

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Definisi Asam Urat

Asam urat merupakan produk akhir dari katabolisme adenin dan guanin yang berasal dari pemecahan nukleotida purin. Asam urat terdiri dari karbon, nitrogen, oksigen dan hidrogen dengan rumus molekul $C_5H_4N_4O_3$. Asam urat membentuk ion urat lebih banyak pada pH alkali kuat daripada pH asam. Pemecahan nukleotida purin terjadi di semua sel, tetapi asam urat hanya dihasilkan oleh jaringan yang mengandung *xanthine oxidase* terutama di hepar dan usus kecil. Rerata sintesis asam urat endogen setiap harinya adalah 300-600mg per hari, dari diet 600 mg per hari lalu dieksresikan ke urin rerata 600 mg per hari dan ke usus sekitar 200 mg per hari (Nasrul, 2012)

Awal metabolisme Asam urat yaitu 2/3 total urat tubuh berasal dari pemecahan purin endogen, hanya 1/3 yang berasal dari diet yang mengandung purin. Pada pH netral urat dalam bentuk ion asam urat (kebanyakan dalam bentuk monosodium urat), banyak terdapat di dalam darah. Konsentrasi normal kurang dari 420 $\mu\text{mol/L}$ (7,0 md/dL). Kadar urat tergantung jenis kelamin, umur, berat badan, tekanan darah, fungsi ginjal, status peminum alkohol dan kebiasaan memakan makanan yang mengandung diet purin yang tinggi. Kadar Asam Urat mulai meninggi selama pubertas pada laki-laki tetapi wanita tetap rendah sampai menopause akibat efek urikosurik estrogen. Enzim asam urat oksidase atau urikase pada tubuh manusia akan mengoksidasi asam urat menjadi allantoin. Defisiensi urikase pada manusia akan mengakibatkan tingginya kadar asam urat.

Urat dikeluarkan di ginjal (70%) dan traktusgastrointestinal (30%). Kadar asam urat di darah tergantung pada keseimbangan produksi dan ekskresinya (Harris et al, 2015).

Sintesis asam urat dimulai dari terbentuknya basa purin dari gugus ribosa, yaitu *5-phosphoribosyl- 1-pirophosphat* (PRPP) yang didapat dari *ribose 5 fosfat* yang disintesis dengan ATP (Adenosine triphosphate) dan merupakan sumber gugus ribosa. Reaksi pertama, PRPP bereaksi dengan glutamin membentuk fosforibosilamin yang mempunyai sembilan cincin purin. Reaksi ini dikatalisis oleh PRPP *glutamil amidotranferase*, suatu enzim yang dihambat oleh produk nukleotida *inosine monophosphat* (IMP), *adenine monophosphat* (AMP) dan *guanine monophosphat* (GMP). Ketiga nukleotida ini juga menghambat sintesis PRPP sehingga memperlambat produksi nukleotida purin dengan menurunkan kadar substrat PRPP (Nasrul, 2012).

Inosine monophosphat (IMP) merupakan nukleotida purin pertama yang dibentuk dari gugus glisin dan mengandung basa *hipoxanthine*. *Inosine monophosphat* berfungsi sebagai titik cabang dari nukleotida adenin dan guanin. *Adenosine monophosphat* (AMP) berasal dari IMP melalui penambahan sebuah gugus *amino aspartat* ke karbon enam cincin purin dalam reaksi yang memerlukan GTP (*Guanosine triphosphate*). *Guanosine monophosphat* (GMP) berasal dari IMP melalui pemindahan satu gugus amino dari *amino glutamin* ke karbon dua cincin purin, reaksi ini membutuhkan ATP(Harris et al., 2015).

Adenosine monophosphate mengalami deaminasi menjadi inosin, kemudian IMP dan GMP mengalami *defosforilasi* menjadi inosin dan guanosin.

Basa *hipoxanthine* terbentuk dari IMP yang mengalami defosforilasi dan diubah oleh *xhantine oxidase* menjadi *xhantine* serta *guanin* akan mengalami deaminasi untuk menghasilkan *xhantine* juga. *Xhantine* akan diubah oleh *xhantine oxidase* menjadi asam urat. Asam urat diginjal akan mengalami empat tahap yaitu asam urat dari plasma kapiler masuk ke glomerulus dan mengalami filtrasi di glomerulus, sekitar 98-100% akan direabsorpsi pada tubulus proksimal, selanjutnya disekresikan kedalam lumen distal tubulus proksimal dan direabsorpsi kembali pada tubulus distal. Asam urat akan diekskresikan kedalam urine sekitar 6% - 12% dari jumlah filtrasi. Setelah filtrasi urat di glomerulus, hampir semua direabsorpsi lagi di tubuli proksimal. pH urin yang rendah di *traktus urinarius* menjadikan *urat dieksresikan* dalam bentuk asam urat (Nasrul, 2012).

B. Gangguan Metabolisme Asam urat

Nilai kadar asam urat pada manusia dapat ditentukan oleh keseimbangan intake purin, prokduksi urat, serta eliminasinya oleh ginjal ataupun ekstrarenal. Gangguan metabolisme asam urat dapat berupa hiperurisemia dan hipoursemia. (Hidayati, 2011)

1. Hiperurisemia

Hiperurisemia merupakan adanya suatu peningkatan Kadar Asan Urat melebihi batas normal. Hal ini disebabkan karena adanya peningkatan metabolisme asam urat, penurunan pengeluarannya di urin atau gabungan dari keduanya. Kegagalan pengaturan asam urat dapat menyebabkan arthritis, batu ginjal, blok tubulus ginjal oleh kristal urat, dan gagal ginjal. Hiperurisemia juga

diduga menjadi resiko terserangnya hipertensi, aterosklerosis, dan jantung koroner (Hidayati, 2011).

a. Hiperurisemia Primer

Hiperurisemia ini tidak disebabkan oleh penyakit lain, akan tetapi murni karena adanya peningkatan asam urat. Ada dua faktor penyebabnya yaitu kelainan enzim kelainan molekuler yang tidak jelas (Lingga, 2012).

b. Hiperurisemia Sekunder

Berbeda dengan hiperurisemia primer, hiperurisemia sekunder masih terikat oleh penyakit lain. Peningkatan kadar asam urat terjadi akibat produksi asam urat yang berlebihan yang disebabkan karena gangguan metabolisme purin. Metabolisme purin terganggu karena *glucose-6-phosphatase* dan *fructose-6-aldolase*.

Hiperurisemia sekunder juga dapat terjadi disebabkan oleh infark miokard, status epileptikus, penyakit hemolisis kronis, polisitemia, psoriasis, keganasan mieloproriferatif dan limfoproriferatif yang dapat meningkatkan pemecahan ATP dan asam nukleat pada inti sel (Lingga, 2012).

c. Hiperurisemia idiopatik

Hiperurisemia idiopatik terjadi karena kelainan genetik atau faktor fisiologi dan anatomi yang tidak jelas. Hiperurisemia ini dinamakan hiperurisemia idiopatik yang berarti tidak diketahui penyebabnya (Lingga, 2012).

d. Hiperurisemia Asintomatik

Hiperurisemia ini terjadi tanpa gejala klinis gout. Inilah tahap awal hiperurisemia, sekitar 20% - 40% mengalami beberapa kali serangan kolik renal

sebelum akhirnya mengalami artritis. Sebagian besar hiperurisemia merupakan hiperurisemia asimtomatik. Penderita tidak mengalami gejala khusus meski kadar asam uratnya tinggi. Fase ini akan berakhir ketika muncul serangan akut gout dan batu asam urat (*urolithiasis*). Serangan ini muncul setelah 20 tahun mengalami Hiperurisemia asimtomatik (Lingga, 2012).

e. Hiperurisemia Simtomatis

Hiperurisemia ini ditandai dengan manifestasi gout di berbagai jaringan mulai sendi, ginjal, jantung dan mata hingga organ lainnya (Lingga, 2012).

2. Hipourisemia

Hipourisemia merupakan defisiensi asam urat pada darah, bersama dengan *xanthinuria* yang disebabkan oleh defisiensi *xanthin oksidase* (Hidayati, 2011).

C. Gejala Klinis Asam Urat

Gejala-gejala asam urat antara lain :

1. Terjadinya hiperurisemia (Peningkatan kadar asam urat di dalam darah)
2. Terdapat kristal urat dengan bentuk yang khas di dalam cairan sendi
3. Terdapat Tofi (Penimbunan asam urat yang di kelilingi oleh reaksi, busa dan jaringan lunak. Merupakan lanjutan dari Gout yang muncul setelah kurun waktu 5-10 tahun Artritis akut pertama. Ada atau tidaknya Tofi dapat dibuktikan dengan pemeriksaan secara kimiawi.
4. Adanya serangan di salah satu sendi terutama sendi-sendi jari kaki.
5. Terjadi lebih dari 1 kali serangan artritis.
6. Sendi-sendi terlihat kemerahan.
7. Pembengkakan asimetris di salah satu sendi.

8. Tidak ditemukan bakteri saat serangan.

(Utami, 2009)

D. Faktor-faktor yang mempengaruhi kadar Asam urat

Faktor yang mempengaruhi kadar asam urat digolongkan menjadi tiga yaitu :

1. Faktor primer

Faktor primer dipengaruhi oleh faktor genetik.

2. Faktor sekunder

Faktor sekunder dapat disebabkan oleh dua hal, yaitu produksi asam urat yang berlebihan dan penurunan ekskresi asam urat.

3. Faktor predisposisi

Faktor predisposisi dipengaruhi oleh usia, jenis kelamin, dan iklim (Muttaqin, 2008).

Faktor sekunder dapat berkembang dengan penyakit lain yaitu obesitas, diabetes melitus, hipertensi, polisitemia, leukemia, mieloma, anemia sel sabit dan penyakit ginjal (Kluwer, 2011).

E. Faktor resiko penyebab orang terserang asam urat

Faktor risiko yang menyebabkan orang dapat terserang penyakit asam urat antara lain :

1. Meningkatnya kadar asam urat dikarenakan diet tinggi protein dan makanan kaya senyawa purin lainnya. Purin merupakan senyawa yang banyak dirombak menjadi asam urat dalam tubuh.
2. Faktor keturunan dengan adanya riwayat asam urat pada silsilah keluarga.

3. Akibat mengkonsumsi alkohol berlebihan, karena alkohol merupakan salah satu sumber purin yang dapat menghambat pembuangan purin melalui ginjal, sehingga disarankan tidak sering mengkonsumsi alkohol.
4. Hambatan dari pembuangan asam urat karena penyakit tertentu, terutama gangguan ginjal. Mengkonsumsi air sebanyak 2 liter setiap hari dapat membantupembuangan urat dan meminimalisir pengendapan urat pada saluran kemih.
5. Penggunaan obat tertentu yang meningkatkan asam urat, terutama diuretika (*Furosemida dan hidroklorotiazida*).
6. Penyakit tertentu pada darah yang menyebabkan terjadinya gangguan metabolisme tubuh.
7. Penggunaan antibiotika yang berlebihan menyebabkan berkembangnya jamur, bakteri dan virus yang lebih ganas.
8. Faktor lain seperti stress, diet ketat, cedera sendi, darah tinggi dan olahraga yang berlebihan (Vitahealth, 2007).

F. Metode-metode pemeriksaan Asam urat

Metode umum untuk pemeriksaan asam urat adalah metode *Enzymatic colorymatic (Uricase)*, PTA Kimia (*phosphotungstic acid*) dan metode yang berdasar *Kromatografi HPLC (High Performance Liquid Chromatography)*.

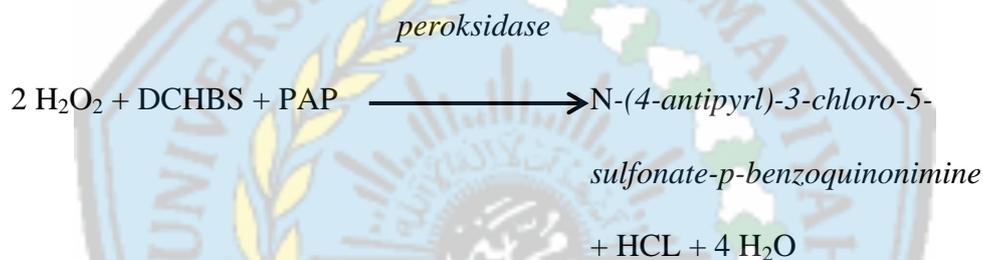
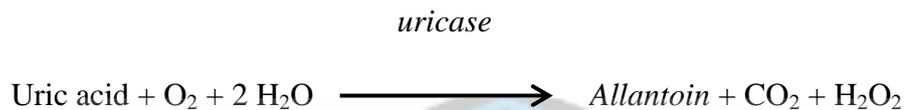
1. Metode Enzymatic Colorymatic (Uricase)

Pemeriksaan asam urat memakai metode enzimatik, dengan memakai *Uricase*. H_2O_2 akan bereaksi dengan katalis *peroksidase*, *3,5-dichloro-2-hydroxybenzenesulfonic acid (DCHBS)* dan *4-aminophenazone (PAP)* yang

membentuk *quinoneimine* warna merah-violet/merah muda sebagai indikator.

Metode Uricase lebih spesifik dibanding PTA. Uricase akan mengoksidasi asam urat, sehingga terbentuk allantoin, hidrogen peroksida dan karbondioksida.

Prinsip reaksi :



Metode *Enzymatic Colorymatic (Uricase)* mempunyai kelebihan karena bermutu tinggi dan biaya rendah, serta tidak memerlukan protein. Sebagai alternatif, substrat dapat dipakai *guanine*, *xanthine*, dan beberapa struktur yang mirip.

Reaksi terjadi berdasarkan model kinetik dan keseimbangan, dengan panjang gelombang tertentu. Sebagai penghasil kromogen, dapat dipakai peroksidase dan oksigen. Hidrogen peroksida dengan bantuan horse radish peroksidase dan akseptor oksigen akan membentuk kompleks warna yang dapat diukur dengan spektrofotometer. Sebaiknya dipakai bahan yang tepat untuk mendapatkan cukup absorbansi dan mengurangi interferen. Pengaruh luar yang dapat mengganggu proses reaksi yaitu asam askorbat dan bilirubin.

Sebagai contoh, beberapa metode oksidasi askorbat untuk menghapus asam askorbat. Penggunaan aminophenazone dengan phenol atau penambahan ferricyanide dapat meminimalkan pengaruh akibat adanya bilirubin.

Metode Enzymatic Colorymatic (uricase) dapat juga diterapkan pada pemakaian reagen kering (*dry reagent*), contoh pada sistem multilayer film, menggunakan uricase dan peroksidase yang dipisahkan dari warna leukosit oleh membran semipermeabel sehingga terbentuk kompleks warna. Sistem yang lain, memakai bahan nitroselulose dengan melibatkan uricase, peroksidase dan MBTH (*3-methyl-2-benzothiazolinone hydrazone*) sebagai akseptor oksigen. Sistem berikutnya memakai bahan plasma dan uricase, peroksidase, dan penol yang ditambahkan untuk mengukur asam urat. Sistem-sistem tersebut menjadi dasar untuk pemeriksaan asam urat dengan POCT, sehingga menghasilkan akurasi dan presisi yang baik. (Nasrul, 2012)

2. PTA Kimia (*phosphotungstic acid*)

Metode yang populer untuk memeriksa asam urat adalah dengan menggunakan metode *Henry Caraway*, metode ini berdasarkan pada oksidasi asam urat pada larutan bebas protein, dengan mereduksi asam phosphotungstic menjadi tungsten biru.

Reagen yang digunakan antara lain :

1. *Sodium tungstate* 10% w/v. *Sodium tungstate* 10 g dilarutkan dalam 75 mL aquades dan tambahkan aquades menjadi 100 mL.

2. Asam sulfur 2/3 N. Konsentrat asam sulfur 2 mL ditambahkan 75 mL aquades, diaduk dan ditambahkan aquades menjadi 100 mL dan distandarisasikan.
3. Natrium karbonat 10% w/v. *Natrium karbonat anhidrous* 10 g dilarutkan dalam 75 mL aquades dan ditambahkan sampai 100 mL.
4. *Phosphotungstate acid* 100 g dan *disodium hidrogen fosfat anhidrous* 20 g dilarutkan dalam 200 mL aquades. Konsentrat asam sulfur 25 mL ditambahkan dalam 75 mL aquades.
5. Standar asam urat (stok) 100 mg%.
6. *Litium karbonat* 60 mg dilarutkan dalam 40 mL aquades. Asam urat 100 mg ditambahkan dan dihangatkan secara perlahan. Formalin 2 mL dan 50% asam asetat sebanyak 1 mL ditambahkan. Aquades ditambahkan menjadi 100 mL. Simpan dalam botol berwarna pada suhu 2-8°C.
7. Larutan kerja asam *fosfotungstik*.
8. Stok asam *fosfotungstik* dilarutkan dalam 100 mL aquades
9. Standar asam urat (larutan kerja) 5mg%.

Larutan stok asam urat dilarutkan dalam 100 mL aquades. Panjang gelombang yang digunakan: 660 nm (*Red filter*). (Nasrul, 2012).

3. *High Performance Liquid Chromatography (HPLC)*

Metode HPLC menggunakan pertukaran ion atau *reversed-phase column* yang digunakan untuk memisahkan dan mengukur asam urat. The column effluent dilihat dengan panjang gelombang 293 nm untuk melihat eluting asam urat (Nasrul, 2012)

G. Nilai normal Asam urat

Kadar asam urat dalam darah tergantung usia dan jenis kelamin, sebelum pubertas berkisar 3,5 mg/dl. Laki-laki mengalami peningkatan secara bertahap mencapai 5,2 mg/dl. Kadar asam urat pada wanita cenderung rendah, setelah memasuki usia pramenopause kadar asam urat dalam darah berkisar 4 mg/dl. Kadar asam urat setelah menopause meningkat hampir mendekati batas normal pada laki-laki yaitu 4,7 mg/dl. (Setiawan & Felix, 2014).

H. Sampel pemeriksaan Asam Urat

Sampel pemeriksaan asam urat dapat menggunakan dua bahan yaitu Serum dan Plasma.

1. Serum

Serum adalah komponen yang bukan berupa sel darah dan juga bukan faktor koagulasi. Serum adalah plasma darah tanpa fibrinogen. Serum protein tidak mengandung fibrin (bukan merupakan fibrous protein) sehingga dapat terlarut. Total serum protein dalam darah sekitar 7,2 -8 g/dl atau sekitar 7% dari volume darah keseluruhan dengan berbagai kegunaan: Sirkulasi molekul lipida, hormon, vitamin dan zat besi; Enzim, komponen komplemen, protease inhibitor dan kinin prekursor; dan regulasi aktivitas, fungsional non seluler dalam sistem kekebalan (Fatawy et al, 2014)

Waktu pembekuan ideal yaitu 60 menit, tetapi bias disentrifuge dibawah 60 menit asalkan sampel sudah mengental. Sampel disentrifuge dengan kecepatan 1300-2000 rpm selama 10 menit, hal ini dilakukan untuk memisahkan serum dengan bahan-bahan darah yang lain. Penyimpanan sampel yang dianjurkan

adalah pada suhu 22°C (dapat digunakan sampai 8 jam), 4°C (dapat digunakan 8-48 jam), dan -20°C (dapat digunakan diatas 48 jam). (Fatawy et al, 2014)

2. Plasma

Plasma adalah komponen darah dalam tabung yang telah terisi antikoagulan yang kemudian di centrifuge dengan kecepatan dan waktu tertentu sehingga bagian plasma dan bagian lain dari darah terpisah. Plasma yang masih mengandung fibrinogen tidak mengandung faktor pembekuan yaitu II, V dan VIII, akan tetapi mengandung serotonin yang sangat tinggi. Penambahan antikoagulan pada plasma dapat mencegah terjadinya pembekuan pada darah tersebut. Sehingga Plasma mengandung fibrinogen (Guder et al, 2009). Plasma mengandung air, albumin, globulin, asam amino, Hormon dan Enzim, limbah nitrogen, nutrisi, gas, fibrinogen. Berbeda dengan serum plasma mengandung faktor koagulasi dan fibrinogen. Antikoagulan atau K₂EDTA pada plasma berfungsi mencegah koagulasi dengan cara mengikat Kalsium (Ca). (Fatawy et al, 2014)

I. Antikoagulan

Antikoagulan merupakan zat yang mampu mencegah membekunya darah. Beberapa jenis antikoagulan antara lain :

1. Heparin

Heparin bersifat seperti antitrombin, tidak mempengaruhi bentuk sel darah merah dan putih. 1 ml heparin dapat mencegah membekunya 10 ml darah. Heparin dapat digunakan dalam bentuk larutan atau serbuk. Antikoagulan ini jarang digunakan karena harganya mahal (R.Gandasoebrata, 2007).

2. EDTA (Ethylenediaminetetraacetate)

EDTA mengandung garam natrium atau kalium, yang dapat mengubah ion kalsium dari darah menjadi bukan ion. EDTA juga tidak mempengaruhi bentuk eritrosit dan leukosit. Pada hitung trombosit EDTA juga baik digunakan untuk pemeriksaan hitung trombosit karena dapat mencegah trombosit menggumpal. Tiap 1 mg EDTA mampu mencegah darah membeku 1 ml. Hindari penggunaan EDTA lebih dari 2 mg, karena dapat mempengaruhi hasil. (R.Gandasoebrata, 2007).

Ada tiga macam EDTA, yaitu *dinatrium* EDTA (Na_2EDTA), *dipotassium* EDTA (K_2EDTA) dan *tripotassium* EDTA (K_3EDTA). Dari ketiga jenis EDTA tersebut, K_2EDTA adalah yang paling baik dan dianjurkan oleh ICSH (*International Council for Standardization in Hematology*) dan CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*).

3. Natriumsitrat dalam larutan 3,8%

Merupakan larutan isotonik dengan darah. Dapat digunakan untuk pemeriksaan laju endap darah dengan metode westergreen. Antikoagulan ini tidak dapat digunakan untuk pemeriksaan hitung eritrosit, leukosit dan trombosit. (R.Gandasoebrata, 2007).

4. NaF

NaF mencegah penjendalan karena florida membentuk kompleks dengan kalsium yang tidak terion (Dewiesah, 1989).

Florida digunakan dalam bentuk serbuk dengan perbandingan 2 mg untuk tiap 1 ml darah (Boehringer, 1993). Florida dapat mencegah glikolisis sehingga kadar

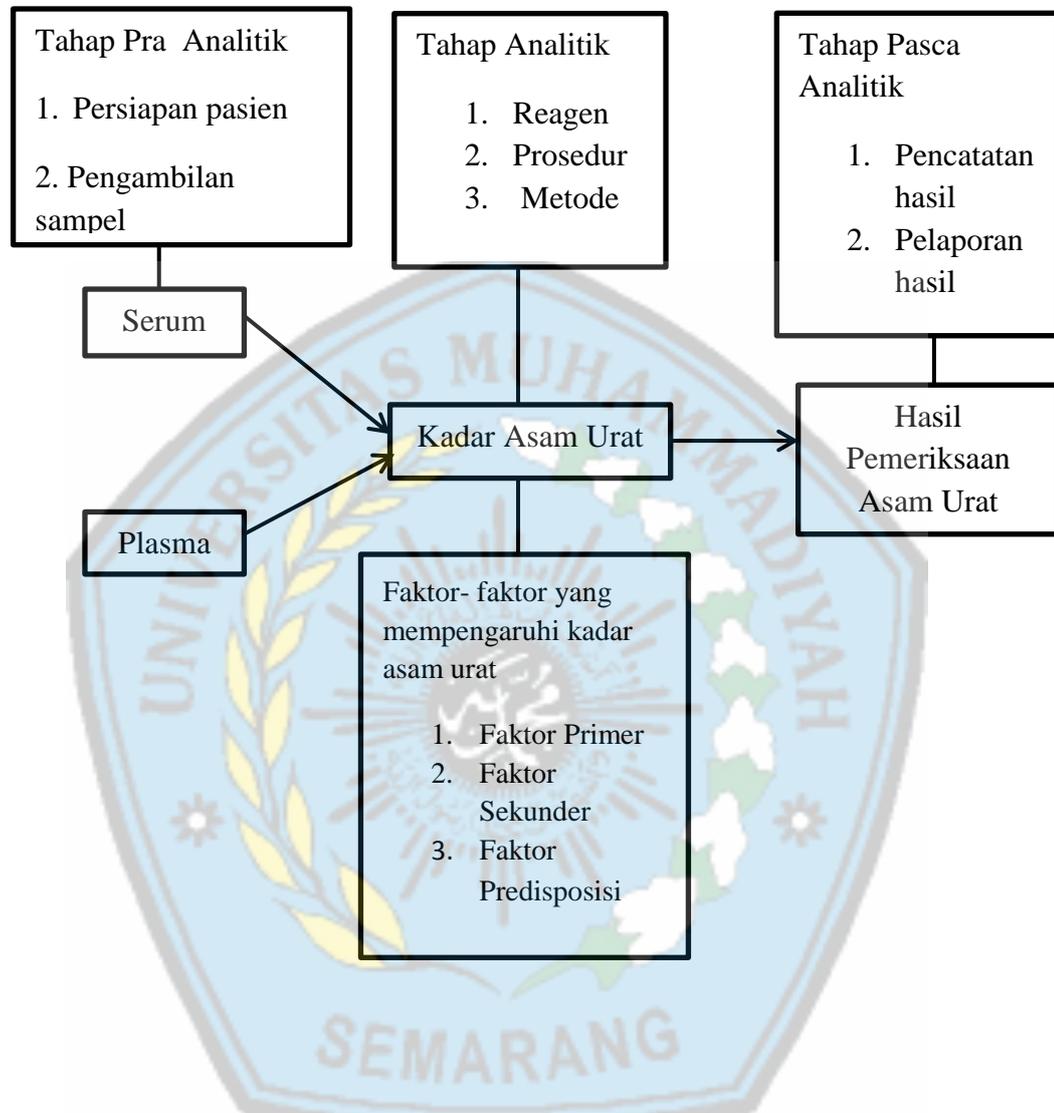
gula darah dapat dipertahankan. Untuk sampel yang disimpan pada suhu 15-25°C stabil selama 24 jam dan pada suhu 4°C stabil selama 10 hari (Hardjoeno, dkk, 2003).

J. Hubungan K₂EDTA dengan asam urat

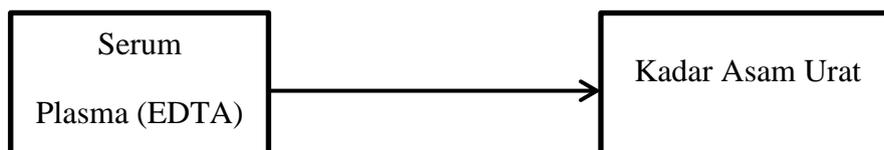
Sampel untuk pemeriksaan asam urat yaitu serum atau plasma. Plasma yang masih mengandung fibrinogen tidak mengandung faktor pembekuan yaitu II, V dan VIII, akan tetapi mengandung serotinin yang sangat tinggi. Penambahan antikoagulan pada plasma dapat mencegah terjadinya pembekuan pada darah tersebut (Guder et al, 2009).

Antikoagulan pada plasma mengandung garam kalium (R.Gandasoebrata, 2007). Kandungan kalium pada K₂EDTA pada plasma, dapat mempengaruhi proses katalis dari enzim peroksidase. Kalium bereaksi dengan enzim peroksidase membentuk kalium peroksida, sehingga dapat mempengaruhi kadar asam urat.

K. Kerangka Teori



L. Kerangka Konsep



M. Hipotesa

Ada perbedaan kadar asam urat pasien yang diperiksa menggunakan sampel serum dan plasma K₂EDTA.

