

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kreatinin

Kreatinin merupakan produk penguraian keratin yang disintesis di hati dan terdapat dalam hampir semua otot rangka yang berikatan dengan dalam bentuk kreatin fosfat (*creatin phosphate, CP*), suatu senyawa penyimpan energi. Jumlah kreatinin yang dikeluarkan seseorang setiap hari bergantung pada massa otot total daripada aktivitas otot atau tingkat metabolisme protein, walaupun keduanya menimbulkan efek. Pembentukan kreatinin harian umumnya tetap, kecuali jika terjadi cedera fisik berat atau penyakit degeneratif yang menyebabkan kerusakan masif pada otot. Nilai rujukan untuk pria 0,6–1,3 mg/dL dan wanita 0,5–1,0 mg/dL (Prayuda, 2016).

Peningkatan kadar kreatinin dalam darah disebabkan penyakit gagal ginjal, perubahan massa otot, nutrisi, aktifitas fisik, proses inflamasi, dan obat-obatan. Obat-obatan yang meningkatkan kadar kreatinin antara lain amfoterisin B, sefalosporin, aminoglikosid (gentamisin), kanamisin, metisilin, simetidin, asam askorbat, obat kemoterapi sisplatin, trimetoprim, barbiturat, litium karbonat, mitramisin, metildopa, triamteren. Penurunan kadar kreatinin dalam darah dapat terjadi pada keadaan pengurangan massa jaringan otot dan pada kehamilan (Verdiansah, 2016).

2.2 Pemeriksaan Kadar Kreatinin

2.2.1 Metode dan Prinsip Pemeriksaan Kreatinin

Metode dan prinsip pemeriksaan kadar kreatinin tergantung instrumen atau alat yang digunakan. Ada beberapa metode pemeriksaan kadar kreatinin antara lain :

1. Metode Modifikasi Reaksi Kinetik Jaffie

Prinsip : Pikrat bereaksi dengan kreatinin dalam suasana basa membentuk senyawa *chromophore* merah. Senyawa *chromophore* diukur dengan teknik bikromatik pada panjang gelombang 510 nm. *Absorbance* dari senyawa *chromophore* setara dengan konsentrasi kreatinin dalam sampel. Bilirubin dioksidasi oleh kalium ferrisianida untuk mencegah adanya gangguan pemeriksaan kadar kreatinin (Dade Behring, 2003).

2. Metode Kolorimetri dan Jaffie tanpa deproteinisasi menggunakan spektrofotometer, fotometer, atau analyser kimiawi. Prinsip pemeriksaan : *absorbance* senyawa *chromophore* berbanding langsung dengan konsentrasi kreatinin dalam sampel (Mutiara, 2014).

3. Metode Jaffie (*Creatinin Picrat*)

Prinsip : Suasana basa, kreatinin bereaksi dengan pikrat untuk membentuk *janousky complex*. Tingkat kenaikan *absorbance* pada panjang gelombang 510 nm terhadap *complex-creatinin-picrat* berbanding lurus dengan kreatinin sampel (Manual kit Horiba).

2.2.2 Alat Kimia Analyser

1. Komponen Utama Alat Kimia Analyser

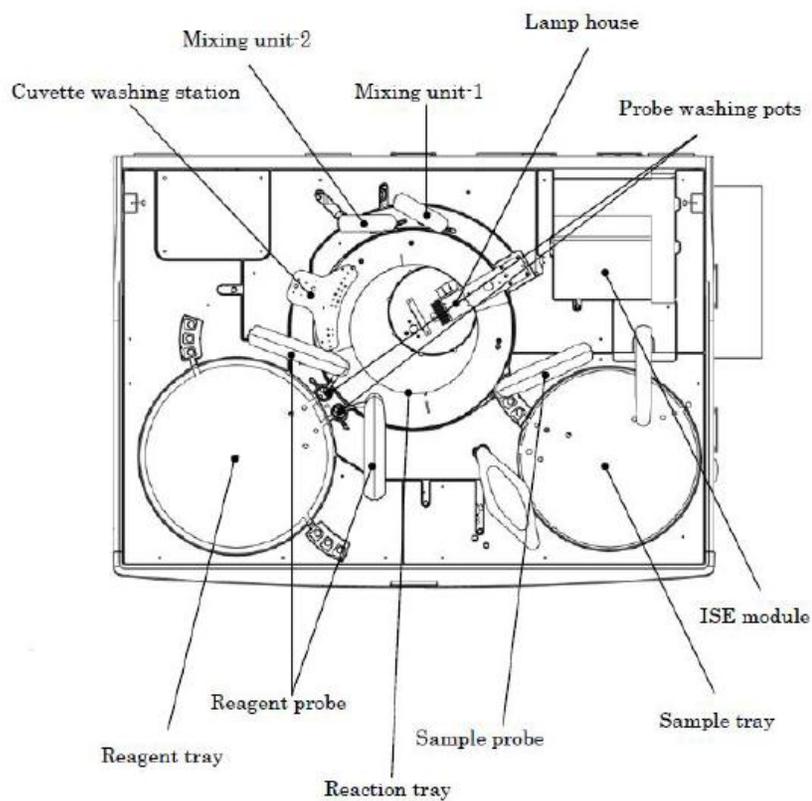
Komponen utama alat kimia analyser meliputi *hardware* (alat kimia analyser) dan *software* (komputer atau PC). Hardware meliputi *sampel tray*, *reagent tray*, *reaction tray*, *probe sampel*, *probe reagent*, *probe wash*, *photometer lamp* dan *ion sekektive electrode (ISE) module*. Sedangkan PC berisi *software* aplikasi program untuk *operating analyser* (Medsys Inc.2016).

Sampel tray merupakan tempat untuk meletakkan sampel. Probe sampel jarum untuk mengaspirasi sampel. *Reagen tray* adalah tempat meletakkan sampel. *Reagen probe* adalah jarum untuk mengaspirasi reagen yang terdiri dari 2 probe yaitu probe R1 dan probe R2. *Reaction tray* adalah tempat cuvet yang digunakan untuk mereaksikan pemeriksaan. *Mixing unit* adalah bagian yang berfungsi untuk mencampurkan. *Lamp photometer*, sebagai sumber cahaya, *probe wasing pots* tempat untuk melakukan pencucian jarum aspirasi. *Cuvette washing station* adalah tempat cuvet dilakukan pencucian.

Prinsip Kerja Alat kimia analyser : pengambilan reagen dilakukan oleh *Reagent Probe* dan pengambilan sampel oleh *Sampel Probe*. Pencampuran reaksi dilakukan oleh *mixing unit* di dalam *tray reaction*. Pembacaan absorbansi secara spektrofotometer. Hasil pembacaan abosrban selanjutnya dikonversi ke hasil sesuai satuan hasil (Medys Inc.2016).

Berikut spesifikasi alat Tokyo Boeki kimia analyser

<i>Througput</i>	: Jumlah test per jam 480 Test
Minimal volume pembacaan cuvette	: 120 mikron
Jenis Sampel yang digunakan	: Serum, Plasma, <i>Whole blood</i>
<i>Reagent Cooling</i>	: <i>With Cooling unit on Board</i>
Aquabidest yang digunakan	: 5 Liter/Jam
<i>Tipe Mixing system</i>	: <i>Stirrer Mixing unit (Pengaduk)</i>
<i>Open sytem</i>	: <i>Open system reagent</i>
Tipe pemeriksaan	: Kimia, Koagulasi, Imunologi
Tipe reaksi	: <i>End Point, Rate</i> (Medsys Inc, 2016)



Gambar 1. Skema Komponen Utama Alat Kimia Analyser
(Medsys Inc, 2016)

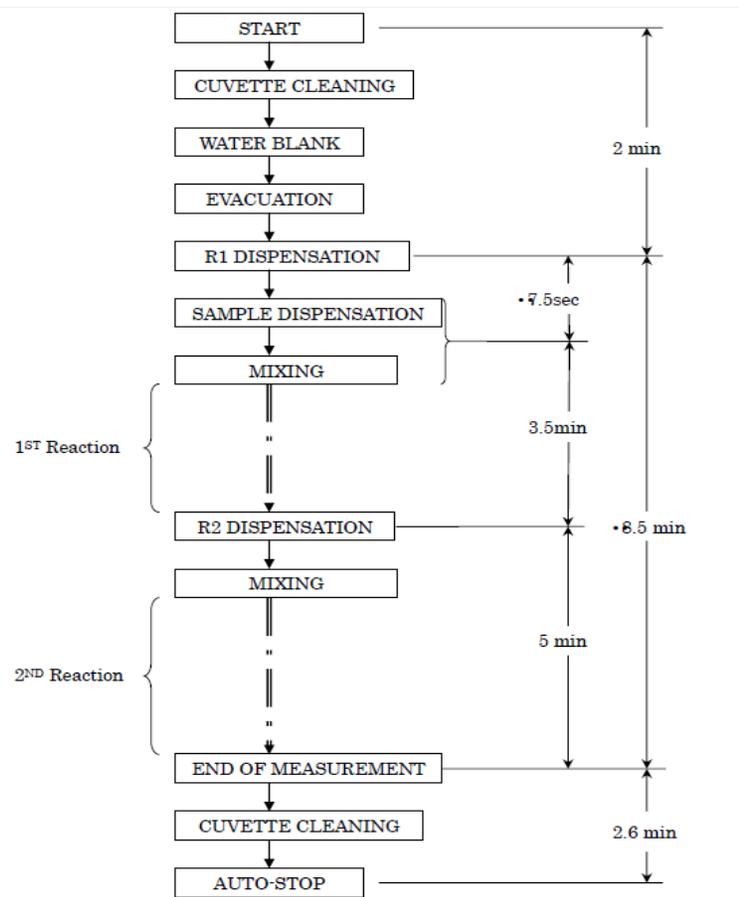
2. *Tray Reagen*

Gambar 2 di bawah ini adalah tempat meletakkan reagen (*reagent tray*) yang dilengkapi dengan pendingin. Suhu di dalam *reagent tray* adalah 8-12°C. Reagen sisa setelah digunakan pemeriksaan dapat disimpan dalam *reagent tray*, tidak perlu diambil disimpan di dalam *refrigerator* karena sudah ada pendingin pada *reagent tray* (Medys Inc.2016).



Gambar 2. *Reagent Tray* Alat Kimia Analyser (Medsys Inc, 2016)

2.3. Alur Proses Pemeriksaan



Gambar 3. Alur Proses Pemeriksaan Alat Kimia Analyser (Medsys Inc, 2016)

Keterangan :

Alat akan secara otomatis melakukan pemeriksaan setelah dilakukan start, cuvet dan blanko pemeriksaan dipersiapkan, secara otomatis alat akan memipet reagen 1, kemudian memipet sampel dan dihomogenisasikan. Selanjutnya pipetasi reagen R2, dihomogenisasi dan diinkubasi. Hasil dari reaksi dibaca secara spektrofotometri. Hasil dikonversikan dalam bentuk digital. Setelah selesai alat akan melakukan pembersihan secara otomatis. (Medsys Inc, 2016).

Prinsip pemeriksaan rutin :

- a. Sebelum dilakukan pemeriksaan alat dihidupkan selanjutnya dilakukan *prime* untuk pengisian selang- selang yang digunakan untuk *pipetting* (Transpot fluida : sampel, reagen).
- b. Selanjutnya dilakukan *running* kontrol : mengetahui kondisi reagen terakhir di alat apakah reagen masih dalam kondisi stabil
- c. Apabila kontrol tidak masuk dapat dilakukan kalibrasi : menyesuaikan kondisi reagen dengan alat agar kontrol masuk dan selanjutnya dapat dilakukan *running* pasien
- d. Apabila kontrol sudah masuk dapat dilakukan *running* pasien.
- e. Apabila alat sudah melakukan pemeriksaan, untuk mengakhiri *running* sampel, sebelum alat akan di *shuttingdown*, dalam jangka waktu lebih dari 10 jam dilakukan *cell washing* (Pencucian cuvette reaksi) (Medsys Inc, 2016)

2.3 Bahan Pemeriksaan

The National Kidney Disease Education Program merekomendasikan penggunaan serum kreatinin untuk mengukur kemampuan filtrasi glomerulus, digunakan untuk memantau perjalanan penyakit ginjal (Miller, 2005). Serum darah adalah plasma tanpa fibrinogen, sel dan faktor koagulasi lainnya. Fibrinogen menempati 4% alokasi protein dalam plasma dan merupakan faktor penting dalam proses pembekuan darah. Serum merupakan cairan berwarna kuning muda yang didapat dengan cara mensentrifugasi sejumlah darah yang dibiarkan membeku tanpa antikoagulan (Sadikin, 2013).

Pemakaian serum pada pemeriksaan kreatinin untuk mencegah pencemaran spesimen oleh antikoagulan yang mungkin dapat mempengaruhi. Pemakaian serum harus selalu hati-hati agar tidak terjadi hemolisis karena dapat mengganggu metode pemeriksaan sehingga memberikan hasil tidak semestinya (Sacher, 2009).

2.4 Reagen Kreatinin

Reagen adalah zat kimia yang digunakan dalam suatu reaksi untuk mendeteksi, mengukur, memeriksa dan menghasilkan zat lain (Depkes, 2008). Reagen kreatinin terdiri dari Reagen 1 (R1), dan Reagen 2 (R2). Komposisi dan konsentrasi reagen kreatinin meliputi :

R1 : <i>Good buffer</i>	pH 8,1	25 mmol/L
<i>Creatinase</i>		≥ 30 kU/L
<i>Sacosine oxidase</i>		≥ 10 kU/L
<i>Ascorbate oxidase</i>		≥ 2.5 kU/L
<i>Catalase</i>		≥ 350 kU/L
<i>HTIB (3-Hydroxy 2, 4,6-triido benzoid acid)</i>		≥ 2,3 mmol/L
R2 : <i>Good buffer</i>	pH 8,1	25 mmol/L
<i>Creatininase</i>		≥ 150 kU/L
<i>Peroxidase</i>		≥ 50 kU/L
<i>4-Aminoantipirin (4-AA)</i>		≥ 2 mmol/L
Kalium heksasianoferat		≥ 0,18 mmol/L (Kreatinin

PAP FS, 2014)

2.5 Stabilitas Reagen Kreatinin

Stabilitas reagen adalah kemampuan suatu produk reagen untuk mempertahankan sifat dan karakteristiknya agar sama dengan yang dimilikinya pada saat dibuat (identitas, kekuatan, kualitas, kemurnian) dalam batasan yang ditetapkan sepanjang periode penyimpanan dan penggunaan (*shelf-life*). *Shelf-life* adalah periode penggunaan dan penyimpanan yaitu waktu dimana suatu produk tetap memenuhi spesifikasinya jika disimpan dalam wadah yang sesuai dengan kondisi penjualan di pasar. Tanggal kadaluwarsa adalah waktu yang tertera dalam kemasan yang menunjukkan batas waktu reagen tersebut dapat dipergunakan karena diharapkan masih memenuhi spesifikasi yang ditetapkan (Depkes RI.2009; Insert Kit.2017).

Data stabilitas diperoleh dari hasil evaluasi akurasi dan presisi *Lab Quality Control*. Stabilitas kalibrasi : reagen diletakkan pada analyser selama periode waktu terukur. Kalibrasi dilakukan saat pertama kali membuka botol reagen, dan batas akhir waktu bila hasil kontrol keluar dari rentang nilai yang ditetapkan (Proline, 2018).

Reagen harus ditangani secara benar dengan mempertimbangkan perputaran pemakaian dengan menggunakan kaidah FIFO (*first in-first out*), yaitu bahwa barang yang lebih dahulu masuk persediaan harus digunakan lebih dahulu. Masa kadaluarsa pendek dipakai lebih dahulu (FEFO –*first expired first out*). Hal ini untuk menjamin reagen tidak rusak akibat penyimpanan lama. Reagen kreatinin stabil sampai dengan batas kadaluwarsa jika disimpan pada suhu 2-8°C, terlindung dari cahaya dan terhindar dari kontaminasi, dan tidak boleh dibiarkan beku (Proline, 2016).

2.6 Pemantapan Mutu Internal (*Internal Quality Control*)

Pemantapan mutu internal (PMI) adalah kegiatan pencegahan dan pengawasan yang dilaksanakan oleh laboratorium secara terus menerus agar tidak terjadi penyimpangan sehingga diperoleh hasil pemeriksaan yang tepat (Depkes, 2008). Tujuan PMI dalam laboratorium adalah untuk menjamin keandalan hasil pemeriksaan laboratorium. Keandalan dari suatu tes atau metode pemeriksaan adalah ukuran untuk menilai seberapa jauh tes tersebut dapat digunakan untuk kepentingan klinik, baik sebagai tes penyaring, tes pemantau maupun untuk menentukan prognosis. Keandalan tes meliputi presisi, akurasi, sensitivitas, dan spesifitas analitik. Keandalan hasil pemeriksaan kadar kreatinin sangat tergantung dari ketepatan perlakuan pada tahap pra analitik, tahap analitik dan pasca analitik (Danis, 2010).

Tahap pra analitik antara lain persiapan pasien, pengambilan sampel, dan penanganan sampel. Sebelum pengambilan sampel sebaiknya pasien menghindari aktifitas fisik yang berlebihan, mencegah asupan makanan yang mengandung protein tinggi dan lemak yang mengakibatkan sampel lipemik, karena mengganggu interpretasi hasil pemeriksaan. Pengambilan sampel sering terjadi kesalahan yang menyebabkan sampel darah hemolisis sehingga memberikan hasil tinggi palsu kadar kreatinin. Preparasi dalam pemisahan serum dari bekuan darah harus dilakukan dengan cara yang benar, agar diperoleh sampel bermutu baik. Potensi kesalahan yang sering muncul adalah kesalahan kecepatan (rpm) saat sentrifugasi, pemisahan serum sebelum darah benar-benar membeku yang mengakibatkan terjadinya hemolisis, dan serum yang menjendal mengakibatkan kadar kreatinin tinggi (Depkes, 2008).

Tahap analitik relatif lebih mudah dikendalikan oleh petugas laboratorium karena terjadi di ruang pemeriksaan. Tahap analitik dipengaruhi oleh alat, reagen, dan analisis. Proses pemeriksaan memerlukan adanya pengawasan instrumen yang digunakan dapat berfungsi dengan baik. Reagen yang dituang dalam *tray reagen* perlu diperhatikan stabilitasnya. Tahap paska analitik adalah tahap akhir pemeriksaan yang dikeluarkan untuk meyakinkan bahwa hasil pemeriksaan yang dikeluarkan benar-benar valid atau benar, diantaranya pencatatan hasil pemeriksaan, perhitungan dan pelaporan (Danis, 2010).

Prosedur *multirule* yang dikembangkan *Westgard* menggunakan sejumlah ketentuan untuk menafsirkan data kontrol. Ketentuan kontrol (*Westgard Multirule Rule Systems*) adalah sebagai berikut :

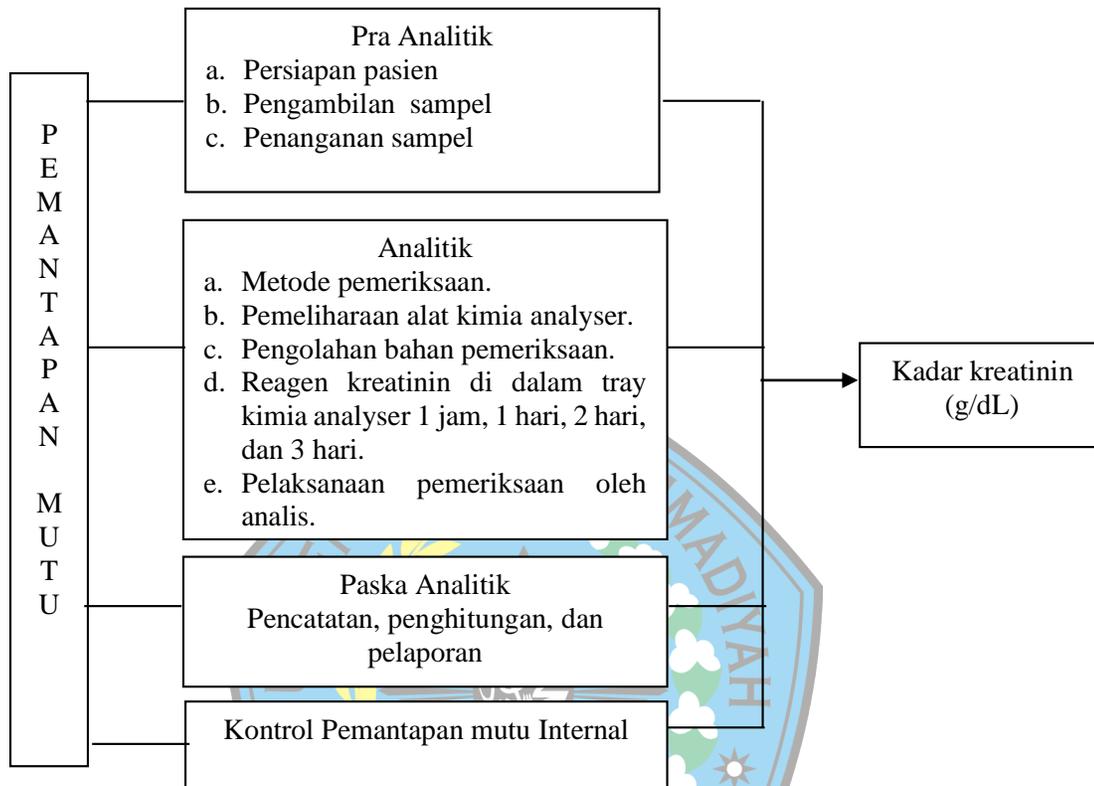
- a. 1 – 2 S Satu kontrol di luar nilai mean ± 2 SD (tidak melampaui ± 3 SD), merupakan “ketentuan peringatan.”
- b. 1 – 3 S Satu kontrol di luar nilai mean ± 3 SD, merupakan “ketentuan penolakan” yang mencerminkan adanya kesalahan acak.
- c. 2 – 2 S Dua kontrol berturut-turut di luar nilai mean ± 2 SD, atau dua kontrol (berbeda level) berada di luar nilai mean ± 2 SD merupakan “ketentuan penolakan” yang mencerminkan adanya kesalahan sistematis.
- d. R – 4 S Satu kontrol di luar nilai mean $+ 2$ SD dan satu kontrol lain diluar nilai mean $- 2$ SD atau dua kontrol berturut-turut $+ 2$ SD kemudian $- 2$ SD, merupakan “ketentuan penolakan” yang mencerminkan kesalahan acak.

- e. $4 - 1 S$ Empat kontrol berturut di luar nilai mean + 1 SD atau mean - 1 SD, merupakan “ketentuan penolakan” yang mencerminkan kesalahan acak dan sistematis.
- f. $10 (x)$ Sepuluh kontrol berturut pada 1 sisi di atas atau di bawah nilai mean, merupakan “ketentuan penolakan” yang mencerminkan kesalahan sistematis.

Apabila ternyata ada nilai di luar batas yang diperbolehkan, harus dicari sebabnya meski sukar untuk ditentukan. Secara umum dapat dilakukan dengan tindakan membaca lagi cara pemeriksaan dan memeriksa alat, reagen, dan bahan kontrol yang digunakan. Apabila semua baik, tes diulang menggunakan reagen baru (Danis, 2010).

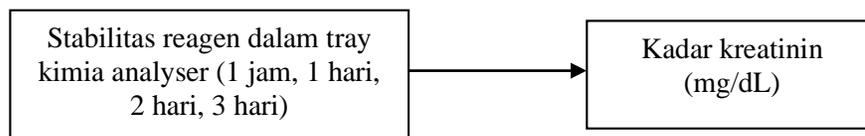


2.7 Kerangka Teori



Gambar 4. Skema Kerangka Teori

2.8 Kerangka Konsep



Gambar 5. Skema Kerangka Konsep

2.9 Hipotesis

Ada pengaruh stabilitas reagen di dalam tray kimia analyser terhadap kadar kreatinin.