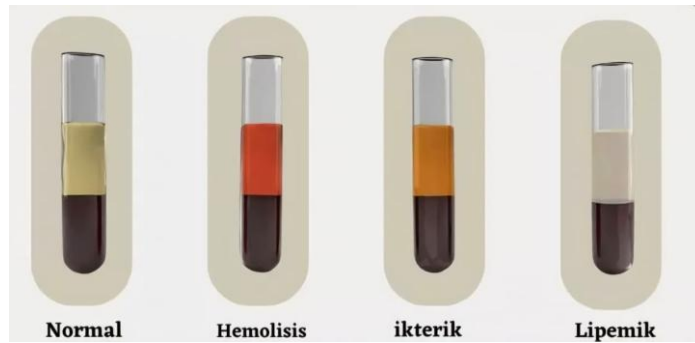
b. Lipemik

Serum ini berwarna putih keruh akibat konsentrasi lipid yang tinggi, serum dapat menjadi lipemik biasanya karena pengambilan darah setelah makan makanan yang memiliki lemak tinggi.

c. Ikterik

Serum ini berwarna kuning pekat akibat bilirubin tinggi, bilirubin dapat menyerap cahaya pada gelombang tertentu sehingga mempengaruhi hasil pengukuran optik. Umumnya serum ini

ditemukan pada pasien dengan gangguan fungsi hati (Parambu dkk., 2024).



Gambar 1. Jenis – jenis Serum

Sumber: Stefani, 2016.

3. Enzim Alkali Fosfatase (ALP)

Enzim adalah protein yang berfungsi sebagai biokatalisator biologis yang mempercepat laju reaksi kimia di dalam organisme tanpa mengalami perubahan permanen sendiri. Setiap enzim menunjukkan spesifitas terhadap substrat dan bekerja pada kondisi lingkungan tertentu (misalnya pH dan suhu optimum), serta sering memerlukan kofaktor (Lehninger, 2017). Enzim Alkali Fosfatase (ALP) adalah enzim yang berfungsi mengkatalisis hidrolisis gugus fosfat dari senyawa organik dalam kondisi alkali atau basa. Enzim ini tersebar luas di jaringan tubuh seperti hati, tulang, ginjal, dan usus. Oleh karena itu, peningkatan kadar enzim alkali fosfatase dalam serum sering digunakan sebagai indikator adanya gangguan pada hati dan tulang (StatPearls, 2023).

Menurut A.R. Malik dkk. (2023) enzim alkali fosfatase merupakan enzim yang terikat pada membran sel dan sebagian terdapat dalam sitoplasma. Aktivitas enzim ini dapat dilepaskan ke dalam serum ketika

terjadi kerusakan jaringan atau gangguan aliran empedu. Sementara itu, menurut Parambu dkk. (2024) dalam pemeriksaan aktivitas enzim alkali fosfatase, serum sangat sensitif terhadap kondisi pra-analitik, seperti hemolisis dan penanganan sampel yang tidak tepat. Serum normal biasanya terdapat ion yang membantu enzim alkali fosfatase dalam aktivitasnya, yaitu ion magnesium dan zinc.

Ion magnesium (Mg^{2+}) dan zinc (Zn^{2+}) memiliki peran penting dalam aktivitas enzim alkali fosfatase. Secara fisiologis, Mg^{2+} dan Zn^{2+} berfungsi sebagai kofaktor struktural dan katalitik, di mana Zn^{2+} menjaga stabilitas struktur enzim, sedangkan Mg^{2+} mendukung proses katalisis hidrolisis gugus fosfat (Hassan, 2019). Aktivitas enzim alkali fosfatase yang optimal tetap tergantung pada konsentrasi ion-ion tersebut dalam rentang fisiologis. Hemolisis menyebabkan pelepasan berbagai komponen intraseluler, termasuk enzim protease yang dapat mengganggu pengukuran enzim alkali fosfatase secara *in vitro*.

Enzim alkali fosfatase merupakan protein yang memiliki struktur spesifik, dimana struktur tersebut sangat menentukan aktivitas katalitiknya. Struktur ini dipertahankan oleh ikatan peptida seperti ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik, dan ikatan ionik. Ketika hemolisis terjadi, enzim protease yang dilepaskan ke dalam serum dapat menghidrolisis ikatan peptida pada molekul enzim alkali fosfatase tersebut (Lippi dkk., 2018).

Proses tersebut menyebabkan perubahan struktur pada enzim alkali fosfatase, sehingga sisi aktif enzim mengalami kerusakan atau

perubahan. Akibatnya, kemampuan enzim dalam berikatan dengan substrat p-nitrofenil fosfat menjadi menurun. Penurunan terhadap substrat ini menyebabkan berkurangnya pembentukan produk p-nitrofenol yang diukur pada metode kinetik (Ramadhani dkk., 2019). Kerusakan struktur enzim juga dapat mengganggu pengikatan kofaktor penting seperti ion Mg^{2+} dan Zn^{2+} yang berperan dalam stabilitas dan aktivitas katalitik enzim alkali fosfatase. Ketidakstabilan ini semakin memperburuk penurunan aktivitas enzim yang terukur (Perovic & Dolcic, 2019). Efek protease terhadap enzim alkali fosfatase tidak hanya bersifat menghambat, tetapi juga merusak struktur enzim secara langsung, sehingga menyebabkan hasil pemeriksaan aktivitas enzim alkali fosfatase menjadi lebih rendah dari kondisi sebenarnya (Burtis & Bruns, 2018).

Pemeriksaan aktivitas enzim alkali fosfatase yang umum digunakan saat ini adalah metode kinetik sesuai dengan standar IFCC (*International Federation of Clinical Chemistry*). Metode kinetik lebih akurat dibandingkan metode *end-point* karena dapat meminimalkan pengaruh interfensi optik dan kimiawi selama reaksi berlangsung (Harnita, 2019). Metode yang umum digunakan saat ini menggunakan substrat p-nitrofenil fosfat dalam buffer AMP pada suhu 37°C, dimana hasil reaksi menghasilkan warna kuning (Nugraha & Badrawi, 2018).

DiaSys (2019) juga menyebutkan bahwa penggunaan buffer AMP pada suhu 37°C menghasilkan reaksi yang stabil dan sensitif sehingga metode ini menjadi standar dalam pemeriksaan enzim alkali fosfatase saat

ini. Metode kinetik dipilih karena dapat memantau perubahan absorbansi secara *real time* sehingga memberikan hasil yang lebih akurat. Berikut prinsip dari pemeriksaan enzim alkali fosfatase:



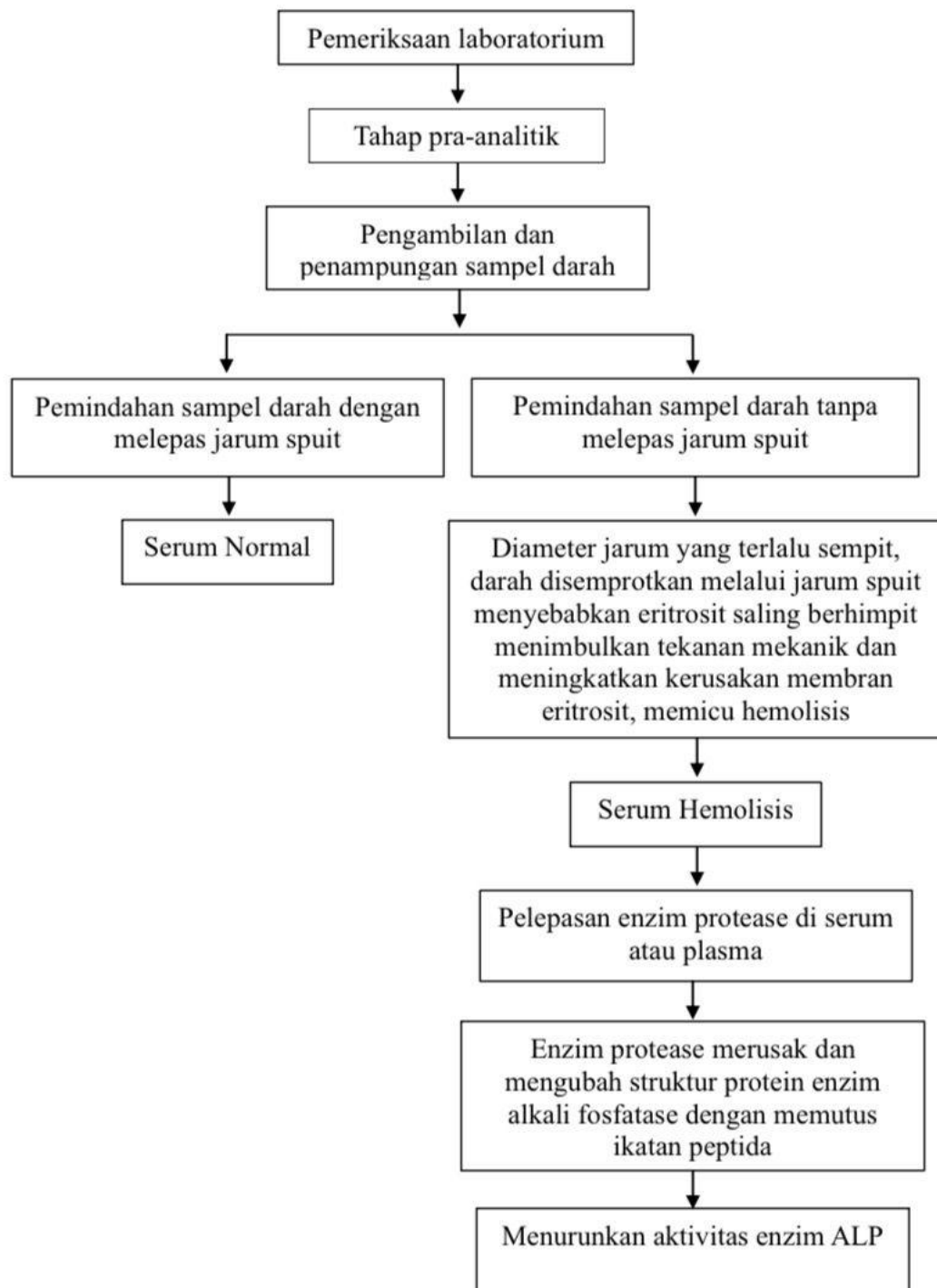
Tabel 2. Nilai Rujukan Enzim Alkali Fosfatase

Kategori	Usia	Nilai Rujukan (U/L)
Anak – anak	1 – 12 Tahun	50 – 320
Remaja	13 -18 Tahun	50 – 130
Dewasa Wanita	≥18 Tahun	40 – 130
Dewasa Pria	≥18 Tahun	45 - 140
Lansia	≥60 Tahun	47 - 120

Sumber: Dyasis, 2019.

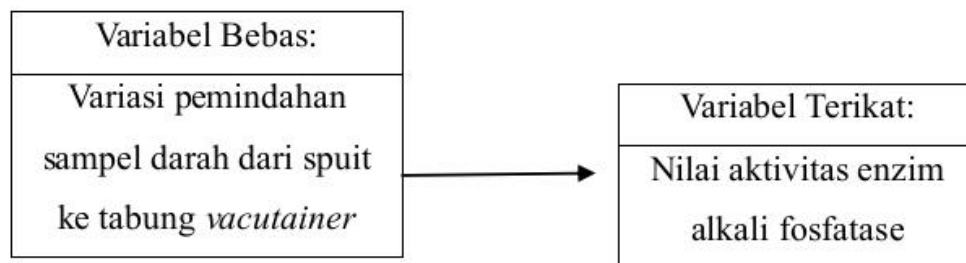
Berdasarkan pedoman DiaSys (2019) kadar enzim alkali fosfatase bervariasi menurut kelompok usia dan jenis kelamin. Aktivitas enzim alkali fosfatase lebih tinggi pada anak-anak dan remaja karena proses pertumbuhan tulang yang masih aktif, sedangkan pada dewasa aktivitasnya stabil dan sedikit lebih tinggi pada pria akibat pengaruh hormon androgen terhadap metabolisme tulang. Pasien dengan usia lanjut, kadar enzim alkali fosfatase cenderung menurun karena berkurangnya aktivitas osteoblast dan fungsi hati.

B. Kerangka Teori



Gambar 2. Kerangka Teori

C. Hubungan Antar Variabel



Gambar 3. Kerangka Konsep

D. Hipotesis

Ada perbedaan nilai aktivitas enzim alkali fosfatase pada pemindahan sampel darah dengan dan tanpa melepas jarum spuit.