

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Jaminan Mutu Laboratorium

Jaminan Mutu atau *Quality Assurance* (QA) dalam laboratorium medis merupakan suatu sistem manajemen yang dirancang untuk memastikan bahwa hasil pemeriksaan yang dikeluarkan oleh laboratorium dapat dipercaya, tepat waktu, dan relevan untuk pengelolaan pasien. Jaminan mutu laboratorium meliputi segala aktivitas yang ditujukan untuk menjamin ketelitian dan ketepatan hasil pemeriksaan laboratorium (Kemenkes RI, 2013). Jaminan mutu mencakup keseluruhan proses pelayanan laboratorium mulai dari persiapan pasien hingga hasil diterima oleh klinisi, yang bertujuan memastikan setiap hasil uji memiliki presisi dan akurasi tinggi serta dapat dipertanggungjawabkan secara medis guna menunjang diagnosis klinis (Kusmiati dkk, 2022).

Terdapat tiga tahapan yang berperan penting dalam menentukan efektivitas jaminan mutu, yaitu pra-analitik, analitik, dan pasca-analitik. Kesalahan laboratorium yang paling umum terjadi pada tahap pra-analitik, yaitu sekitar 60-70%, meliputi identifikasi pasien, pengambilan sampel, penanganan sampel, serta transportasi sampel (Siregar dkk, 2018). Kesalahan pada tahap pra-analitik ini sering kali terjadi akibat kesalahan dari faktor manusia, sehingga tidak dapat diatasi oleh teknologi instrumen secanggih apa pun di tahap analitik.

Oleh karena itu diberlakukan standardisasi melalui prosedur operasional standar (SOP) dalam sistem jaminan mutu, terutama pada tahap pra-analitik untuk meminimalkan variabilitas hasil yang tidak berkaitan dengan kondisi pasien (Rifai dkk., 2018)

Kegiatan jaminan mutu terdiri dari beberapa komponen, meliputi pemantapan mutu internal dan pemantapan mutu eksternal (Kemenkes, 2013), dengan menggunakan metode seperti *TeA dan Sig Sigma* untuk menilai capaian mutu (Westgard, 2016).

2. Pemantapan Mutu Internal

Pemantapan Mutu Internal (PMI) adalah kegiatan pencegahan dan pengawasan yang dilaksanakan oleh masing-masing laboratorium secara terus-menerus agar tidak terjadi atau mengurangi kejadian penyimpangan sehingga diperoleh hasil pemeriksaan yang tepat. (Sukorini dkk., 2010). Kegiatan PMI meliputi seluruh tahapan pemeriksaan mulai dari tahap pra-analitik, analitik, hingga pasca-analitik. Namun, dalam pelaksanaannya lebih ditekankan pada tahap analitik untuk memantau presisi dan akurasi kinerja metode pemeriksaan yang digunakan setiap hari (Sukorini dkk., 2010).

Tujuan utama dari pelaksanaan PMI adalah untuk memantapkan dan menyempurnakan metode pemeriksaan dengan mempertimbangkan aspek klinis dan ekonomis, serta untuk mendeteksi kesalahan sedini mungkin (Kemenkes RI, 2013). Dengan melakukan pemantauan harian, laboratorium dapat segera

mengidentifikasi adanya kesalahan acak (*random error*) maupun kesalahan sistematis (*systematic error*) yang mungkin terjadi selama proses pemeriksaan berlangsung. Deteksi yang lebih dini memungkinkan petugas laboratorium untuk segera melakukan tindakan perbaikan sebelum hasil pemeriksaan diserahkan kepada pasien, sehingga jaminan kualitas hasil yang diterima pasien tetap terjaga (Kemenkes RI, 2013).

3. Bahan Kontrol

a. Definisi

Bahan kontrol adalah bahan yang digunakan untuk memantau ketepatan dan ketelitian suatu pemeriksaan laboratorium, serta untuk mengawasi kualitas reagensia dan kinerja alat (Kemenkes RI, 2013). Di laboratorium, bahan kontrol digunakan sebagai tolok ukur untuk mendeteksi adanya kesalahan analitik, baik kesalahan acak (*random error*) maupun kesalahan sistematis (*systematic error*). Bahan kontrol harus diperlakukan sama seperti sampel pasien, mulai dari tahap persiapan hingga analisis, untuk memastikan bahwa hasil yang diperoleh mencerminkan kondisi pemeriksaan yang sebenarnya (Sukorini dkk, 2010).

b. Kriteria

Menurut Siregar (2018), kriteria bahan kontrol yang ideal meliputi:

- 1) Harus menyerupai sampel pasien sebenarnya.
- 2) Konsentrasi analit harus seragam di seluruh volume.
- 3) Mampu mempertahankan nilai target untuk periode penggunaan yang lama.

c. Jenis

Berdasarkan cara pembuatannya, bahan kontrol kualitas dapat diklasifikasikan menjadi:

1) Bahan kontrol komersial

Bahan kontrol komersial merupakan bahan kontrol yang diproduksi secara industri dan dipasarkan secara luas. Kelebihan dari bahan kontrol jenis ini adalah lebih tahan lama, dapat digunakan untuk semua jenis tes, dan tidak perlu diproduksi secara mandiri (Siregar dkk., 2018). Namun, bahan kontrol juga memiliki beberapa kekurangan, seperti variasi antar botol dan kesalahan dalam proses rekonstitusi. Selain itu, serum juga sering kali berasal dari hewan, sehingga tidak identik dengan serum manusia. Karena tidak memiliki nilai rujukan yang standar, bahan ini tidak cocok untuk kontrol akurasi. (Sukorini dkk., 2010).

2) Bahan Kontrol buatan sendiri (*pooled serum*)

Bahan kontrol *pooled serum* merupakan bahan kontrol yang dibuat dan diproses sendiri oleh laboratorium dari sampel pasien sisa. Kelebihan dari *pooled serum* jenis ini adalah memiliki kemiripan dengan sampel pasien dan sangat ekonomis. Namun *pooled serum* juga memiliki kekurangan, yaitu stabilitas yang rendah, masa simpan singkat, serta membutuhkan pembuatan *batch* baru secara rutin (Ricos, 2015).

4. Proses liofilisasi

Proses liofilisasi atau proses pengeringan beku (*freeze-drying*) adalah metode pengeringan yang dilakukan dengan cara membekukan bahan terlebih dahulu, kemudian mengurangi tekanan di sekitarnya, sehingga air yang membeku dalam bahan tersebut menyublim secara langsung tanpa melewati fase cair. Prinsip utama dari metode ini didasarkan pada diagram fase air, di mana sublimasi terjadi ketika suhu dan tekanan lingkungan berada di bawah titik triple air, yaitu sekitar $0,01^{\circ}\text{C}$ dan $0,006\text{ atm}$ (Nireesha dkk., 2013). Metode liofilisasi dianggap sebagai standar emas dalam pengawetan bahan-bahan biologis yang sensitif terhadap panas, seperti protein, enzim, plasma darah, dan vaksin karena dapat meminimalkan kerusakan termal dan kimiawi (Bhatta dkk., 2020).

Proses liofilisasi secara umum terdiri dari tiga tahapan utama, yaitu pembekuan (*freezing*), pengeringan primer (*primary*

drying), dan pengeringan sekunder (*secondary drying*). Tahap pembekuan merupakan tahap persiapan yang menentukan keberhasilan proses liofilisasi keseluruhan, di mana bahan harus dibekukan hingga semua air di dalamnya berubah menjadi kristal es. Ukuran dan persebaran kristal es dipengaruhi oleh laju pendinginan, sehingga akan memengaruhi laju sublimasi pada tahap berikutnya (Kasper dan Friess, 2011). Pengeringan primer dilakukan di bawah tekanan vakum untuk memicu sublimasi es, kemudian dilakukan pengeringan sekunder yang bertujuan untuk menghilangkan molekul air yang terikat secara adsorpsi hingga mencapai kadar air yang diinginkan (Schneid dkk, 2011).

5. Serum Liofilisat

Serum liofilisat merupakan salah satu bentuk bahan kontrol yang umum digunakan dalam pemantapan mutu laboratorium. Serum liofilisat adalah serum yang telah melalui proses liofilisasi atau pengeringan beku, yaitu proses penghilangan kadar air dari bahan yang telah dibekukan melalui sublimasi di bawah tekanan vakum (Sari, 2023). Kelebihan dari serum liofilisat adalah memiliki stabilitas yang tinggi dan masa simpan yang panjang selama belum direkonstitusi, sehingga memudahkan dalam penyimpanan dan distribusi (Sukorini dkk., 2010).

Meskipun memiliki stabilitas yang baik, penggunaan serum liofilisat mengharuskan ketelitian tinggi pada saat proses rekonstitusi

atau pelarutan kembali (Tuna dan Widyaningsih, 2016). Petugas laboratorium harus menggunakan pipet volumetrik yang terkalibrasi dan jenis pelarut yang tepat sesuai petunjuk pabrik untuk menjamin homogenitas. Kesalahan dalam volume pelarut atau teknik pencampuran saat rekonstitusi dapat menjadi sumber kesalahan pra-analitik yang menyebabkan konsentrasi analit dalam bahan kontrol tidak sesuai dengan nilai rujukan (Kemenkes RI, 2013).

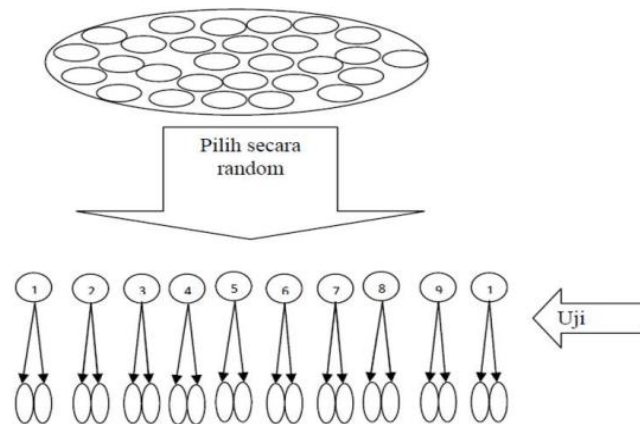
6. Uji Homogenitas

Homogenitas adalah kondisi keseragaman struktur atau komposisi suatu bahan berkenaan dengan satu atau lebih sifat tertentu. Suatu bahan dikatakan homogen apabila perbedaan antar bagian berada dalam batas yang telah ditentukan (ISO Guide 30:2015). Homogenitas adalah salah satu persyaratan wajib untuk bahan kontrol kualitas. Apabila bahan kontrol tidak homogen, variasi pada hasil pemeriksaan yang diamati tidak sepenuhnya berkaitan dengan proses pemeriksaan, sehingga menurunkan validitas prosedur kontrol kualitas. (Westgard, 2018).

Menurut ISO 13528 Tahun 2015, penetapan batas uji homogenitas suatu bahan dilakukan sebagai berikut:

- a. Mengambil sampel secara acak sebanyak ≥ 10 sampel.
- b. Melakukan pemeriksaan secara duplo pada setiap sampel di laboratorium yang sama, oleh analis yang sama, pada waktu (hari) yang sama, dan menggunakan peralatan yang sama.

- c. Melakukan perhitungan pada data yang diperoleh secara statistik.



Gambar 1. Skema Uji Homogenitas

Perhitungan data hasil analisis dilakukan secara statistik berdasarkan ISO 13528 Tahun 2015, yaitu sebagai berikut:

- a. Menghitung rata-rata hasil siplo dan duplo (X_t) dengan rumus:

$$X_t = \frac{(X_{t1} + X_{t2})}{2}, \text{ dimana } X_{t1} \text{ adalah hasil uji ke-1 dan } X_{t2} \text{ hasil uji ke-2.}$$

- b. Menghitung selisih absolut (W_t) yang didapatkan dari hasil siplo dan duplo dengan rumus: $W_t = |X_{t1} - X_{t2}|$.

- c. Menghitung rata-rata umum (X_r) dengan rumus: $X_r = \sum \frac{X_t}{g}$,
dimana g adalah jumlah subsampel yang digunakan.

- d. Menghitung standar deviasi rata-rata pada subsampel (S_x) dengan rumus: $S_x = \sqrt{\sum \frac{(X_t - X_r)^2}{(g-1)}}$

- e. Menghitung standar deviasi *within samples* (S_w) dengan rumus:

$$S_w = \sqrt{\sum \frac{W_t^2}{2g}}$$

f. Menghitung standar deviasi *between samples* (S_s) dengan rumus:

$$S_s = \sqrt{Sx^2 - \frac{Sw^2}{2}}$$

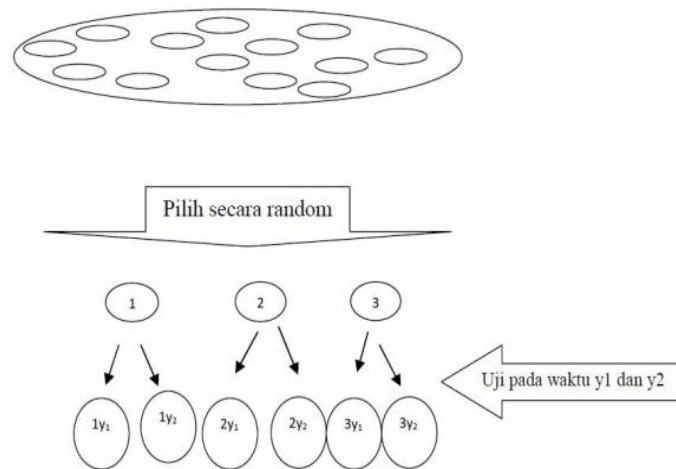
g. Sampel dapat dinyatakan homogen apabila: $ss \leq 0,3 \sigma$. Dimana σ merupakan standar deviasi untuk penilaian profesiensi (SDPA), nilai σ dapat ditetapkan menggunakan CV Horwitz.

h. CV Horwitz ditetapkan dengan menggunakan rumus: $2^{(1-0,5 \log C)}$, dimana C merupakan konsentrasi yang akan diukur.

7. Uji Stabilitas

Serum kontrol harus bersifat stabil, sehingga komponen dalam serum kontrol tidak mengalami perubahan pada komposisinya selama masa penyimpanan (Kemenkes, 2013). Uji stabilitas dilakukan setelah penyimpanan selama beberapa waktu dengan menggunakan metode ISO 13528 Tahun 2015, yaitu sebagai berikut:

- a. Uji stabilitas dilakukan di laboratorium dan menggunakan metode yang sama seperti uji homogenitas.
- b. Setiap sampel dilakukan pemeriksaan secara duplo.
- c. Melakukan perhitungan pada data yang diperoleh secara statistika.



Gambar 2. Skema Uji Stabilitas

Berdasarkan ISO 13528 Tahun 2015, perhitungan uji stabilitas dilakukan sebagai berikut:

- a. Membandingkan jumlah rata-rata hasil dari pemeriksaan yang diperoleh pada uji homogenitas (X_r) dengan rata-rata hasil yang diperoleh dalam pemeriksaan stabilitas (Y_r).
- b. Melakukan perhitungan selisih antara uji homogenitas (X_r) dengan uji stabilitas (Y_r).
- c. Sampel dapat dinyatakan stabil apabila: $|X_r - Y_r| \leq 0,3, \sigma$.

8. Natrium Azida

Natrium azida adalah senyawa kimia anorganik dengan rumus NaN_3 . Natrium azida (NaN_3) yang berbentuk padatan kristal putih, tidak berbau, dan sangat larut dalam air. Senyawa ini merupakan garam dari asam hidrazoat (HN_3) yang dikenal memiliki sifat toksisitas tinggi dan reaktivitas yang signifikan (Chang, 2010).

Dalam laboratorium medis, natrium azida (NaN_3) umumnya digunakan sebagai bahan pengawet untuk mencegah pertumbuhan mikroorganisme dalam reagen, larutan standar, dan bahan kontrol berbasis serum atau urin (Bishop dkk, 2022). Natrium azida bekerja dengan menghambat aktivitas enzim sitokrom oksidase pada rantai transpor elektron bakteri. Penghambatan ini memutus produksi energi pada mikroorganisme, sehingga mencegah bakteri berkembang biak (Murray dkk., 2014).

Penambahan natrium azida dalam bahan kontrol dilakukan untuk mencegah kontaminasi bakteri yang dapat menyebabkan perubahan fisik dan kimiawi pada serum, seperti perubahan pH atau kekeruhan, yang pada akhirnya akan merusak integritas bahan kontrol tersebut. Dengan menjaga sterilitas bahan melalui penambahan pengawet ini, masa simpan bahan kontrol dapat diperpanjang, sehingga validitas hasil pengukuran kontrol kualitas harian dapat lebih terjamin (Sukorini dkk, 2010).

9. Ureum

a. Definisi

Ureum adalah produk akhir utama dari metabolisme nitrogen yang berasal dari pemecahan protein dan asam amino dalam tubuh. Ureum dibentuk di hati dari amonia yang dihasilkan selama katabolisme asam amino. Amonia kemudian diubah menjadi ureum melalui siklus urea agar dapat

dikeluarkan dari tubuh. Setelah terbentuk, ureum beredar dalam aliran darah dan disaring oleh glomerulus ginjal untuk diekskresikan melalui urin (Verdiansah, 2016). Kadar ureum dalam darah dipengaruhi oleh berbagai faktor, seperti asupan protein dalam makanan, laju katabolisme protein, dan status hidrasi seseorang, sehingga konsentrasinya bersifat lebih dinamis dibandingkan dengan penanda ginjal lainnya seperti kreatinin (Bishop dkk, 2013).

b. Fungsi pemeriksaan ureum

Fungsi utama dari pemeriksaan kadar ureum adalah untuk mengevaluasi fungsi ginjal, status hidrasi, dan menilai keseimbangan nitrogen pasien. Peningkatan kadar ureum dalam darah (azotemia) dapat digunakan sebagai indikator adanya gangguan fungsi ginjal, baik yang bersifat *pre-renal*, *renal*, maupun *post-renal* (Verdiansah, 2016). Pemeriksaan ureum juga sering dilakukan bersamaan dengan pemeriksaan kreatinin untuk membedakan jenis gangguan ginjal tersebut melalui perhitungan rasio ureum/kreatinin (Sacher dan McPherson, 2012).

c. Metode pemeriksaan ureum

Terdapat beberapa metode beserta prinsip yang digunakan dalam pemeriksaan kadar ureum pada laboratorium medis, diantaranya yaitu:

1) Metode Enzimatis Urease-GLDH (Glutamat Dehidrogenase)

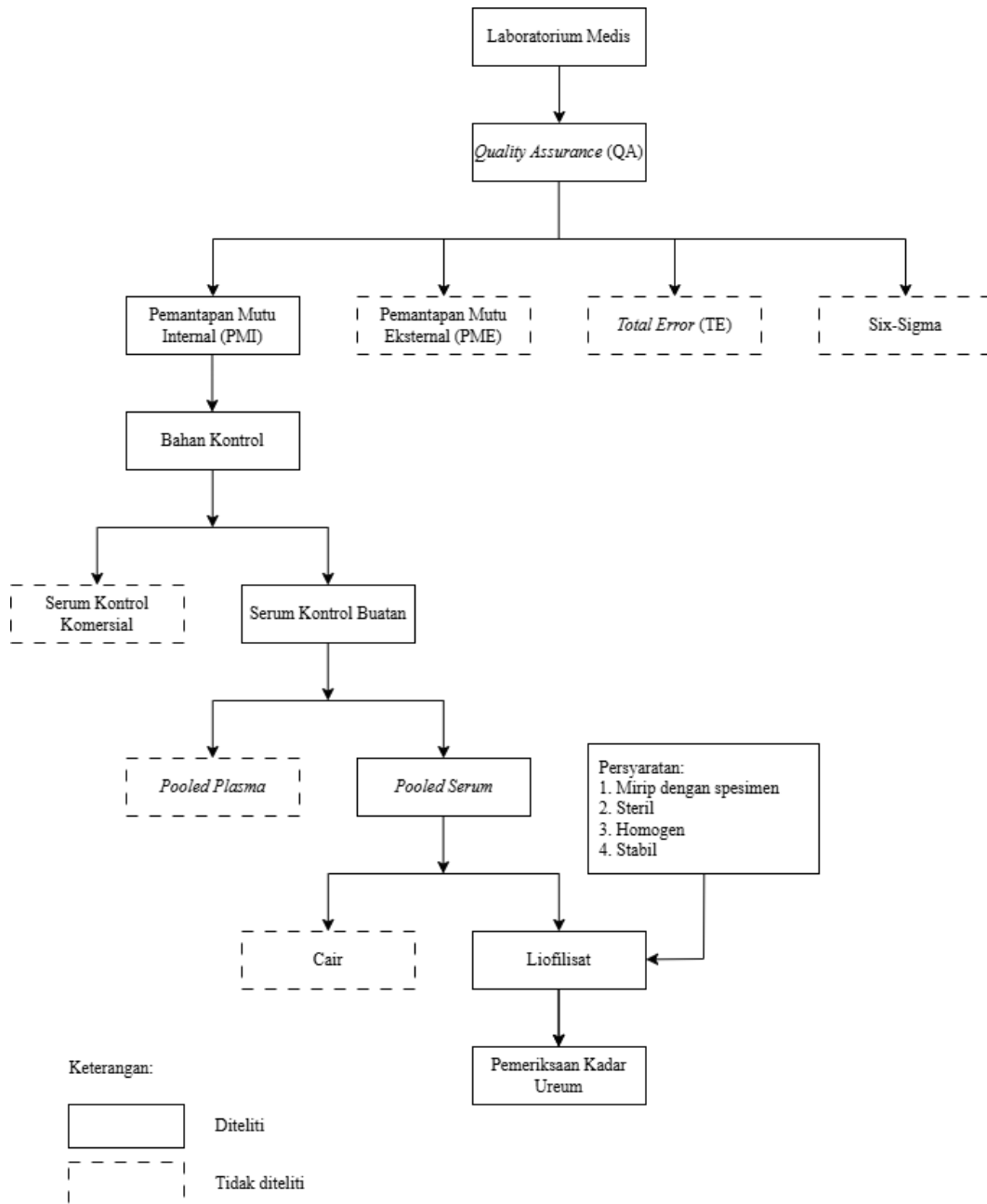
Prinsip pemeriksaan ini didasarkan pada reaksi hidrolisis ureum oleh enzim urease menjadi amonia (NH_3) dan karbon dioksida (CO_2). Selanjutnya, ion amonium yang terbentuk bereaksi dengan α -ketoglutarat dan *Nicotinamide Adenine Dinucleotide* tereduksi (NADH) dengan bantuan enzim Glutamat Dehidrogenase (GLDH), sehingga dihasilkan L-glutamat dan NAD^+ . Penurunan absorbansi diukur secara fotometrik pada panjang gelombang 340 nm, dimana laju penurunan absorbansi berbanding lurus dengan konsentrasi ureum dalam sampel. Metode ini merupakan metode standar yang direkomendasikan oleh IFCC (*International Federation of Clinical Chemistry*) karena memiliki spesifisitas yang tinggi dan minim gangguan (Bishop dkk., 2013).

2) Metode Berthelot (Enzimatis Kolorimetri)

Prinsip metode ini diawali dengan hidrolisis ureum dalam sampel oleh enzim urease menjadi ion amonium dan karbon dioksida. Ion amonium yang terbentuk kemudian bereaksi dengan fenol dan hipoklorit dalam suasana basa. Natrium nitroprusida berfungsi sebagai katalisator untuk membentuk senyawa kompleks berwarna biru-hijau yang disebut indofenol (*Indophenol*

Blue). Intensitas warna yang terbentuk diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang sekitar 546 nm hingga 600 nm. Semakin pekat warna biru yang terbentuk, semakin tinggi kadar ureum dalam sampel tersebut. Meskipun metode ini cukup akurat, penggunaannya mulai berkurang dibandingkan dengan metode Urease-GLDH karena waktu reaksi yang lebih lama dan reagen yang kurang stabil (Bishop dkk., 2013).

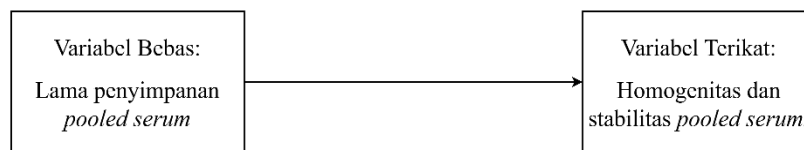
B. Kerangka Teori



Gambar 3. Kerangka Teori

C. Pertanyaan Penelitian

Bagaimana homogenitas dan stabilitas *pooled serum* yang diproses kering beku disimpan selama 3 bulan?

D. Hubungan Antar Variabel

Gambar 4. Hubungan Antar Variabel