

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

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

##### **1. Laboratorium Klinik**

###### **a. Pengertian laboratorium klinik**

Laboratorium klinik merupakan jenis fasilitas kesehatan yang melaksanakan pelayanan pemeriksaan spesimen klinik untuk memperoleh mendapatkan informasi terkait tentang kondisi kesehatan individu, terutama dalam mendukung proses identifikasi, pengobatan, dan pemulihan (Permenkes, 2010). Hasil pemeriksaan laboratorium menghasilkan data ilmiah akurat yang membantu mengatasi masalah yang teridentifikasi dari pemeriksaan klinis serta menjadi bagian penting dari rekam medis pasien. Informasi laboratorium digunakan untuk diagnosis awal berdasarkan riwayat penyakit dan pemeriksaan fisik, serta berperan dalam skrining kesehatan dan pencegahan medis (Sosmira dkk., 2021).

Pelaksanaan pengendalian mutu laboratorium sangat krusial untuk menghasilkan pemeriksaan yang berkualitas, mengingat hasilnya digunakan oleh klinisi untuk menetapkan diagnosis pasien, sehingga akurasi dan ketepatannya harus dijamin. Hasil pemeriksaan laboratorium yang bermutu adalah tanggung jawab seorang ATLM (Ahli Teknologi Laboratorium Medis), sehingga dalam menjalankan aktivitas laboratorium, setiap tahapannya harus

diperhatikan dengan baik untuk mengontrol mutu. Pengendalian mutu ini amat penting dilakukan guna memastikan ketelitian dan keakuratan hasil pemeriksaan laboratorium (Siregar dkk., 2018).

b. Tahapan laboratorium klinik

Menurut Siregar dkk. (2018) kegiatan laboratorium dibagi menjadi tiga tahap yaitu:

1) Tahap pra-analitik

Kesalahan pemeriksaan laboratorium paling besar terjadi pada tahap pra-analitik dengan tingkat kesalahan mencapai 60-70%. Hal ini disebabkan karena spesimen yang diterima oleh laboratorium tidak sesuai dengan kriteria yang ditetapkan. Tahap pra-analitik meliputi:

- a) Persiapan pasien
- b) Pemberian identitas spesimen
- c) Pengambilan dan penampungan spesimen
- d) Penanganan spesimen
- e) Pengiriman spesimen
- f) Pengolahan dan penyiapan spesimen

2) Tahap analitik

Pada tahap analitik memiliki tingkat kesalahan mencapai 10-15%. Pada tahap ini pengendalian mutu sangat penting untuk menjamin hasil pemeriksaan dari pasien itu valid dan akurat

sehingga dapat digunakan untuk menegakkan diagnosis. Tahap analitik meliputi:

- a) Pemeriksaan spesimen
  - b) Pemeliharaan dan kalibrasi alat
  - c) Uji kualitas reagen
  - d) Uji Ketelitian-ketepatan
- 3) Tahap pascaanalitik

Tingkat kesalahan pada tahap pasca analitik mencapai 15-20%. Tahap pasca analitik memiliki peran yang penting dalam interpretasi serta pelaporan hasil pemeriksaan pasien. Tahap pascaanalitik meliputi:

- a) Penulisan hasil
- b) Interpretasi hasil
- c) Pelaporan Hasil

## 2. Asam Urat

### a. Pengertian asam urat

Asam urat (*uric acid*) adalah hasil yang terbentuk dari pemecahan purin atau produk sisa di dalam tubuh yang dihasilkan dari katabolisme purin dengan bantuan enzim guanase dan xantin oksidase. Asam urat terdiri dari komponen karbon, nitrogen,

oksigen, dan hidrogen dengan rumus molekul yaitu  $C_5H_4N_4O_3$  (Fitriyani dkk., 2022).

Purin merupakan komponen penyusun asam nukleat yang terdapat dalam inti sel tubuh dan diproduksi oleh ginjal. Senyawa ini akan mengalami proses metabolisme menjadi asam urat, yang berpotensi mengendap pada jaringan sendi maupun ginjal. Dalam bahan makanan, purin umumnya ditemukan dalam bentuk nukleoprotein yang selanjutnya dapat dimetabolisme menjadi asam urat (Lihi dkk., 2025). Purin terdapat pada bahan makanan yang dikonsumsi baik hewani maupun nabati. Di Indonesia sebagian besar bahan makanan dengan kandungan purin rendah yang dikonsumsi seperti ubi, nasi, susu, dan telur sedangkan untuk makanan yang memiliki kandungan purin tinggi yaitu otak, hati, jeroan, daging sapi, ikan, ayam, udang, tahu dan tempe (Patyawargana dan Falah, 2021)

Asam urat memainkan peran dalam tubuh, asam urat berfungsi sebagai antioksidan dan memiliki manfaat dalam proses regenerasi sel tubuh. Apabila tubuh kekurangan asam urat sebagai antioksidan dapat mengakibatkan peningkatan oksidasi atau radikal bebas yang berpotensi merusak sel-sel tubuh karena manusia merupakan satu-satunya mamalia yang tidak mampu memproduksi antioksidan secara alami (Natsir, 2023).

## b. Metabolisme Asam Urat

Metabolisme asam urat berasal dari hasil pemecahan purin endogen maupun purin yang diperoleh dari asupan makanan. Pada kondisi pH netral, asam urat berada dalam bentuk ion urat, yang sebagian besar terdapat dalam bentuk monosodium urat di dalam darah. Konsentrasi normal asam urat dalam serum berada di bawah  $420 \mu\text{mol/L}$  ( $7 \text{ mg/dL}$ ). Tubuh manusia memiliki enzim urat oksidase (urikase) berfungsi mengoksidasi asam urat menjadi allantoin, namun karena manusia tidak memiliki enzim urikase aktif, maka asam urat cenderung terakumulasi sehingga meningkatkan kadar urat dalam serum. Sekitar 70% asam urat diekskresikan melalui ginjal, sedangkan 30% sisanya dikeluarkan melalui saluran gastrointestinal. Kadar asam urat dalam darah dipengaruhi oleh keseimbangan antara laju produksinya dan proses ekskresinya (Natsir, 2023).

Proses sintesis asam urat diawali dengan pembentukan basa purin dari gugus ribosa, yaitu *5-phosphoribosyl-1-pyrophosphate* (PRPP), yang berasal dari ribosa-5-fosfat dan ATP (*Adenosine Triphosphate*). Pada tahap pertama, PRPP bereaksi dengan glutamin membentuk fosforibosilamin yang memiliki cincin purin berjumlah sembilan atom. Reaksi ini dikatalisis oleh enzim PRPP glutamil amidotransferase, yang aktivitasnya dihambat oleh produk akhir berupa nukleotida *inosine monophosphate* (IMP), *adenine*

*monophosphate* (AMP), dan *guanine monophosphate* (GMP). Ketiga nukleotida tersebut juga menekan pembentukan PRPP, sehingga menurunkan ketersediaan substrat dan memperlambat sintesis purin (Natsir, 2023).

*Inosine monophosphate* (IMP) merupakan nukleotida purin pertama yang terbentuk, mengandung basa hipoksantin, dan berperan sebagai titik percabangan untuk pembentukan adenine dan guanine. AMP disintesis dari IMP melalui penambahan gugus amino dari aspartat ke karbon ke-6 cincin purin dengan bantuan energi dari GTP (*Guanosine Triphosphate*). Sebaliknya, GMP terbentuk dari IMP melalui transfer gugus amino dari glutamin ke karbon ke-2 cincin purin, dengan memerlukan energi dari ATP. Selanjutnya, AMP mengalami deaminasi menjadi inosin, sedangkan IMP dan GMP mengalami defosforilasi membentuk inosin dan guanisin. Basa hipoksantin terbentuk dari defosforilasi IMP, kemudian dioksidasi oleh enzim xanthine oksidase menjadi xantin. Guanin juga mengalami deaminasi menghasilkan xantin, yang selanjutnya diubah oleh xanthine oksidase menjadi asam urat (Natsir, 2023).

#### c. Patofisiologis Asam Urat

##### 1) Gout

Salah satu bentuk gangguan yang paling sering dijumpai adalah gout. Gout merupakan manifestasi klinis dari hiperurisemia yang kronis. Gout muncul akibat peningkatan

kadar asam urat dalam darah hingga mencapai tingkat yang sangat tinggi, kemudian membentuk kristal monosodium urat pada sendi. Kondisi ini menimbulkan gejala nyeri, pembengkakan, serta peradangan. Gout umumnya berkaitan dengan konsumsi makanan tinggi purin seperti daging merah, makanan laut (kerang), serta alkohol, selain itu juga dipengaruhi oleh faktor genetik (Jameson dkk., 2018). Dari sudut pandang metabolisme purin, gout mencerminkan gangguan kemampuan tubuh dalam mempertahankan keseimbangan kadar asam urat, baik akibat peningkatan produksi maupun penurunan proses ekskresi (Wahditiya dkk., 2024).

## 2) Hiperurisemia

Hiperurisemia merupakan kondisi dasar yang ditandai oleh peningkatan kadar asam urat dalam darah, namun tidak selalu disertai gejala atau gangguan kesehatan yang tampak secara langsung. Seseorang dapat mengalami hiperurisemia tanpa menunjukkan tanda-tanda gout, tetapi setiap individu dengan gout pasti memiliki hiperurisemia. Penatalaksanaan hiperurisemia berfokus pada upaya pencegahan melalui pengaturan pola makan serta pemberian terapi farmakologis untuk menjaga kadar asam urat tetap dalam batas normal. Sementara itu, penanganan gout tidak hanya ditujukan untuk mengontrol kadar asam urat, tetapi juga mencakup pengelolaan

serangan akut dan proses peradangan akibat pembentukan kristal asam urat (Jameson dkk., 2018).

d. Faktor Risiko Asam Urat

Menurut Fitriyani dkk. (2022) dan Noviyanti (2015), faktor risiko asam urat terbagi menjadi dua yaitu faktor yang tidak dapat diubah dan faktor yang dapat diubah.

1) Faktor yang tidak dapat diubah

a) Usia

Peningkatan kadar asam urat berkaitan dengan bertambahnya usia terutama pada pria dan wanita yang sudah memulai masa menopause. Individu dengan usia dewasa dan tua umumnya cenderung untuk tidak aktif dalam beraktivitas seperti remaja dan anak-anak, hal tersebut yang dapat menyebabkan penumpukan asam urat dalam tubuh.

b) Jenis kelamin

Secara umum pria lebih sering mengalami masalah asam urat karena secara alami pria memiliki kadar asam urat dalam darah yang lebih tinggi dibandingkan wanita. Wanita cenderung memiliki asam urat yang lebih rendah karena

memiliki hormon estrogen yang berfungsi untuk membantu mengeluarkan asam urat melalui urine.

c) Genetik

Gen berperan penting dalam mewariskan sifat-sifat tertentu kepada keturunan. Penyakit asam urat tergolong ke dalam kategori penyakit *multifactorial* (interaksi antara faktor genetik dan faktor lingkungan). Terdapat sekitar 18% penderita asam urat memiliki riwayat penyakit serupa dalam keluarga.

2) Faktor yang dapat diubah

a) Konsumsi makanan

Konsumsi makanan dengan kadar purin yang tinggi dapat meningkatkan risiko untuk terkena penyakit asam urat lebih tinggi. Makanan yang memiliki kadar purin yang tinggi sekitar 150-180 mg/100 gram seperti jeroan, daging sapi, daging babi, daging kambing, makanan *seafood* (hasil laut), kacang-kacangan, sarden, minuman beralkohol serta sayuran seperti bayam, jamur dan kembang kol dapat meningkatkan kadar asam urat dalam tubuh.

b) Obesitas

Individu yang memiliki berat badan berlebih (obesitas) memiliki risiko cenderung memiliki asam urat yang lebih tinggi, namun individu dengan berat badan

normal pun tidak menutup kemungkinan untuk terserang penyakit asam urat. Hal ini disebabkan oleh kecenderungan orang obesitas untuk mengonsumsi makanan yang tinggi lemak dan yang mengandung banyak purin serta kurangnya aktivitas fisik yang dilakukan.

c) Konsumsi obat-obatan

Konsumsi obat-obatan yang dapat meningkatkan asam urat seperti *teophiline*, *niacin*, *furosemide*, *cyclosporine*, *ethanol*, *levodopa*, *hydrochlorothiazide*, dan aspirin.

e. Nilai Normal Asam Urat

Tabel 1. Kadar Normal Asam Urat

<b>Jenis Kelamin</b>	<b>Kadar Normal</b>
Pria	3,5-7,2 mg/dL (207-425 $\mu$ mol/L)
Wanita	2,6-6,0 mg/dL (153-354 $\mu$ mol/L)

Sumber : Labiosis, 2024

3. Serum

a. Pengertian serum

Serum adalah bagian darah yang tersisa setelah darah membeku yang tidak terdapat fibrinogen, protrombin, faktor VIII, V, dan XIII. Serum diperoleh dari spesimen darah yang tidak ditambahkan antikoagulan dengan cara memisahkan darah menjadi 2 bagian dengan menggunakan sentrifugasi (Sayekti, 2021). Mengacu pada *Centers for Disease Control and Prevention (CDC)*,

(2021), serum untuk pemeriksaan kadar asam urat tetap stabil bila dipisahkan dari sel darah dalam waktu maksimal satu jam setelah pengambilan. Spesimen yang telah dipisahkan dapat bertahan hingga 3 hari pada suhu ruang (20–25°C), 7 hari pada suhu lemari es (4–8 °C), dan hingga 6 bulan jika disimpan beku pada suhu -20 °C atau lebih rendah.

b. Jenis-jenis serum

Menurut Anwari dkk. (2024) jenis-jenis serum yaitu:

1) Serum normal

Serum normal adalah serum yang berasal dari individu sehat.

Serum normal tampak kuning muda jernih setelah disentrifugasi sehingga bebas dari sel dan fibrin.

2) Serum hemolisis

Serum hemolisis atau hemolitik artinya eritrosit pada serum telah rusak dan pecah. Kondisi hemolisis ini disebabkan oleh pungsi vena yang tidak baik sehingga sel-sel rusak ketika memasuki jarum atau akibat kesalahan penanganan tabung darah. Hemolisis dapat diidentifikasi pada spesimen setelah

proses sentrifugasi melalui warna merah jambu hingga merah pada bagian serum

3) Serum lipemik

Serum lipemik adalah serum yang tampak keruh atau seperti susu. Lipemik disebabkan akibat kelebihan lipid khususnya lipoprotein dalam darah.

4) Serum ikterik

Serum ikterik adalah serum yang berwarna kuning yang disebabkan karena peningkatan kadar bilirubin. Serum ikterik dapat mengganggu penyerapan cahaya dan mengganggu penggunaan reagen dengan kandungan  $H_2O_2$  pada pemeriksaan.

c. Tabung serum darah

1) Tabung *plain*

Tabung vacutainer plain adalah salah satu jenis tabung vakum berwarna merah yang tidak mengandung zat aditif. Pada tabung vacutainer plain proses pembekuan darah di dalam tabung ini berlangsung normal selama 15-30 menit (Dj dkk., 2023).

2) Tabung *Serum Separator Tube*

Tabung *Serum Separator Tube* (SST) adalah tabung yang di dalamnya mengandung *clot activator* untuk membantu pembekuan dan terdapat *gel activator* sebagai pemisah antara serum dari sel darah. Tabung SST umumnya ditandai dengan

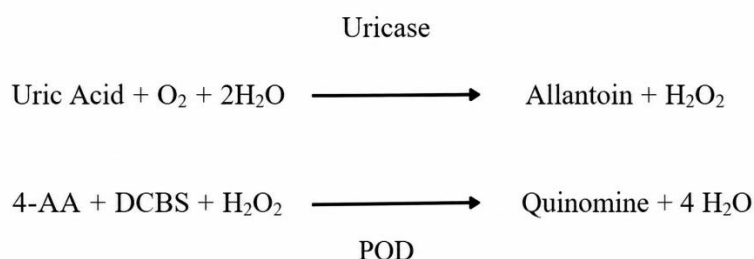
tutup berwarna kuning atau emas dapat mempersingkat waktu tunggu sehingga dapat membantu dalam mengeluarkan hasil pemeriksaan dengan segera (Setiawan dkk., 2021).

#### 4. Metode Uricase-PAP

##### a. Pengertian metode Uricase-PAP

Metode Uricase-PAP (Peroxidase–Aminoantipyrine–Phenol) merupakan metode enzimatik yang digunakan untuk mengukur kadar asam urat secara spesifik dan akurat. Metode ini banyak digunakan dalam pemeriksaan biokimia klinik karena bersifat spesifik, sensitif, dan cepat, serta cocok diterapkan pada sampel serum maupun plasma (CDC, 2015).

##### b. Prinsip Metode Uricase-PAP



Gambar 1. Reaksi Metode Uricase-PAP

Sumber : Labiosis, 2024

Prinsip metode Uricase-PAP adalah enzim uricase akan mengoksidasi asam urat menjadi allantoin dengan pembentukan hidrogen peroksida ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ). Hidrogen peroksida yang terbentuk kemudian akan mengoksidasi peroksidase (POD) yaitu campuran dichlorophenol sulphonate (DCBS) dan 4-aminoantipyrine (4-AA)

menghasilkan senyawa *quinoneimine* yang berwarna sebanding dengan konsentrasi larutan. Reaksi pemeriksaan akan terbaca pada spektrofotometri yang dapat mengukur daya serap pada panjang gelombang 480-520nm (Labiosis, 2024).

#### 5. Spektrofotometer

Spektrofotometer adalah instrumen analitik yang digunakan untuk mengukur kemampuan absorbansi suatu larutan yang mengandung gugus kromofor terhadap panjang gelombang cahaya tertentu ( $\lambda$ ). Alat spektrofotometer dapat digunakan untuk mendeteksi suatu zat atau senyawa dalam larutan secara kualitatif maupun kuantitatif. Secara kualitatif, penyerapan cahaya yang ditandai dengan perubahan warna tertentu menunjukkan keberadaan suatu senyawa. Secara kuantitatif, tingkat penyerapan cahaya dapat digunakan untuk menentukan konsentrasi senyawa tersebut. Setiap senyawa memiliki karakteristik warna tertentu, dan intensitas warna yang dihasilkan berbanding lurus dengan konsentrasi senyawa dalam larutan. Analyzer kimia klinik modern umumnya menggunakan spektrofotometer sebagai bagian inti sistem deteksi pengukuran absorbansi kemudian dikonversi oleh sistem pemrosesan data menjadi konsentrasi analit (Parwiyanti dkk., 2025).

#### 6. Inkubasi

Inkubasi adalah periode waktu di mana campuran reagen dan sampel dibiarkan bereaksi pada kondisi tertentu hingga tercapai titik yang

diinginkan untuk pembentukan produk atau perubahan analit, sebelum dilakukan pengukuran (Pawlik-Sobecka dkk., 2020).

Berikut faktor yang dapat memengaruhi inkubasi yaitu:

a. Suhu inkubasi

Laju reaksi kimia pada inkubasi akan meningkat ketika suhu meningkat, hal ini disebabkan oleh energi aktivasi reaksi enzim lebih mudah tercapai pada suhu yang lebih tinggi. Enzim merupakan protein sehingga dapat mengalami denaturasi akibat pemanasan. Pada suhu yang lebih tinggi sekitar 55°C, aktivitas enzim menurun secara drastis karena protein mengalami denaturasi yang bersifat *irreversible* (tidak dapat dikembalikan) (Bender, 2017).

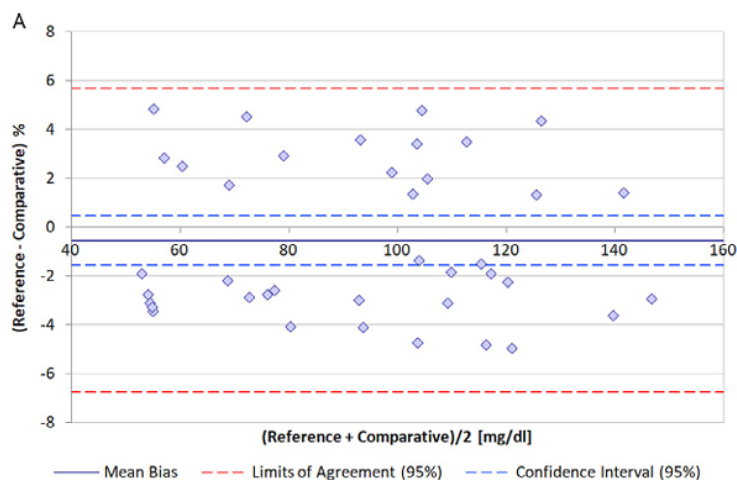
b. Waktu inkubasi

Secara umum semakin lama enzim diinkubasi dengan substratnya semakin besar jumlah produk yang terbentuk, namun peningkatan tersebut tidak berlangsung secara linear. Selama inkubasi berlangsung, enzim mengalami denaturasi dan berkurangnya ketersediaan substrat seiring dengan waktu yang menyebabkan kecepatan reaksi aktivitas menurun. Reaksi enzimatik yang bersifat *reversible* (dapat dikembalikan) mengakibatkan akumulasi produk yang signifikan dan laju reaksi balik meningkat. Laju pembentukan produk melambat seiring berjalannya inkubasi

dan jika waktu inkubasi terlalu lama, maka aktivitas enzim yang diukur akan tampak rendah secara palsu (Bender, 2017).

Pawlik-Sobecka dkk., (2020) dalam penelitiannya mengenai stabilitas parameter biokimia serum menjelaskan bahwa keterlambatan pembacaan setelah penambahan reagen dapat mengubah konsentrasi zat analit akibat berlangsungnya reaksi enzimatik lanjutan atau degradasi senyawa target. Durasi interaksi enzim-substrat secara signifikan mempengaruhi efisiensi katalitik. Standar inkubasi metode Uricase-PAP pemeriksaan asam urat adalah 10 menit di suhu ruang (20-25°C) dan 5 menit pada suhu (37°C), waktu stabil maksimal untuk metode Uricase-PAP adalah 60 menit (Labiosis, 2024). Inkubasi yang terlalu lama dapat menyebabkan denaturasi enzim atau penurunan aktivitas akibat penumpukan produk samping, sementara waktu yang lebih singkat dapat mengakibatkan konversi substrat yang tidak lengkap (Handayani dkk., 2024).

## 7. Uji Bland-Altman



Gambar 2. Plot Bland-Altman

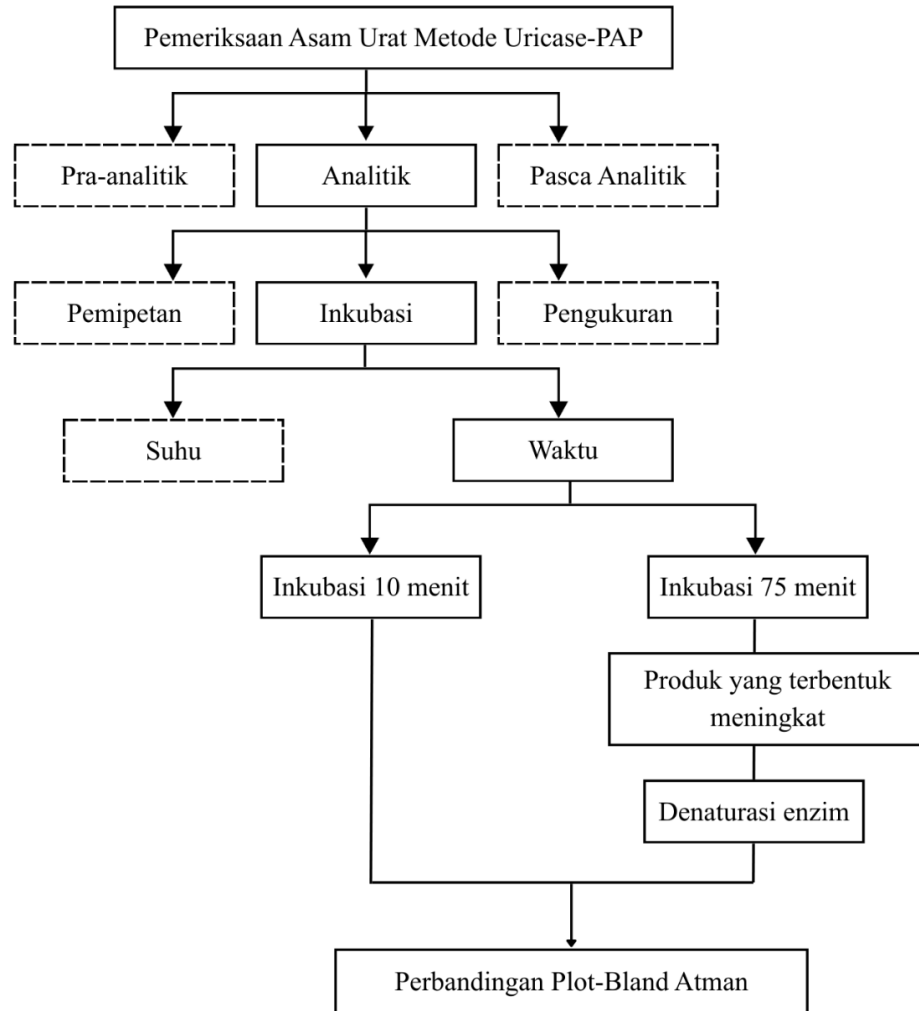
Sumber : Pum, 2019

Metode Bland–Altman merupakan pendekatan statistik yang digunakan untuk menilai kesesuaian/kesepakatan (*agreement*) antara dua metode pengukuran yang dimaksudkan untuk mengukur parameter yang sama. Plot Bland-Altman menekankan perbedaan nilai antar-metode sebagai indikator apakah keduanya dapat saling menggantikan (Bland dan Altman, 1986).

Plot Bland–Altman memvisualisasikan selisih pengukuran terhadap rerata kedua metode. Dihitung mean bias, yang menggambarkan adanya perbedaan sistematis, serta *Limits of Agreement* (LoA), yaitu  $\pm 1,96$  simpangan baku dari selisih pengukuran. Jika LoA berada dalam batas yang secara klinis dapat diterima, maka metode dapat dianggap sepadan (Giavarina, 2015). Pendekatan ini banyak digunakan dalam penelitian laboratorium klinik untuk memvalidasi metode baru, karena

memberikan gambaran langsung mengenai bias dan rentang variasi nyata yang dapat muncul dalam praktik (Krouwer, 2008). Beberapa studi terkini yang dilakukan Msilanga dkk., (2024), Woolley dkk., (2023), Augustijn dkk., (2022) serta Yu dan Lam, (2024) memakai plot Bland–Altman untuk menilai kesesuaian antara metode pengukuran pada laboratorium klinis.

## B. Kerangka Teori



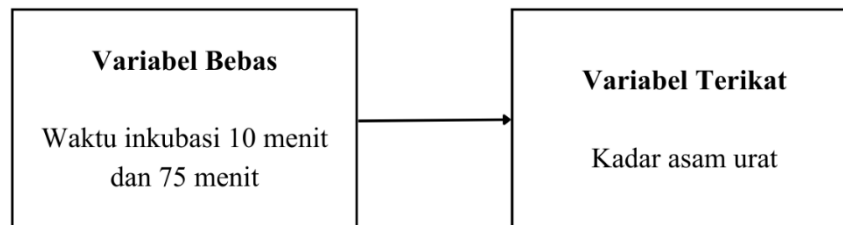
Gambar 3. Kerangka Teori

Keterangan:

———— = diteliti

- - - - - = tidak diteliti

### C. Hubungan Antar Variabel



Gambar 4. Hubungan Antar Variabel

### D. Hipotesis

Variasi inkubasi pemeriksaan selama 75 menit memiliki tingkat kesesuaian yang baik dengan variasi inkubasi pemeriksaan selama 10 menit dan dapat digunakan untuk pemeriksaan kadar asam urat.