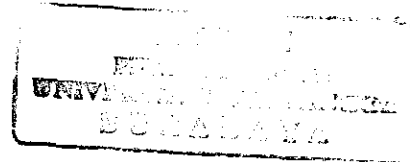


TESIS

**PENGARUH PENYIMPANAN SELAMA 24 JAM TERHADAP
PERUBAHAN KADAR KREATININ, KALSIMUM
DAN FOSFAT URINE**

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIK



ANIK HANDAYATI

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2003**

**PENGARUH PENYIMPANAN SELAMA 24 JAM TERHADAP
PERUBAHAN KADAR KREATININ, KALSIMUM
DAN FOSFAT URINE**

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIK



ANIK HANDAYATI

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2003**

**PENGARUH PENYIMPANAN SELAMA 24 JAM TERHADAP
PERUBAHAN KADAR KREATININ, KALSIUM
DAN FOSFAT URINE**

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIK

TESIS

**Untuk Memperoleh Gelar Magister
Dalam Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar
Minat Studi Kedokteran Laboratorium
Pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga**

Oleh :

**ANIK HANDAYATI
NIM. 0901145890 M**

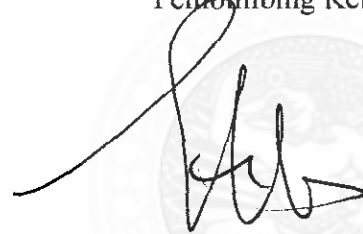
**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2003**

Lembar Pengesahan

TESIS INI TELAH DISETUJUI
PADA TANGGAL 4 SEPTEMBER 2003

Oleh :

Pembimbing Ketua



S. P. Edijanto, dr., SpPK (K)
NIP. 130 350 714

Pembimbing



Dr. Sidarti Soehita SFHS, dr., MS., SpPK (K)
NIP. 130 675 593

Telah diuji pada

Tanggal 4 September 2003

PANITIA PENGUJI TESIS

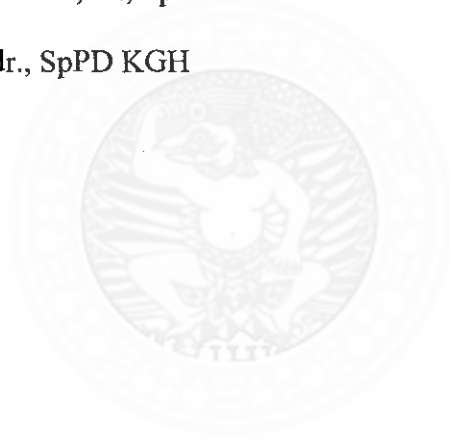
Ketua : Prof. H. Kuntoro, dr., MPH, Dr. PH

Anggota: 1. S. P. Edijanto, dr., SpPK (K)

2. Dr. Sidarti Soehita SFHS, dr., MS., SpPK (K)

3. Juli Soemarsono, dr., SpPK

4. Pranawa, dr., SpPD KGH



UCAPAN TERIMA KASIH

Pertama-tama saya panjatkan puji syukur kehadiran Allah yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang atas segala rahmat dan karuniaNya sehingga tesis ini dapat diselesaikan.

Terima kasih yang tak terhingga dan penghargaan yang setinggi-tingginya saya ucapkan kepada dr. S.P. Edijanto, SpPK (K), Pembimbing ketua yang dengan penuh perhatian dan kesabaran telah memberikan bimbingan, saran dan senantiasa memberikan motivasi untuk menjadi lebih baik.

Terima kasih sebesar-besarnya dan penghargaan yang setinggi-tingginya saya ucapkan kepada Dr., dr., Sidarti Soehita SFHS, MS., SpPK (K), Pembimbing sekaligus Ketua minat studi kedokteran Laboratorium yang dengan penuh perhatian dan tanggung jawab telah memberikan dorongan, bimbingan, saran dan senantiasa memacu semangat belajar agar lebih maju dan lebih baik.

Saya ucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada Pemerintah Republik Indonesia cq Pusat Pendidikan Tenaga Kesehatan, Departemen Kesehatan Republik Indonesia yang telah memberikan bantuan dana Peningkatan Pendidikan Tenaga Guru, Dosen Dan Instruktur (GUDOSIN).

Dengan terselesainya tesis ini, perkenankanlah saya mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Rektor Universitas Airlangga, Prof. Dr. Med. H. Puruhito, dr., atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada saya untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan program Magister.

2. Direktur Program Pascasarjana Universitas Airlangga, Prof. Dr. H. Muhammad Amin, dr., atas kesempatan yang diberikan untuk menjadi mahasiswa program Magister pada program Pascasarjana Universitas Airlangga.
3. Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar, Prof. Soetjipto, dr., MS., PhD., atas kesempatan yang diberikan untuk menjadi mahasiswa program studi Ilmu Kedokteran Dasar pada Program pascasarjana Universitas Airlangga.
4. Kepala Instalasi Patologi Klinik RSUD Dr. Soetomo, dr. Hasan Assegaff, SpPK(K) atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan untuk melaksanakan penelitian.
5. Ketua Jurusan/Prodi Analis Kesehatan, Politeknik Kesehatan Surabaya, Drs. Mohd. Junus atas kesempatan yang diberikan pada saya untuk mengikuti pendidikan program Magister.
6. Semua teman sejawat, karyawan dan karyawan Laboratorium Patologi Klinik RSUD Dr. Soetomo yang dengan sukarela membantu penelitian ini sampai selesai.
7. Seluruh keluarga, Bapak dan Ibu yang selalu mendoakan dan sangat berjasa dalam mendorong saya untuk terus maju dan berjuang.
8. Teristimewa anak saya Faiz atas pengertian dan pemahamannya, yang menguatkan hati saya dan menjadi pelipur lara dikala duka.
9. Semua sahabat-sahabat dan rekan-rekan yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu yang sangat membantu dan mendorong saya menyelesaikan tesis ini.

RINGKASAN

Hasil pemeriksaan laboratorium yang akurat akan memberikan gambaran dan informasi kesehatan seseorang dan membantu menegakkan diagnosis dengan tepat. Tahap pra analitik yang harus diperhatikan dalam pemeriksaan urine kumpulan atau urine 24 jam adalah tahap penanganan dan penyimpanan sampel urine. Pemeriksaan laboratorium yang membutuhkan urine 24 jam adalah pemeriksaan kreatinin urine, kalsium urine dan fosfor urine. Penyimpanan pada suhu kamar tanpa pengawetan dapat menyebabkan dekomposisi urine sehingga hasil pemeriksaan kurang akurat. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh cara penyimpanan terhadap perubahan kadar kreatinin, kalsium dan fosfor urine yang disimpan selama 24 jam.

Jenis penelitian yang digunakan adalah Eksperimental laboratorik dengan rancangan sama subyek. Macam atau jenis perlakuan dalam penelitian ini adalah penyimpanan pada suhu kamar, suhu kamar + HCl, suhu 2-8°C dan suhu 2-8°C + HCl. Sampel urine segar diperoleh dari penderita yang diperiksa di Laboratorium Patologi Klinik RSUD Dr. Soetomo. Besar sampel adalah 30 dan pengambilan sampel dilakukan dengan *selective sampling*. Sebagai pembanding dilakukan pemeriksaan sampel urine tanpa penyimpanan. Selain itu sebelumnya juga dilakukan pemeriksaan carik celup urine.

Metode untuk pemeriksaan kreatinin adalah metode Jaffe kinetik tanpa deproteinasi, sedangkan untuk pemeriksaan fosfor urine digunakan metode ammonium molibdat. Keduanya dianalisis dengan *autoanalyzer* Hitachi 704.

Metode untuk pemeriksaan kalsium urine adalah arsenazo III dan dibaca dengan fotometer Clinicon 4010. Pemeriksaan carik celup menggunakan Combur 10 test M dengan alat miditron.

Hasil yang diperoleh dianalisis dengan uji statistik non parametrik Kruskal Wallis dan diteruskan dengan Mann-Whitney Test. Pada pengaruh cara penyimpanan terhadap perubahan kadar kreatinin didapatkan $p = 0,011$ yang berarti terdapat perbedaan yang bermakna. Penyimpanan pada suhu kamar berbeda bermakna jika dibandingkan dengan penyimpanan pada suhu kamar + HCl ($p=0,047$), suhu $2-8^{\circ}\text{C}$ ($p=0,002$) dan suhu $2-8^{\circ}\text{C}$ + HCl ($p=0,015$). Pada pengaruh cara penyimpanan terhadap perubahan kadar kalsium urine didapatkan $p = 0,015$ yang berarti terdapat perbedaan yang bermakna. Penyimpanan pada suhu kamar berbeda bermakna jika dibandingkan dengan penyimpanan pada suhu kamar + HCl ($0,005$), suhu $2-8^{\circ}\text{C}$ ($p=0,017$) dan suhu $2-8^{\circ}\text{C}$ + HCl ($0,011$). Pada pengaruh cara penyimpanan terhadap perubahan kadar fosfor urine juga menunjukkan perbedaan yang bermakna dengan $p = 0,018$. Penyimpanan pada suhu kamar berbeda bermakna jika dibandingkan dengan suhu $2-8^{\circ}\text{C}$ ($p=0,037$), suhu kamar + HCl ($p = 0,023$) dan suhu $2-8^{\circ}\text{C}$ + HCl ($p = 0,003$).

Penyimpanan pada suhu kamar menunjukkan perbedaan terhadap ke-tiga cara penyimpanan yang lain. Sedangkan antara ke-tiga cara penyimpanan, yaitu penyimpanan pada suhu kamar + HCl, suhu $2-8^{\circ}\text{C}$ dan suhu $2-8^{\circ}\text{C}$ + HCl tidak menunjukkan perbedaan. Jika dilihat dari rata-rata perubahan kadar kreatinin, kalsium atau fosfor urine, maka penyimpanan pada suhu kamar mempunyai rata-rata penurunan paling besar.

ABSTRACT

To examine quantitative urine and creatinine clearance, 24-hour urine is used as sample. Storage in room temperature without preservative may result in urine decomposition, leading to the less accurate result of examination. This study was undertaken to disclose effect of storage method on the change of creatinine, calcium, and phosphate levels in urine stored for 24 hours. Types of treatment used in this study were storage in room temperature, room temperature + HCl, temperature of 2 - 8 °C and 2 - 8 °C + HCl. Fresh urine samples were obtained from 30 patients who met the inclusion criteria. Samples were taken using selective sampling method. As a comparison, an examination had been done to urine sample without storage, in addition to that using test strip.

Creatinine examination was carried out using Jaffe kinetic method without deproteinization, while urine phosphate was examined with ammonium molibdat method. Both were analyzed using autoanalyzer Hitachi 704. Urine calcium was examined using Arsenazo III method and analyzed using Clinicon 4010. Test strip was done using Combur-10 M Test, as read by Midityron instruments.

The obtained result were analyzed using Kruskal Wallis non-parametric test, and followed by Mann-Whitney Test. Effect of storage method on the change of creatinine level revealed $p = 0.011$, indicating a significant difference among 4 methods of storage. Storage at room temperature was significantly different from storage at room temperature + HCl ($p = 0.047$), and significantly different from storage at the temperature of 2 - 8 °C ($p = 0.002$) and 2 - 8 °C + HCl ($p = 0.015$). Effect of storage method on the change of urine calcium level revealed $p = 0.015$, indicating a significant difference among 4 methods of storage. Storage at room temperature was significantly different from storage at room temperature + HCl ($p = 0.005$), at 2 - 8 °C ($p = 0.017$), and 2 - 8 °C + HCl ($p = 0.011$). Effect on storage method on the change of urine phosphate level also showed significant difference ($p = 0.018$) among 4 methods of storage, and significantly different from storage at 2 - 8 °C ($p = 0.037$), room temperature + HCl ($p = 0.023$), and 2 - 8 °C + HCl ($p = 0.003$).

Average change of creatinine, calcium, and phosphate levels showed that storage at room temperature had the higher average level of reduction. To assure the quality of examination result, it is recommended not to store 24-hour urine at room temperature without preservative.

Keywords: *storage method, change of urine creatinine level, urine calcium level, urine phosphate level*

DAFTAR ISI

	Halaman
Sampul Depan.....	i
Sampul Dalam.....	ii
Prasyarat Gelar.....	iii
Persetujuan.....	iv
Penetapan Panitia.....	v
Ucapan Terima Kasih	vi
Ringkasan.....	viii
Abstract	x
Daftar Isi	xi
Daftar Tabel	xv
Daftar Lampiran.....	xvi
Daftar Gambar	xvii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang Masalah	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.3.1 Tujuan Umum	5
1.3.2 Tujuan Khusus	6
1.4 Manfaat Penelitian.....	6
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Fungsi Ginjal	7
2.2 Pembentukan Urine	7
2.3 Komposisi Urine.....	8
2.4 Sifat-Sifat Fisis dan Kimia Urine	12
2.4.1 Bau Urine	12

2.4.2	Warna Urine	12
2.4.3	Kejernihan Urine.....	13
2.4.4	pH urine.....	13
2.4.5	Nitrit urine.....	14
2.5	Pengumpulan dan Penyimpanan Urine.....	14
2.6	Pengawetan Urine.....	16
2.6.1	Pendinginan.....	18
2.6.2	Bahan / Zat Pengawet.....	19
2.6.3	Pengasaman.....	22
2.7	Kreatinin	23
2.7.1	Fisiologi dan Biokimia.....	23
2.7.2	Pemeriksaan Kliren Kreatinin.....	24
2.7.3	Metode Pemeriksaan Kreatinin.....	25
2.7.4	Spesimen	29
2.8	Penentuan Kalsium	30
2.8.1	Metode Pemeriksaan Total Kalsium	30
2.9	Pengukuran Fosfat	33
BAB 3	KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN...	36
3.1	Kerangka Konseptual Penelitian	36
3.2	Hipotesis Penelitian	40
BAB 4	METODE PENELITIAN	41
4.1	Jenis Penelitian	41
4.2	Populasi dan Sampel	41
4.2.1	Populasi.....	41
4.2.2	Sampel.....	41
4.2.3	Besar Sampel.....	42
4.3	Variabel Penelitian	42

4.3.1	Klasifikasi variabel.....	42
4.3.2	Definisi Operasional Variabel.....	43
4.4	Bahan Penelitian.....	44
4.5	Alat Penelitian.....	45
4.6	Tempat dan Waktu Penelitian.....	46
4.7	Prosedur Pengumpulan Data.....	46
4.8	Tehnik Analisis Data.....	52
Alur Penelitian.....		53
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA.....		54
5.1	Hasil Penelitian.....	54
5.1.1	Pemantapan Kualitas Pemeriksaan Kreatinin & Fosfor....	54
5.1.2	Pemantapan Kualitas Pemeriksaan Kalsium.....	60
5.1.3	Hasil Pemeriksaan Kreatinin Urine.....	61
5.1.4	Hasil Pemeriksaan Kalsium Urine.....	64
5.1.5	Hasil Pemeriksaan Fosfor Urine.....	67
5.2	Analisis Data.....	70
5.2.1	Analisis Statistik non parametik Kruskal – Wallis Test Pengaruh Cara Penyimpanan Terhadap Perubahan Kadar Kreatinin Urine.....	70
5.2.2	Analisis Statistik non parametik Kruskal – Wallis Test Pengaruh Cara Penyimpanan Terhadap Perubahan Kadar Kalsium Urine.....	71
5.2.3	Analisis Statistik non parametik Kruskal – Wallis Test Pengaruh Cara Penyimpanan Terhadap Perubahan Kadar Fosfor Urine.....	71

BAB 6 PEMBAHASAN.....	73
6.1 Pemantapan Kualitas	73
6.2 Pengaruh Cara penyimpanan terhadap perubahan kadar kreatinin urine	74
6.3 Pengaruh Cara penyimpanan terhadap perubahan kadar Kalsium urine	76
6.4 Pengaruh Cara penyimpanan terhadap perubahan kadar Fofor urine	79
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN	81
7.1 Kesimpulan.....	81
7.2 Saran	82
Daftar Pustaka.....	

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Komposisi Urine	11
Tabel 2.2 Pengawet Kimia yang Digunakan Untuk Spesimen Urine	18
Tabel 5.1 Hasil Pemeriksaan Duplikat Kreatinin Urine	54
Tabel 5.2 Hasil Pemeriksaan Duplikat Fosfor Urine	55
Tabel 5.3 Hasil Pemeriksaan Duplikat Kalsium Urine	56
Tabel 5.4 Hasil Pemeriksaan Kreatinin dengan <i>Assayed Control Sera</i> (PNU)...	58
Tabel 5.5 Hasil Pemeriksaan Fosfor dengan <i>Assayed Control Sera</i> (PNU).....	59
Tabel 5.6 Hasil Pemeriksaan Kalsium dengan <i>Assayed Control Sera</i> (PNU) ...	60
Tabel 5.7 Hasil Pemeriksaan Kadar Kreatinin Urine (mg/dl) Tanpa Penyimpanan dan Berbagai Cara Penyimpanan.....	62
Tabel 5.8 Data Lengkap Hasil Penghitungan Perubahan Kadar Kreatinin Urine (mg/dl) pada Berbagai Cara Penyimpanan.....	63
Tabel 5.9 Hasil Pemeriksaan Kadar Kalsium Urine (mg/dl) Tanpa Penyimpanan dan Berbagai Cara Penyimpanan.....	65
Tabel 5.10 Data Lengkap Hasil Penghitungan Perubahan Kadar Kalsium Urine (mg/dl) pada Berbagai Perlakuan.....	66
Tabel 5.11 Hasil Pemeriksaan Kadar Fosfor Urine (mg/dl) Tanpa Penyimpanan dan Berbagai Cara Penyimpanan.....	68
Tabel 5.12 Data Lengkap Hasil Penghitungan Perubahan Kadar Fosfor Urine (mg/dl) pada Berbagai Perlakuan.....	69

DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1 Hasil pemeriksaan carik celup (Pemeriksaan Kreatinin)
- Lampiran 2 Hasil pemeriksaan carik celup (Pemeriksaan Kalsium)
- Lampiran 3 Hasil pemeriksaan carik celup (Pemeriksaan Fosfor)
- Lampiran 4 Analisis Statistik Perubahan Kadar Kreatinin
- Lampiran 5 Analisis Statistik Perubahan Kadar Kalsium
- Lampiran 6 Analisis Statistik Perubahan Kadar Fosfor



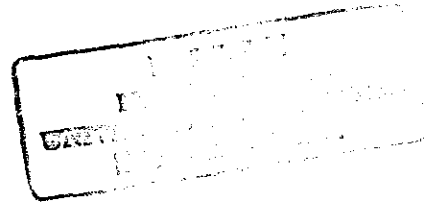
DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1 Skema Kerangka Konsep.....	39
Gambar 1 Skema Alur Penelitian	53



BAB 1

PENDAHULUAN



1.1 Latar Belakang Masalah

Urinalisis atau pemeriksaan urine merupakan suatu pemeriksaan yang paling tua dan paling banyak dilakukan untuk membantu menegakkan diagnosis suatu penyakit. Hal ini disebabkan karena sampel urine mudah didapat dan tehnik pemeriksaannya juga tidak begitu sukar sehingga dapat dilakukan secara rutin. Pemeriksaan urine biasanya diminta atas berbagai indikasi yaitu sebagai uji saring terhadap kelainan metabolik atau penyakit saluran kemih pada orang yang tampak sehat dan untuk penderita rawat jalan maupun rawat inap (Schumann and Schweitzer, 1996; Widmann, 1995)

Komposisi urine meliputi senyawa organik, anorganik, enzim, hormon dan mikroorganisme seperti bakteri dan jamur. Senyawa organik meliputi senyawa hasil metabolisme seperti urea, kreatinin, asam urat, glukosa dan sebagainya. Sedangkan senyawa anorganik meliputi elektrolit seperti garam natrium, kalium, klorida, kalsium, fosfat, sulfat dan magnesium. Jika dibiarkan dalam waktu yang cukup lama, senyawa-senyawa tersebut umumnya tidak stabil dan mudah mengalami dekomposisi akibat reaksi oksidasi, reduksi, fotolisis dan hidrolisis. Penyimpanan urine juga dapat menyebabkan perubahan komposisi oleh adanya pertumbuhan mikroorganisme yang mungkin terkandung dalam urine. Pada pengamatan empiris, urine yang dibiarkan selama lebih dari 2 jam akan mengalami

perubahan makroskopis, misalnya kekeruhan meningkat dan memberikan bau yang tajam. Sedang dalam waktu 2 jam, pada pemeriksaan mikroskopis unsur-unsur berbentuk dalam urine seperti leukosit dan eritrosit akan mengalami kerusakan (Ringsrud and Linne, 1995; Garza, 1982).

Pemeriksaan urine yang sering diminta oleh klinisi sebagai penunjang diagnosis gangguan fungsi ginjal terutama untuk penentuan laju filtrasi glomerulus atau *glomerular filtration rate* (GFR) adalah kliren kreatinin, yang pengukurannya membutuhkan pemeriksaan kreatinin urine dari urine kumpulan atau urine 24 jam. Selain itu untuk diagnosis keseimbangan elektrolit, pemeriksaan ekskresi kalsium dan fosfat dalam urine 24 jam juga sering diminta, bersama-sama dengan pemeriksaan kliren kreatinin (Pincus, Preuss and Henry 1996; Newman and Price, 1999; Baron, 1995). Karena urine yang digunakan urine kumpulan maka sebelum dilakukan pemeriksaan, urine harus disimpan.

Jika urine terpaksa harus disimpan beberapa lama, maka harus digunakan suatu cara pengawetan untuk mempertahankan komposisi asli dari urine tersebut. Beberapa cara pengawetan adalah dengan menyimpannya pada suhu 2-8°C (*refrigerator*), atau juga dapat menambahkan suatu bahan pengawet. Penambahan bahan pengawet berbeda untuk tiap pemeriksaan, tergantung jenis pemeriksaan yang dilakukan. Tidak ada satu senyawa pengawet yang dapat diterapkan untuk semua tes atau pemeriksaan. Selain itu ada beberapa pemeriksaan yang tidak boleh ditambahkan bahan pengawet karena dapat mengganggu hasil pemeriksaan, sehingga cara pengawetan yang

dianjurkan adalah menyimpannya dalam lemari es. Pemilihan cara pengawetan dan penambahan bahan pengawet adalah penting sebagai usaha untuk tetap menjaga kestabilan komponen dalam urine (Henry, Lauzon and Schumann, 1996; Scholer, 1993; Garza, 1982; Smith, 1982

Pemeriksaan laboratorium meliputi beberapa tahapan yaitu tahap pra analitik, analitik dan pasca analitik. Untuk mendapatkan hasil yang tepat dan dapat dipercaya maka tiap tahapan analitik, mulai dari pra analitik perlu diperhatikan dan dikerjakan dengan benar. Pada tahapan pra analitik perlu diperhatikan persiapan penderita, pengumpulan sampel, serta cara penanganan dan penyimpanan sampel (Free and Free, 1976; Wirawan, 1991). Cara penampungan dan penyimpanan sampel urine 24 jam yang tepat dan benar diperlukan untuk mendapatkan hasil pemeriksaan yang valid. Seringkali sampel yang diterima di laboratorium, baik dari penderita rawat jalan maupun rawat inap tidak disimpan dalam lemari es atau ditambahkan bahan pengawet. Penyimpanan yang tidak tepat dapat mengakibatkan terjadinya perubahan komposisi urine sehingga menyebabkan kesalahan atau tidak akuratnya hasil pemeriksaan pada sampel urine 24 jam. Sementara untuk menunjang diagnosis diharapkan setiap pemeriksaan harus dapat menampilkan hasil dengan validitas tinggi.

Pendinginan pada sekitar 2-8°C adalah metode pengawetan yang paling baik dan disarankan untuk pemeriksaan kreatinin urine. Pendinginan mencegah pertumbuhan bakteri sehingga tidak mempengaruhi hasil pemeriksaan. Selain itu pengasaman dianjurkan untuk pengawetan beberapa

elektrolit dalam urine, karena asam dapat menstabilkan komponen-komponen yang stabil pada pH rendah. Pada pemeriksaan kreatinin urine, kalsium urine dan fosfat urine, cara pengawetan yang paling banyak dianjurkan adalah dengan menyimpannya dalam almari es atau menambahkan asam yaitu HCl 6N (Endres and Rude, 1999; Suhendra, Nurwan dan Chalim 1994; Young and Bermes, 2001).

Dari latar belakang masalah di atas, maka untuk dapat memberikan hasil pemeriksaan urine kumpulan yang dapat dipercaya, perlu dilakukan penelitian mengenai pengaruh penyimpanan selama 24 jam terhadap perubahan hasil pemeriksaan kreatinin, kalsium dan fosfat urine. Sebagai pembandingan dilakukan pemeriksaan kreatinin, kalsium dan fosfat urine tanpa penyimpanan (diperiksa dalam waktu 1 jam setelah urine dikeluarkan). Metode yang digunakan untuk pemeriksaan kreatinin urine adalah reaksi *Jaffe*, kalsium urine ditentukan dengan metode *arsenazo III* dan fosfat urine ditentukan dengan metode *ammoniummolybdat*.

Sampel urine diperoleh dari penderita rawat jalan maupun rawat inap RSUD Dr. Soetomo yang diperiksa kliren kreatinin, kalsium dan fosfat urine di Laboratorium Patologi Klinik RSUD Dr. Soetomo Surabaya. Sebelumnya dilakukan pemeriksaan dengan carik celup, untuk melihat pH dan nitrit urine

1.2 Rumusan Masalah

Berdasar latar belakang masalah di atas maka rumusan masalah yang dikemukakan adalah :

- a. Apakah penyimpanan selama 24 jam pada suhu kamar, suhu kamar + HCl, suhu 2-8°C dan suhu 2-8°C + HCl dapat berpengaruh terhadap perubahan hasil pemeriksaan kreatinin urine ?
- b. Apakah penyimpanan selama 24 jam pada suhu kamar, suhu kamar + HCl, suhu 2-8°C dan suhu 2-8°C + HCl dapat berpengaruh terhadap perubahan hasil pemeriksaan kalsium urine ?
- c. Apakah penyimpanan selama 24 jam pada suhu kamar, suhu kamar + HCl, suhu 2-8°C dan suhu 2-8°C + HCl dapat berpengaruh terhadap perubahan hasil pemeriksaan fosfat urine ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui pengaruh cara penyimpanan urine 24 jam terhadap perubahan hasil pemeriksaan kreatinin, kalsium dan fosfat urine.

1.3.2 Tujuan Khusus

- a. Untuk mengetahui pengaruh penyimpanan selama 24 jam pada suhu kamar, suhu kamar + HCl, suhu 2-8°C dan suhu 2-8°C + HCl terhadap perubahan hasil pemeriksaan kreatinin urine.
- b. Untuk mengetahui pengaruh penyimpanan selama 24 jam pada suhu kamar, suhu kamar + HCl, suhu 2-8°C dan suhu 2-8°C + HCl terhadap perubahan hasil pemeriksaan kalsium urine.
- c. Untuk mengetahui pengaruh penyimpanan selama 24 jam pada suhu kamar, suhu kamar + HCl, suhu 2-8°C dan suhu 2-8°C + HCl terhadap perubahan hasil pemeriksaan fosfat urin.

1.4 Manfaat Penelitian

- a. Dapat diketahui cara penyimpanan urine 24 jam yang paling baik, untuk parameter pemeriksaan kreatinin, kalsium dan fosfat urine, sehingga hasil pemeriksaan yang diperoleh lebih dapat dipercaya.
- b. Membantu klinisi menegakkan diagnosis dengan memberikan hasil pemeriksaan yang mempunyai validitas tinggi.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Fungsi Ginjal

Ginjal melakukan berbagai fungsi metabolik dan ekskretorik. Fungsi ginjal yang paling penting adalah menyaring plasma, membuang zat yang tidak diperlukan, sementara zat yang dibutuhkan dikembalikan ke dalam darah. Selain membersihkan tubuh dari zat sampah bernitrogen dan hasil metabolisme lain, ginjal juga mengatur homeostasis cairan, elektrolit dan asam-basa. Ginjal juga membuang banyak toksin dan zat asing lainnya seperti pestisida, obat-obatan dan makanan tambahan (Guyton and hall, 1997; First, 1996 ; Baron, 1995; Hartmann, 2002; Faulkner and King, 1982).

Masing-masing ginjal manusia terdiri dari kurang lebih 1 juta nefron. Setiap nefron mempunyai dua komponen utama yaitu glomerulus yang berfungsi memfiltrasi darah dari sirkulasi tubuh dan tubulus yang mempunyai fungsi reabsorpsi dan sekresi (Gray,Howort and Rinsler, 1985).

2.2 Pembentukan Urine

Pembentukan urine dimulai dari filtrasi sejumlah besar cairan yang bebas protein dari kapiler glomerulus ke kapsula Bowman. Kebanyakan zat dalam plasma, kecuali protein, difiltrasi secara bebas sehingga konsentrasinya pada filtrat glomerulus hampir sama dengan dalam plasma. Selanjutnya cairan hasil filtrasi akan mengalir melewati bagian-bagian tubulus, yaitu

tubulus proksimalis, tubulus distalis, tubulus koligentes dan duktus koligentes. Di sepanjang jalan yang dilaluinya, beberapa zat direabsorpsi kembali ke dalam darah sedangkan zat lain disekresikan dari darah ke dalam lumen tubulus. Pada akhirnya urine yang terbentuk dan semua zat di dalam urine merupakan hasil dari proses filtrasi glomerulus, reabsorpsi tubulus dan sekresi tubulus.

Banyak zat yang harus dibersihkan dari darah, terutama produk akhir metabolisme seperti urea, kreatinin, asam urat dan garam-garam asam urat. Zat-zat tersebut sedikit direabsorpsi tetapi diekskresi dalam jumlah besar ke dalam urine. Sedangkan elektrolit seperti ion natrium, klorida dan bikarbonat direabsorpsi dengan baik sehingga hanya sejumlah kecil saja yang terdapat dalam urine. Zat nutrisi tertentu, seperti asam amino dan glukosa, direabsorpsi seluruhnya dari tubulus dan tidak terdapat dalam urine meskipun sejumlah besar zat tersebut difiltrasi di glomerulus. Setiap proses filtrasi glomerulus, reabsorpsi tubulus dan sekresi tubulus diatur menurut kebutuhan tubuh (Guyton and Hall, 1997; Hartmann, 2002).

2.3 Komposisi Urine

Urine adalah suatu senyawa kompleks yang terdiri dari kurang lebih 96% air dan 4% komponen terlarut yang berasal dari makanan yang dikonsumsi atau merupakan sisa hasil metabolisme. Bagian terbesar dari komponen terlarut urine adalah larutan garam (natrium, kalium, klorida) dan urea (produk akhir utama metabolisme protein). Komposisi sesungguhnya

dari urine bervariasi tergantung berbagai faktor seperti, diet, status nutrisi, laju metabolik, keadaan tubuh secara umum dan keadaan ginjal serta kemampuannya berfungsi normal (Bradley and Benson, 1974).

Selain urea, pada keadaan normal substansi organik lain seperti asam urat dan kreatinin, asam amino, amonia, sebagian kecil protein, glikoprotein, enzim dan purin juga terdapat dalam urine. Senyawa-senyawa tersebut merupakan senyawa nitrogen sisa hasil metabolisme protein yang harus dikeluarkan dari tubuh. Meningkatnya jumlah senyawa tersebut di dalam darah akan bersifat toksik bagi tubuh. Jumlah urea dalam urine kurang lebih setengah dari substansi terlarut dalam urine. Ekskresi kreatinin sebanding dengan masa otot tubuh, dan tidak tergantung makanan. Jumlah kreatinin yang dikeluarkan setiap hari konstan untuk masing-masing individu. Secara normal kreatinin difiltrasi di glomerulus dan tidak diserap kembali. Meningkatnya konsentrasi kreatinin dalam darah menandakan adanya gangguan filtrasi glomerulus (Colombo, 1993; Scholer, 1993).

Selain natrium, kalium dan klorida, di dalam urine terdapat substansi anorganik lain seperti kalsium, magnesium, amonia, fosfat dan sulfat. Ekskresi dari natrium dan klorida sebanding dengan asupan makanan. Pada prinsipnya garam yang biasanya terdapat dalam makanan yang dikonsumsi berbeda jumlahnya pada setiap orang. Ekskresinya bervariasi dari 5 sampai 20 gr setiap hari sebagai natrium klorida. Kalium juga ada dalam makanan seperti daging dan buah-buahan. Secara normal dikeluarkan kurang lebih 70 meq kalium setiap 24 jam. Sulfat diekskresikan sebagai sulfat anorganik dan

sulfat organik, dimana sulfat anorganik berasal dari hasil metabolisme sistin dan metionin dan ekskresinya sebanding dengan asupan protein. Sulfat organik secara umum merupakan konjugat dari steroid dan fenol. Fosfat yang diekskresikan setiap hari bervariasi dan berasal dari asam nukleat, kasein, fosfat organik dan fosfat anorganik (Bradley and Schumann, 1979).

Selain senyawa-senyawa nitrogen dan garam, urine yang normal terdiri dari sejumlah kecil gula seperti pentosa, metabolit intermediet seperti asam oksalat, asam sitrat dan piruvat. Hormon-hormon seperti ketosteroid, estrogen, aldosteron dan gonadotropin, katekolamin dan serotonin secara normal juga didapatkan di dalam urine dan merupakan refleksi dari metabolisme dan status endokrin. Vitamin-vitamin seperti asam askorbat diekskresikan dalam urine, tergantung asupan dalam tubuh. Hemoglobin dan pigmen hem secara normal tidak terdapat dalam urine, tetapi sejumlah kecil porfirin ada dalam urine (Colombo, 1993; Bradley and Schumann, 1979).

Tabel 2.1 Komposisi urine

I. Substansi Nitrogen - Urea 47% N - Asam urat 33%N - Kreatinin 37%N - Kreatin - Ammonium 78%N - Asam amino bebas 14% - Asam amino terikat - Asam hipurat - Total protein	Mmol/24jam 330 – 580 1,0 – 9,0 8,8 – 13,0 < 0,45 22 – 44 2,8 – 7	g/24jam 20 – 35 0,21,5 1 – 1,5 sampai 0,06 0,5 – 1,0 0,5 0,6 0,7 sampai 0,05 23 – 41 g
II. Elektrolit - Natrium - Kalium - Kalsium - Magnesium - Amonium - Klorida - Fosfat - Sulfat - Anion organik	Mmol/24jam 175 – 260 50 – 100 0,25 – 7,5 27 – 54 170 – 253 64 – 160	
III. Pigmen - Urokrom - Urobilinogen - Urobilin - Bilirubin - Porfirin	mg/24jam 3 – 25 10 – 100 sampai 0,2	
IV. Metabolisme Karbohidrat - Glukosa - Glukoronat - Aseton - Oxalat - Sitrat	Mmol/24jam < 1,1 0,25 – 2,5 0,9 0,12 – 0,16 0,78 – 1,56	
V. Hormon dan Enzim - Amilase - Pepsin - Tripsin - Alkali fosfatase - γ GT, NAG - Gonadotropin - Steroid		

Sumber: Colombo JP, 1993. Die Urinalyse. In: Colombo JP. Ed. Klinisch-chemische Urindiagnostik hal. 19

2.4 Sifat-Sifat Fisis dan Kimia Urine

2.4.1 Bau Urine

Urine yang normal mempunyai bau yang khas, disebabkan adanya asam-asam yang mudah menguap. Bau urine yang abnormal, seringkali disebabkan oleh penanganan dan penyimpanan spesimen yang tidak tepat. Jika dibiarkan dalam waktu yang cukup lama, urine akan memberikan bau amonia yang kuat, hal ini disebabkan pemecahan urea oleh bakteri, sehingga terbentuk amonia. Spesimen urine seperti ini tidak sesuai lagi untuk pemeriksaan karena telah terjadi dekomposisi komponen dalam urine.

Jika urine segar yang baru dikeluarkan berbau busuk, bau tersebut dapat mempunyai arti klinis. Pada infeksi saluran kemih, terdapat bakteri dalam jumlah besar yang memecah urea menjadi amonia dan bersama-sama dengan pemecahan protein akan memberikan bau yang tidak enak.

Pada penderita dengan peningkatan benda keton dalam darah, akan menghasilkan bau urine yang manis seperti aroma buah. Pemeriksaan bau ini penting untuk observasi penderita diabetes melitus, dengan resiko koma diabetikum (Ringsrud and Linne, 1995).

2.4.2 Warna Urine

Pada orang sehat, urine biasanya berwarna kuning muda sampai kuning tua, tergantung dari kepekatan urine. Semakin pekat urine warnanya semakin gelap. Warna tersebut berasal dari hasil metabolisme normal, sebagian besar berasal dari urokrom yang berasal dari pemecahan

pigmen hem. Sebagian kecil berasal dari urobilin dan uroeritrin. Pigmen dalam makanan seperti bit merah, obat-obatan dan hasil metabolitnya juga memberikan warna yang spesifik pada urine.

Warna abnormal yang terdapat dalam urine dapat disebabkan oleh kondisi patologis, seperti warna merah karena hematuria dan warna coklat karena bilirubin.

2.4.3 Kejernihan Urine

Urine yang baru dikeluarkan pada dasarnya jernih, tetapi sering menjadi keruh jika dibiarkan. Kekeruhan dapat disebabkan oleh presipitasi kristal amorf (urat dalam urine asam, fosfat dalam urine alkali) dan mukus. Pertumbuhan bakteri yang terjadi pada spesimen yang disimpan dengan tidak tepat, juga dapat menyebabkan spesimen urine kehilangan kejernihan. Adanya bakteri dalam urine dapat dilihat melalui pemeriksaan mikroskopis dari sedimen urine.

2.4.4 PH urine

Urine segar yang baru dikeluarkan biasanya mempunyai pH antara 5-6. Jika dibiarkan dalam suhu kamar, urea dapat diubah oleh bakteri menjadi amonia dan mengakibatkan meningkatnya pH (disebabkan peningkatan konsentrasi ion hidroksil). PH urine yang sangat alkalis seringkali disebabkan oleh penanganan dan penyimpanan sampel yang tidak tepat. Spesimen jenis ini tidak sesuai lagi untuk pemeriksaan dan harus diganti dengan spesimen yang baru.

PH urine yang cenderung alkalis pada spesimen urine segar yang baru dikeluarkan menandakan adanya infeksi saluran kemih. Pada pemeriksaan kimia diketahui dengan adanya tes nitrit positif dan pada pemeriksaan sedimen urine tampak adanya bakteri dan sel darah putih.

2.4.5 Nitrit urine

Tes nitrit digunakan sebagai metode cepat untuk mendeteksi adanya infeksi saluran kemih asimtomatik. Tes ini lebih bermanfaat jika dikombinasikan dengan test esterase leukosit, yang merupakan indikator lain dari infeksi saluran kemih. Jika terdapat bakteri dalam saluran kemih, maka bakteri tersebut akan mengubah nitrat (merupakan komponen normal dalam urine) menjadi nitrit. Bakteri tersebut pada umumnya adalah bakteri gram negatif.

Untuk mencegah kerusakan ginjal, infeksi saluran kemih harus dideteksi sedini mungkin. Kebanyakan infeksi diawali dari saluran kemih bagian bawah, akibat kontaminasi *fecal* dari mikroorganisme normal yang terdapat dalam feses, seperti *Escherichia coli*.

2.5 Pengumpulan dan Penyimpanan Urine

Urine sebagai bahan pemeriksaan harus dikumpulkan dan disimpan dalam tempat yang bersih, tertutup, bermulut lebar dan kapasitasnya kurang lebih 100 ml untuk analisis urine rutin. Jika dibutuhkan urine kumpulan dapat digunakan penampung yang lebih besar dengan kapasitas kurang lebih 3000 ml. Wadah atau tempat penampung urine tersebut harus berlabel, yaitu

memuat nama, tanggal, jenis urine, pengawet yang dipakai dan jenis pemeriksaan. Tempat penampung steril harus digunakan jika bahan urine ditujukan untuk pemeriksaan kultur atau bakteriologis. Tempat penampungan harus bebas dari residu sebelumnya dan bahan detergen yang dapat menyebabkan kesalahan reaksi, atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme pada pemeriksaan kultur (Ringsrud and Linne, 1995; Simindinger, Mansour and Slockbower, 1983)

Untuk mendapatkan hasil yang dapat dipercaya, perlu diperhatikan dalam menampung urine, untuk menghindari kemungkinan kontaminasi dari luar (*fecal dan vaginal*). Tabung penampung harus tertutup, untuk menjaga tumpah, kontaminasi dari luar dan kontak dengan udara. Pada saat pengeluaran urine, vagina harus dibersihkan dengan sabun antiseptik lunak dan membilasnya sampai bersih untuk menghindari kontaminasi dari vagina. NCCLS merekomendasikan spesimen urine yang baik untuk urinalisis adalah urine yang tercampur dengan baik, urine pagi (terkonsentrasi selama 8 jam), spesimen tidak disentrifus dan diperiksa pada suhu kamar (Simindinger, Mansour and Slockbower, 1983).

Dalam beberapa kasus kecuali untuk analisis urine rutin, spesimen harus dikumpulkan dalam interval waktu tertentu. Hal ini dikarenakan ekskresi bermacam-macam substansi urine dari waktu ke waktu dalam satu hari bervariasi atau tidak sama. Pada analisis urine kuantitatif dibutuhkan pengumpulan spesimen urine waktu tertentu (urine 12 jam atau 24 jam), seperti pada pemeriksaan metabolit dalam urine dan elektrolit urine. Selain itu

untuk pemeriksaan kliren kreatinin juga dibutuhkan urine kumpulan, yaitu urine 24 jam. Dalam pengumpulan spesimen waktu tertentu, perlu diperhatikan cara penampungan dan pencegahan terhadap timbulnya kontaminasi. Urine harus ditampung secara lengkap selama periode pengumpulan dan dicegah terjadinya perubahan substansi urine dengan cara penyimpanan yang tepat. Untuk pengumpulan urine 24 jam perlu ditambahkan bahan pengawet untuk mencegah perubahan komposisi dari urine.

Cara pengumpulan urine 24 jam adalah sebagai berikut : jam 7.00 pagi penderita diminta mengeluarkan urine, kemudian urine tersebut dibuang. Selanjutnya semua urine yang dikeluarkan sampai jam 7.00 esok harinya ditampung dalam wadah yang tersedia dan dicampur. Demikian juga untuk urine waktu tertentu seperti urine 12 jam, cara pengumpulannya sama.

2.6 Pengawetan Urine

Idealnya urine harus diperiksa dalam waktu 30 menit sejak dikeluarkan, sampai maksimal 2 jam. Spesimen tidak dapat diterima jika dibiarkan berada dalam suhu kamar selama lebih dari 2 jam. Penyimpanan spesimen yang terlalu lama dapat menyebabkan dekomposisi urine akibat peningkatan jumlah bakteri, dimana bakteri dapat mereduksi nitrat menjadi nitrit. Bakteri juga dapat meningkatkan pH urine akibat perubahan urea menjadi amonia sebagai hasil reduksi urea oleh urease bakteri. Meningkatnya pH akan mengakibatkan pengendapan kalsium dan magnesium fosfat. Selain

itu pH yang tinggi juga menyebabkan benda berbentuk seperti silinder menjadi rusak. Sel eritrosit, leukosit dan substansi kimia dapat hilang dari urine jika dibiarkan dalam suhu kamar (Garza, 1982; Ringsrud and Linne, 1995; Smith, 1982; Scholer and Lauber, 1993).

Pengawet-pengawet urine mempunyai peran yang berbeda dalam mengawetkan urine, biasanya ditujukan untuk mengurangi aktifitas bakteri atau dekomposisi senyawa kimia. Manfaat yang lain adalah untuk menurunkan oksidasi udara terhadap komponen yang tidak stabil. Beberapa spesimen tidak selalu membutuhkan penambahan pengawet karena dapat menyebabkan gangguan pada metode analisis. Salah satu cara yang paling memuaskan dalam pengawetan urine adalah pendinginan segera setelah urine dikeluarkan. Hal ini juga akan lebih baik jika dikombinasikan dengan penambahan bahan pengawet kimia (Ringsrud and Linne, 1995). Tabel 2.2 merupakan daftar dari pengawet kimia untuk spesimen urine dari National Committee for Clinical Laboratory Standarts (NCLLS).

Tabel 2.2 Pengawet kimia yang digunakan untuk spesimen urine

Analit	Pendinginan	Pembekuan	HCl 6N	Asam Borat	Asam Asetat	Pengawet Lain
Albumin	X	X		X		
Adosteron	X	X	X	X		
Asam amino	X	X	X	X	X	Toluen
Kalsium			X			
Katekolamin		X	X		X	
Klorida	X			X		
Kreatin	X	X		X		
Kreatinin	X	X	X	X		
Natrium dan kalium	X			X		
Glukosa	X		X			
Magnesium	X	X	X	X		
Fosfat	X			X		
Total protein	X			X		
Urea nitrogen	X	X		X		
Asam urat						Natrium karbonat
Urobilinogen						

Dikutip Dari National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)

2.6.1 Pendinginan

Pendinginan pada sekitar 4°C adalah cara pengawetan yang paling baik dan paling banyak disarankan untuk diterapkan pada spesimen urine.

Pendinginan mencegah pertumbuhan bakteri tanpa adanya gangguan kontaminasi, seperti halnya jika ditambahkan bahan pengawet kimia.

Untuk pemeriksaan bakteriologi, cara pendinginan 4°C dapat menstabilkan urine selama 24 jam, tetapi untuk jangka waktu yang lebih lama tidak dapat mencegah adanya peruraian bakteri. Gangguan yang

mungkin terjadi pada cara pendinginan adalah terjadinya endapan, yang dapat mengganggu analisis kalsium, magnesium, fosfat, oksalat, asam urat dan komponen lain. Untuk mengatasi hal tersebut sebelum melakukan analisis, urine dibiarkan dalam suhu kamar dan dilakukan homogenasi untuk melarutkan endapan. Beberapa pemeriksaan lain yang disarankan untuk diawetkan dengan pendinginan adalah pemeriksaan elektrolit urine, kreatinin urine dan protein urine.

2.6.2 Bahan / Zat Pengawet

a. Toluol

Toluol atau toluol adalah pelarut organik yang tidak berwarna dan berbau seperti benzen. Toluol bekerja sebagai bahan pengawet dengan cara membentuk sebuah lapisan di atas permukaan spesimen, sehingga spesimen tidak terpapar ke udara. Toluol juga menghalangi pertumbuhan bakteri, terlebih dalam keadaan dingin. Toluol tidak dipakai secara luas karena sifat dasarnya yang mudah terbakar, juga kesulitan yang dihadapi ketika harus memipet spesimen, karena untuk mencapai spesimen harus melewati lapisan yang terbentuk.

Penggunaan toluol sangat baik digunakan untuk mengawetkan aseton, asam diasetat, glukosa dan protein. Untuk mengawetkan urine 24 jam, dipakai toluol sebanyak 2-5 ml, dimasukkan ke dalam botol penampung dan tiap kali ditambahkan urine, botol harus dikocok baik-baik.

b. Timol

Timol atau isopropil kresol adalah kristal yang mempunyai rasa dan bau aromatis, larut dalam alkohol. Timol adalah bahan pengawet yang memadai, meskipun tidak dipakai secara luas. Sebutir timol sebagai pengawet mempunyai daya seperti toluen dalam mengawetkan urine, yaitu mencegah pertumbuhan bakteri. Timol dapat menyebabkan hasil positif palsu untuk pemeriksaan protein dengan cara pemanasan dan asam asetat, tetapi tidak mempengaruhi tes kimia dengan carik celup (*dipstick*).

Dibutuhkan 5 ml larutan timol 10 % dalam isopropanol untuk mengawetkan urine kumpulan 24 jam. Cara ini terutama dianjurkan untuk parameter pemeriksaan dengan kecurigaaan *Urolithiasis*. Dengan pengawet ini analit atau zat organik yang tidak dipengaruhi pH urine dapat distabilkan.

c. Kloroform

Kloroform sering digunakan sebagai pengawet dengan cara menjenuhkan larutan sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri dalam spesimen, tetapi tidak membentuk lapisan permukaan sehingga kontaminasi dari luar tidak dapat dicegah. Penggunaan kloroform tidak direkomendasikan sebagai bahan pengawet meskipun dapat digunakan sebagai pengawet pada penentuan kadar aldosteron. Kloroform dapat tertinggal di dasar wadah, sehingga mengganggu pemeriksaan mikroskopik dan apabila terhirup akan menyebabkan kerusakan organ

hati. Kloroform juga dapat mengganggu pemeriksaan glukosa seperti test reduksi dengan reagen Fehling.

d. Formaldehida

Formaldehida adalah cairan bening yang tidak berwarna dan beracun. Formaldehida sangat baik untuk mengawetkan elemen-elemen berbentuk dalam pemeriksaan mikroskopik atau sedimen urine. Konsentrasi formalin yang digunakan adalah 37% dan untuk mengawetkan urine 24 jam dipakai sebanyak 1-2 ml larutan formalin. Kelemahan pengawet ini adalah tidak dapat digunakan mengawetkan spesimen-spesimen untuk pemeriksaan glukosa, karena dapat mereduksi reagen Benedict.

e. Natrium Karbonat

Natrium karbonat digunakan untuk mengawetkan porfirin yang membutuhkan larutan alkali untuk stabilitas. Sejumlah bahan ditambahkan ke dalam urine untuk mengatur pH antara 8 dan 9. Kurang lebih 4-5 gr natrium karbonat mencukupi untuk 2000 mililiter urine. Sebaiknya digunakan botol berwarna coklat untuk mencegah oksidasi porfirin oleh cahaya. Pengawet ini juga dapat digunakan untuk menentukan urobilinogen, yang diekskresikan selama 24 jam. Dalam pemakaiannya, direkomendasikan untuk ditambahkan sekitar 100 ml petroleum eter atau beberapa ml toluen, agar terbentuk lapisan pada spesimen untuk mencegah oksidasi.

2.6.3 Pengasaman

Asam adalah bahan pengawet yang baik, karena sifat keasamannya dapat menstabilkan substansi-substansi yang hanya stabil pada pH rendah. Pengasaman dengan pH dibawah 3 paling banyak digunakan untuk mengawetkan urine 24 jam, khususnya untuk penentuan kalsium, steroid, *catecholamin*, *vanillylmandelic acid* dan lain-lain. Dibutuhkan 25 ml HCl 6 N untuk setiap urine kumpulan 24 jam. Asam tersebut ditambahkan ke dalam wadah sebelum penampungan urine. Asam yang berkonsentrasi rendah lebih dianjurkan, karena bahaya asam beserta uapnya dapat dihindarkan.

a. Asam klorida (HCl)

Pada pengumpulan urine 24 jam, khususnya untuk pemeriksaan amonia, urea atau total nitrogen, dan kreatinin dapat digunakan asam klorida. Sekitar 10 ml HCl pekat atau 25 ml HCl 6 N dapat ditambahkan dalam urine kumpulan 24 jam. Pada cara pengawetan dengan pengasaman, elemen-elemen berbentuk dalam urine dapat hancur akibat pengasaman oleh HCl. Selain itu akibat kelebihan asam, asam urat akan diendapkan sehingga sebelum dilakukan pemeriksaan, sampel urine harus dikocok dengan baik.

b. Asam Borat

Asam borat dapat digunakan untuk mengawetkan bahan-bahan kimia maupun bahan berbentuk dalam urine. Asam borat dapat menghambat pertumbuhan bakteri tetapi tidak untuk ragi dan dapat juga

mengendapkan asam urat. Sekitar 5 mg asam borat dapat digunakan untuk mengawetkan 50 ml urine.

c. Asam Sulfat

Asam sulfat dapat dipakai untuk mengawetkan urine pada penetapan kuantitatif kalsium, nitrogen, dan zat anorganik lain. Untuk penambahan bahan pengawet harus dijaga agar pH urine lebih rendah dari 4,5 (dikontrol dengan kertas pH). Reaksi asam mencegah terlepasnya nitrogen (N) dalam bentuk amoniak dan juga mencegah terjadinya endapan kalsiumfosfat.

2.7 Kreatinin

2.7.1 Fisiologi dan Biokimia

Kreatin disintesis dalam ginjal, liver dan pankreas oleh dua reaksi yang dikatalisis secara enzimatik. Mula-mula reaksi transamidasi dari arginin dan glisin membentuk asam guanidinasetat, selanjutnya terjadi reaksi metilasi dari asam guanidinasetat dengan S-adenosilmetionin sebagai donor metil. Kreatin selanjutnya diedarkan dalam darah ke organ lain seperti otot dan otak, di mana akan mengalami fosforilasi menjadi fosfokreatin, yaitu suatu senyawa yang mempunyai tingkat energi tinggi. Interkonversi dari fosfokreatin dan kreatin merupakan ciri khusus proses metabolik dari kontraksi otot. Sebagian dari kreatin bebas dalam otot secara spontan dan ireversibel diubah menjadi kreatinin (faulkner and King, 1982; Newman and Price, 2001).

Kadar kreatinin dan ekskresi kreatinin urine merupakan fungsi masa otot pada setiap orang normal dan menggambarkan sedikit respon pada perubahan diet. Jumlah kreatin dari masa otot adalah konstan, demikian juga laju pemecahan spontan dari kreatin juga konstan. Pada orang normal konsentrasi kreatinin plasma sangat stabil, variasinya kurang dari 10% per hari. Karena konsentrasi kreatinin serum merupakan refleksi langsung dari masa otot, maka tingkat kreatinin serum orang laki-laki lebih tinggi dari orang wanita. Kreatinin difiltrasi bebas di glomerulus dan di tubulus tidak diserap kembali. Sejumlah kecil kreatinin dalam urine merupakan hasil dari sekresi tubular. Karena sifat dari kreatinin, maka kliren kreatinin dapat digunakan untuk mengukur laju filtrasi glomerulus atau *glomerulus filtration rate* (GFR) (First, 1996; Kaplan and Szabo, 1983).

2.7.2 Pemeriksaan Kliren Kreatinin

Metode kimia yang lebih sensitif untuk menilai fungsi ginjal adalah kliren kreatinin. Tes kliren memberikan estimasi tentang jumlah plasma yang melewati glomerulus ginjal per menit melalui pembersihan menyeluruh kreatinin dengan menghitung jumlah kreatinin urine per menit. Tes ini membutuhkan urine kumpulan dalam periode waktu tertentu, yaitu urine 12 jam atau 24 jam. Selain itu juga diukur konsentrasi kreatinin urine dan kreatinin serum. Perhitungan kliren kreatinin adalah sebagai berikut :

$$\frac{U}{S} \times V$$

Jika dikoreksi terhadap luas permukaan tubuh, perhitungannya adalah sebagai berikut :

$$\frac{U}{S} \times V \times \frac{1,73}{A}$$

U adalah konsentrasi kreatinin urine dalam mg/dl, S adalah konsentrasi kreatinin serum dalam mg/dl dan V adalah volume urine per menit dalam ml. A adalah luas permukaan tubuh dalam m², sedangkan 1,73 adalah luas permukaan tubuh standar rata-rata orang dewasa. Kliren kreatinin dinyatakan dalam ml/menit.

Nilai normal kliren kreatinin tergantung metode yang digunakan, karena jumlah kromogen nonkreatinin pada plasma atau serum lebih besar daripada dalam urine. Kliren kreatinin dengan metode Jaffe, pada laki-laki dewasa nilai normalnya adalah 85-125 ml/min, sedang pada wanita adalah 77-117 ml/menit.

Nilai kliren kreatinin yang rendah pada penderita dengan kreatinin serum normal, dapat disebabkan oleh kesalahan pada pengumpulan urine atau kesalahan analisis kreatinin serum maupun kreatinin urine (Kaplan and Szabo, 1983).

2.7.3 Metode Pemeriksaan Kreatinin

Terdapat dua metode kreatinin dalam cairan tubuh yaitu enzimatik dan kimia.

a. Metode Kimia

Metode Jaffe untuk analisis kreatinin, merupakan metode kimia klinik tertua yang masih banyak digunakan. Reaksi ini mula-mula

dikemukakan oleh Jaffe pada tahun 1886, dimana kreatinin direaksikan dengan ion pikrat dalam suasana alkalis membentuk kompleks merah orange, yang disebut kompleks Janovski, dengan puncak serapan 520 nm. Pada tahun 1904, metode Jaffe sudah digunakan oleh Folin untuk menentukan kreatinin dalam urine dan darah (First,1996).

Keuntungan dari reaksi Jaffe adalah sederhana dan penggunaannya mendapat dukungan klinisi secara luas selama bertahun-tahun. Kerugian dari reaksi Jaffe adalah gangguan yang signifikan dari senyawa-senyawa selain kreatinin. Senyawa-senyawa tersebut dilaporkan membentuk kromogen seperti kreatinin, sehingga dapat menyebabkan hasil positif atau tinggi palsu pada reaksi Jaffe. Senyawa tersebut meliputi protein, glukosa, asam askorbat, aseton, asetoasetat, piruvat, guanidin dan sefalosporin. Tingkat gangguan ini tergantung kondisi reaksi dan oleh karena itu dilakukan beberapa pendekatan untuk memperbaiki spesifisitas reaksi Jaffe. Bilirubin dan hemoglobin dapat mengadakan oksidasi dengan basa kuat membentuk senyawa tidak berwarna, dan akan menyebabkan bias negatif, sehingga menurunkan pembacaan absorbansi dan hasil kreatinin menjadi rendah palsu. Bias negatif ini juga tampak pada analisis kreatinin dengan metode kinetik. Adanya senyawa kromogen nonkreatinin dapat menyebabkan over estimasi dari konsentrasi kreatinin serum yang sebenarnya sampai kurang lebih 20%. Tetapi kromogen nonkreatinin tidak mengganggu secara signifikan pada penentuan kreatinin urine.

Kontaminasi bakteri dapat terjadi pada sampel yang disimpan terlalu lama, dan ketika diperiksa dengan reaksi Jaffe, akan didapatkan kadar kreatinin rendah palsu. Mekanisme timbulnya gangguan ini adalah akibat pertumbuhan bakteri yang dapat memperlambat laju reaksi Jaffe. Dalam kasus ini jika tingkat gangguan rendah, dapat diatasi dengan memperpanjang waktu reaksi. Untuk meningkatkan spesifisitas pemeriksaan, modifikasi dari reaksi Jaffe telah dikembangkan seperti penggunaan sampel bebas protein pada serum (Newman and Price, 1999).

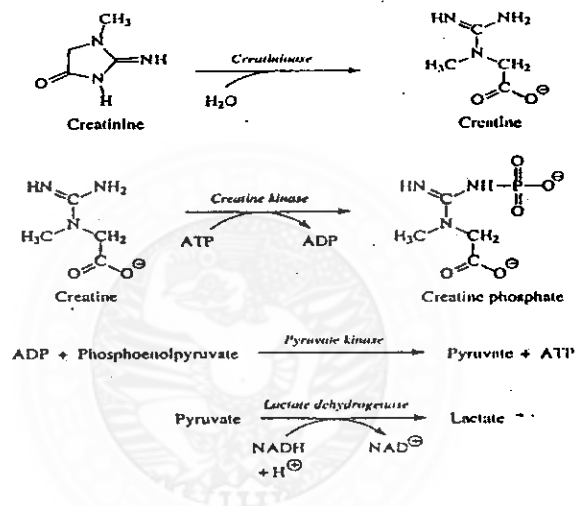
Metode kimia alternatif yang sekarang digunakan dalam praktek kimia klinik adalah metode kinetik pikrat alkalis. Metode kinetik untuk penentuan kreatinin pada prinsipnya menggunakan laju diferensial pembentukan warna untuk kromogen nonkreatinin terhadap kromogen kreatinin. Walaupun metode kinetik menurunkan gangguan secara signifikan yang disebabkan oleh kromogen nonkreatinin, senyawa-senyawa seperti bilirubin atau hemoglobin masih mengganggu dan dapat menurunkan konsentrasi kreatinin.

b. Metode Enzimatik

Metode-metode enzimatik untuk penentuan kreatinin telah banyak dikembangkan. Enzim-enzim dari jalur metabolik telah diteliti untuk penentuan secara enzimatik dari kreatinin. Kreatinin amidohidrolase, yang disebut juga kreatinase atau kreatinin hidrolase pada umumnya digunakan pada metode enzimatik untuk kreatinin.

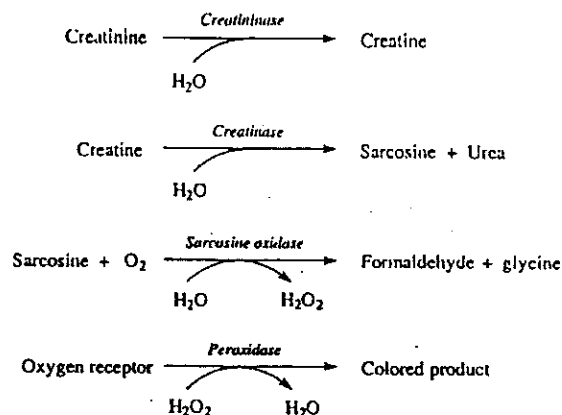
Enzim ini mengkatalisis perubahan kreatinin menjadi kreatin. Selanjutnya kreatin yang terbentuk dapat dideteksi, setelah diubah oleh reaksi berantai dengan dikatalisis oleh kreatin kinase, piruvat kinase dan laktat dehidrogenase. Penurunan NADH dapat diukur pada panjang gelombang 340 nm.

Reaksi :



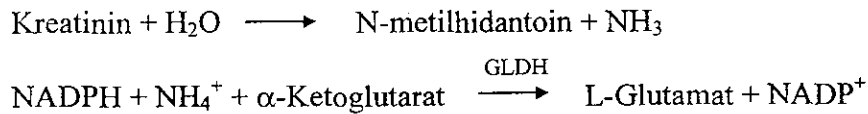
Reaksi enzimatik berikutnya adalah menghasilkan hidrogen peroksida, yang dapat diukur secara kolorimetrik dengan indikator warna yang sesuai.

Reaksi :



Metode enzimatik lain yang jarang dilakukan adalah pengukuran kreatinin dengan kreatinin deaminase atau kreatinin iminohidrolase.

Reaksi :



Dengan metode ini amonia dapat diukur secara langsung melalui pengamatan reaksi NADPH dengan α -ketoglutarat yang dikatalisis oleh glutamat dehidrogenase, atau menggunakan elektroda amonia. Pada metode ini campuran reaksi harus bebas dari amonia dan bahan-bahan yang mengandung amonia.

Pengukuran dan pemisahan kreatinin menggunakan HPLC disarankan sebagai metode referensi. Penentuan kreatinin dengan HPLC merupakan metode yang akurat, tepat dan spesifik (First,1996).

2.7.4 Spesimen

Spesimen untuk pemeriksaan kreatinin dapat berupa serum, plasma dan urine. Tidak ada perbedaan konsentrasi kreatinin antara serum dan plasma. Sedangkan konsentrasi kreatinin urine lebih tinggi dari kreatinin serum, kurang lebih 100 kali lebih besar dari kreatinin serum. Untuk pemeriksanan dari bahan urine, maka urine harus diencerkan sampai konsentrasi kreatinin kurang lebih 34-68 mg/L, yaitu dengan pengenceran 1 : 100. Umumnya pengawet yang digunakan adalah asam, yaitu asam klorida 6 N. Dibutuhkan kurang lebih 20 ml HCl 6 N untuk setiap

penentuan urine 24 jam. Jika dianalisis dengan reaksi Jaffe, spesimen serum stabil selama 7 hari dalam refrigerator (4°C) (Scholer, 1993; Tietz, 1982; Roche, 2000).

2.8 Penentuan Kalsium

Jumlah kalsium yang dikeluarkan ke dalam urine menggambarkan serapan usus, resorpsi skelet, juga filtrasi dan reabsorpsi renal tubular. Pada keadaan puasa usus dan komponen ginjal relatif tetap, dan ekskresi kalsium pada saat puasa digunakan untuk menilai komponen skelet. Kalsium urine yang melebihi 0,16 mg/100 ml dari filtrasi glomerulus biasanya menggambarkan resorpsi *osteoblastic bone*. Tes ini juga berguna untuk menilai penyakit batu ginjal dan *high turnover osteoporosis*.

Untuk memeriksa kalsium urine 24 jam, spesimen harus dikumpulkan dengan penambahan 20-30 ml HCl 6N pada setiap urine 24 jam, untuk mencegah presipitasi garam kalsium. Disarankan untuk mengoreksi kalsium urine yang mengalami pengenceran dengan adanya penambahan asam, karena jumlah asam yang ditambahkan dapat menyebabkan kesalahan yang signifikan sehingga dalam perhitungan hasil akhir, harus dikoreksi. Spesimen harus dikocok dengan baik selama pengumpulan.

2.8.1 Metode Pemeriksaan Total Kalsium

a. Metode Fotometrik

Kalsium total sering ditentukan dengan metode fotometri atau spektrofotometri melalui pembentukan produk reaksi yang berwarna oleh adanya indikator atau zat warna. Beberapa metode telah

diautomatisasi pada alat *autoanalyzer*. Walaupun banyak pembentuk warna yang digunakan, hanya dua yang dipakai secara luas sampai sekarang yaitu *o-cresolphthalein complexon* (CPC) dan *arsenazo III*. Berdasarkan survei *The College of American Pathologists Comprehensive Chemistry* pada tahun 1997 menunjukkan bahwa sebanyak 49% laboratorium partisipan menggunakan *arsenazo III* (Endres and Rude, 1999; Roche, 2000).

- Metode *O-Cresolphthalein Complexone* (CPC)

O-cresolphthalein complexone (CPC) atau 3',3''-bis((bis-(*carboxymethyl*)amino)-methyl)-5',5''-dimethylphenolphthalein)

dengan kalsium akan membentuk kromofor merah atau *red chromophore* dalam suasana basa, dan dapat diukur pada 570 sampai 580 nm. Sampel dilarutkan dengan asam untuk membebaskan ikatan protein dan kompleks kalsium serta untuk menghilangkan gangguan seperti protein dan anion yang lain. Sebagai bufer basa, yang sering digunakan adalah basa organik seperti dietilamin, 2-amino-2-metil-1-propanol atau 2-etilaminoetanol. Gangguan ion magnesium dapat dihilangkan dengan penambahan 8-hidroksiquinolin sebagai bufer reaksi supaya pH mendekati 12 dan pengukuran dilakukan pada 580 nm.

- Metode *Arsenazo III*

Arsenazo III atau (*1,8-dihydroxynaphthalene-3,6-disulphonic acid-2,7-bis(azo-2)-phenylarsonic acid*) digunakan sebagai reagen pengikat kalsium yang mempunyai afinitas tinggi dan spesifik

terhadap kalsium. Larutan harus dibufer karena sifat spektral arsenazo III tergantung pada pH. Sebagai bufer reaksi biasanya digunakan imidazole dengan pH 6. Ikatan kalsium dengan arsenazo III dapat dipengaruhi oleh konsentrasi bufer dan natrium. Sitrat dilaporkan dapat menyebabkan gangguan negatif dengan alat Johnson & Johnson Vitros *dry-slide* yang menggunakan tehnik arsenazo III. Gangguan pigmen biologis dapat dikurangi dengan melakukan pembacaan kompleks warna kalsium pada 650 nm. Reagen arsenazo III, stabil sebagai reagen tunggal (Endres and Rude, 1999).

b. Interferen pada penentuan kalsium

Perlu penanganan hati-hati terhadap spesimen, kalibrator dan larutan untuk mencegah kontaminasi dengan kalsium. Alat-alat gelas dan plastik yang digunakan kembali harus dicuci dan dibilas dengan aquades dan HCl encer, untuk menghilangkan kontaminasi kalsium.

Hemolisis, ikterus, lipemia, protein dan magnesium dilaporkan mengganggu pemeriksaan dengan metode fotometrik. Spesimen lipemik harus diultrasentrifugasi, sedangkan jika spesimen hemolisis harus dianalisis, dianjurkan menggunakan blanko *ethylene glycol tetraacetic acid* (EGTA). Metode dan instrumen harus dievaluasi kelemahannya terhadap gangguan seperti magnesium, hemoglobin, bilirubin, kekeruhan dan gangguan yang lain (Endres and Rude, 1999).

2.9 Penentuan Fosfat

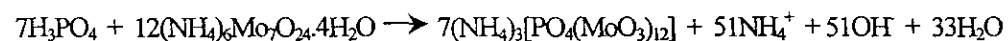
Fosfat urine jumlahnya bervariasi terkait dengan umur, masa otot, fungsi ginjal, PTH, waktu ke waktu dan beberapa faktor lain. Ekskresi fosfat terkait dengan diet dan pada dasarnya ekuivalen dengan asupan makanan. Pada diet yang tidak terbatas, interval referen untuk urine fosfat adalah 0,4 sampai 1,3 g/ 24 jam atau 12,9 sampai 42,0 mmol/24 jam

Untuk pemeriksaan fosfat urine, spesimen urine harus dikumpulkan dalam waktu 24 jam dengan menambahkan HCL 6 N sebanyak 20-30 ml, untuk mencegah presipitasi dari kompleks fosfat.

Metode Pemeriksaan fosfat

Fosfat serum berada dalam bentuk anion yaitu monovalen dan divalen fosfat. Perbandingan H_2PO_4^- dan HPO_4^{2-} bervariasi, kurang lebih 1:1 pada asidosis, 1:4 pada pH 7,4 dan 1:9 pada alkalosis. Kurang lebih 10% fosfat serum terikat dengan protein, 35% membentuk kompleks dengan natrium, kalsium dan magnesium. Sisanya, sebesar 55% dalam bentuk fosfat bebas. Walaupun fosfat organik dan anorganik kedua-duanya berada dalam darah, hanya fosfat anorganik yang ditentukan.

Penentuan fosfat serum didasarkan pada reaksi ion fosfat dengan amonium molibdat membentuk kompleks fosfomolibdat.



Kompleks fosfomolibdat yang tidak berwarna dapat diukur secara langsung dengan sinar UV, atau dapat direduksi membentuk molibdenum yang berwarna biru. Kompleks yang tidak berwarna dapat diukur pada

panjang gelombang 340 nm, sedangkan kompleks tereduksi biasanya diukur pada panjang gelombang 600-700 nm. Suasana asam atau pH asam dibutuhkan untuk pembentukan kompleks, tetapi harus dikontrol karena pembentukan kompleks dan reduksi molibdat kedua-duanya tergantung pH. Jika pH kurang asam akan menyebabkan reduksi spontan dari molibdat. Laju pembentukan kompleks juga dipengaruhi oleh konsentrasi protein, untuk itu zat pelarut dapat digunakan untuk mencegah presipitasi protein.

Penentuan kompleks yang tidak tereduksi mempunyai beberapa keuntungan dibanding metode tereduksi, yaitu sederhana, cepat dan stabil. Survei pada tahun 1997 menunjukkan bahwa lebih kurang 70% laboratorium yang merupakan anggota *College of American Pathologists Comprehensive Chemistry* menggunakan prosedur UV secara langsung.

Beberapa zat pereduksi yang digunakan untuk membentuk kompleks fosfomolibdat biru adalah asam aminonaftolsulfonat, *Stannous chloride*, metil-p-aminofenol sulfat, ferro amonium sulfat, asam askorbat dan *N-phenyl-p-phenyldiamine (semidine)* HCl. Ferro sulfat dan terutama asam askorbat sering digunakan untuk spesimen yang terdiri dari ester organik karena dapat mengurangi pemecahan ester organik yang labil. Asam aminonaftolsulfat digunakan secara luas tetapi tidak stabil, karena cenderung membentuk presipitat. Stano klorida memberikan intensitas warna yang lebih kuat. Hidrasin ditambahkan pada stano klorida untuk menstabilkan reagen dan memperbaiki linearitas. Metode semidin HCl dipublikasikan oleh *American Association for Clinical Chemistry*.

Selain itu kadar fosfat juga ditentukan dengan *vanadate-molybdate* dan metode enzimatik. Vanadat dan molibdat dengan fosfat membentuk kompleks berwarna kuning pada pH asam. Metode ini cenderung memberikan overestimasi pada penentuan fosfat anorganik karena hidrolisis dari ester organik. Metode enzimatik membutuhkan suasana pH netral, dimana ester organik tidak terhidrolisa. Beberapa enzim yang digunakan adalah (1) glikogen fosforilase, fosfoglukomutase dan glukosa-6-fosfatase dehidrogenase, yang menghasilkan nikotinamid-adenin dinukleotide fosfat atau NADPH, (2) purin nukleosida fosforilase dan xantin oksidase yang menghasilkan peroksida atau H_2O_2 dan (3) sukrosa fosforilase, fosfoglukomutase dan glukosa-6-dehidrogenase yang menghasilkan nikotinamid-adenin dinukleotide atau NADH (Endres and Rude, 1999; Roche, 2000).

BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual Penelitian

Komposisi dari urine meliputi senyawa organik dan anorganik. Komposisi tersebut meliputi senyawa-senyawa hasil metabolisme tubuh, seperti senyawa yang mengandung nitrogen yaitu urea, asam urat, kreatinin, kreatin, amonium, asam amino dan protein. Senyawa yang merupakan sisa hasil metabolisme karbohidrat yaitu glukosa, asam glukoronat, aseton, oksalat dan sitrat. Selain itu dalam urine juga terkandung enzim, hormon, pigmen dan elektrolit. Senyawa organik seperti bakteri, jamur dan parasit juga bisa didapatkan dalam urine. Selain itu kristal-kristal yang merupakan senyawa anorganik juga ditemukan dalam urine. Hasil pemeriksaan urine akan memberikan gambaran tingkat kesehatan ginjal dan saluran kemih (Schumann and Schweitzer, 1996; Colombo, 1993).

Urine dapat mengalami perubahan komposisi jika dibiarkan dalam suhu kamar untuk waktu yang cukup lama. Dari pengamatan, urine yang dibiarkan lebih dari 2 jam akan mengalami perubahan makroskopis, misalnya kekeruhan, warna dan bau. Penyebab dari perubahan komposisi urine adalah karena ketidakstabilan komponen-komponen karena proses oksidasi, fotolisis dan hidrolisis. Selain itu adanya aktifitas dan pertumbuhan bakteri juga menyebabkan perubahan komposisi urine. Perubahan komposisi tersebut misalnya terjadinya peningkatan jumlah bakteri, penurunan glukosa akibat

glikolisis, reduksi glukosa oleh bakteri, reduksi nitrat menjadi nitrit oleh bakteri dan kenaikan pH akibat produksi amonia sebagai hasil reduksi urea oleh bakteri. Selain itu akibat meningkatnya pH, garam-garam kalsium dan fosfat akan mengendap. Benda-benda berbentuk seperti leukosit dan eritrosit yang terdapat dalam urine dapat rusak dalam waktu 2 jam (Simindinger, Mansour, Slockbower, 1983; Ringsrud and Linne, 1995).

Pemeriksaan yang umumnya diminta untuk menilai laju filtrasi glomerulus atau *glomerular filtration rate* (GFR) adalah pemeriksaan kliren kreatinin, dimana untuk perhitungannya dibutuhkan pemeriksaan kreatinin urine dari urine kumpulan yaitu urine 24 jam atau 12 jam. Selain itu untuk pemeriksaan kuantitatif elektrolit dalam urine seperti kalsium dan fosfor juga dibutuhkan urine 24 jam. Karena urine yang digunakan adalah urine kumpulan maka sebelum dilakukan pemeriksaan, selama waktu pengumpulan urine harus disimpan. Penyimpanan urine dapat menyebabkan perubahan komposisi urine, sehingga hal ini dapat menyebabkan kesalahan hasil pemeriksaan, selain itu akibat pertumbuhan bakteri juga dapat mengganggu pemeriksaan. Dengan demikian didapatkan hasil pemeriksaan yang tidak sesuai dengan kondisi penderita, sementara untuk kepentingan diagnosis dibutuhkan hasil pemeriksaan dengan validitas yang tinggi.

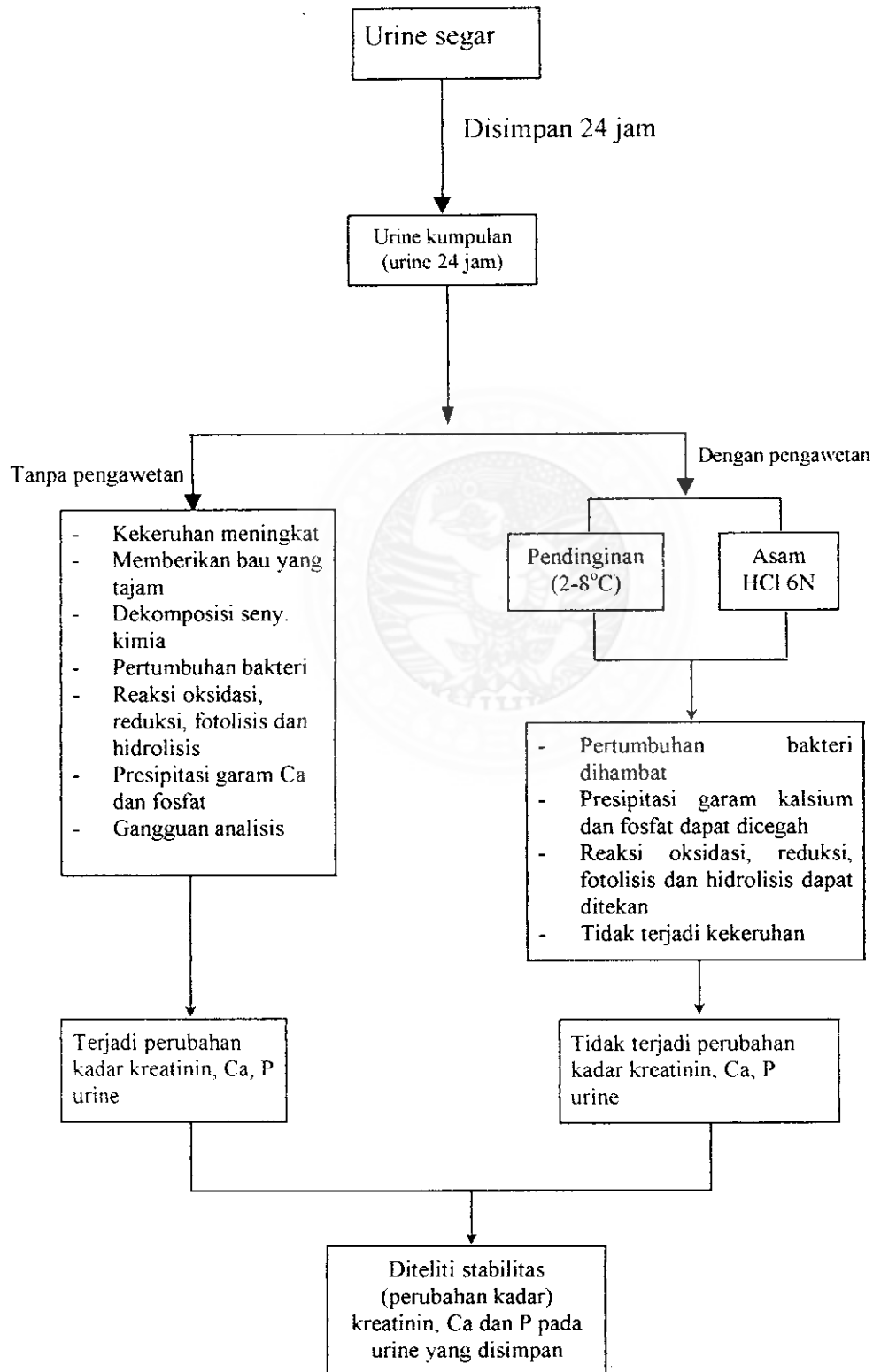
Untuk mencegah perubahan komposisi urine maka harus digunakan suatu cara penyimpanan yang dapat mempertahankan komposisi asli dari urine. Beberapa cara penyimpanan adalah dengan pendinginan (menyimpannya pada suhu 2-8°C) atau menambahkan bahan pengawet kimia.

Pendinginan akan mencegah pertumbuhan bakteri dan terhindar dari kontaminasi akibat penambahan pengawet. Jika digunakan pengawet harus dipilih yang tidak mengganggu pemeriksaan, tetapi dapat mempertahankan komponen yang diperiksa. Kreatinin adalah suatu senyawa yang relatif stabil, tetapi akibat pertumbuhan bakteri kadar kreatinin dapat menurun seiring laju pertumbuhan bakteri (First, 1996). Karena itu untuk pemeriksaan kreatinin urine cara menyimpan yang paling banyak dianjurkan adalah dengan menyimpannya pada almari es atau menambahkan bahan pengawet. Pendinginan akan mencegah pertumbuhan bakteri yang dapat mengganggu pemeriksaan kreatinin. Untuk senyawa elektrolit dalam urine seperti kalsium dan fosfat yang stabil pada pH rendah maka pengawet yang paling baik digunakan adalah pengawet asam yaitu asam klorida. Pengasaman dapat mencegah presipitasi garam kalsium dan pembentukan kompleks fosfat (Tietz, 1982; First, 1996; Endres and Rude, 1999; Scholer, 1993).

Seringkali urine 24 jam untuk pemeriksaan kliren kreatinin, kalsium dan fosfat urine yang diterima di laboratorium tidak memenuhi syarat dalam pengumpulan urine yang benar. Selain tidak disimpan dalam almari es juga tidak ditambahkan bahan pengawet. Hal ini dapat menyebabkan kesalahan hasil pemeriksaan akibat perubahan komposisi dan pertumbuhan bakteri pada urine.

Untuk meningkatkan mutu pemeriksaan laboratorium akan dilakukan penelitian mengenai pengaruh penyimpanan terhadap kestabilan kreatinin, kalsium dan fosfat terbatas pada sampel urine yang disimpan selama 24 jam.

3.2 Skema Kerangka Konsep



3.3 Hipotesis Penelitian

- 3.3.1 Ada pengaruh cara penyimpanan terhadap perubahan kadar kreatinin, kalsium dan fosfat pada urine yang disimpan selama 24 jam.
- 3.3.2 Ada perbedaan bermakna antara perubahan kadar kreatinin, kalsium dan fosfat urine yang disimpan selama 24 jam pada suhu kamar dibandingkan dengan penyimpanan pada suhu kamar + HCl, suhu $2 - 8^{\circ}\text{C}$ dan suhu $2 - 8^{\circ}\text{C} + \text{HCl}$.



BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan sama subyek. Berdasarkan asal datanya maka penelitian ini tergolong pada penelitian primer (Zainuddin M., 2000).

4.2 Populasi dan Sampel

4.2.1 Populasi

Populasi dari penelitian ini adalah penderita rawat jalan maupun rawat inap RSUD Dr. Soetomo Surabaya, yang diperiksa kliren kreatinin, kalsium dan fosfat urine di Laboratorium Patologi Klinik RSUD Dr. Soetomo Surabaya.

4.2.2 Sampel

Sampel penelitian ini adalah urine segar yang diperoleh dari populasi penderita rawat jalan maupun rawat inap RSUD Dr. Soetomo yang diperiksa kliren kreatinin, kalsium dan fosfat urine dengan kriteria sebagai berikut :

- Usia dewasa (lebih dari 20 tahun), laki-laki atau wanita
- Pada wanita tidak sedang haid atau menstruasi
- Tidak mengkonsumsi obat-obatan seperti antibiotika
- Hasil pemeriksaan kreatinin serum sebesar 1,5 mg/dl atau lebih

4.2.3 Besar Sampel

Dalam penelitian ini akan diambil sampel urine sebanyak 30, dari 30 orang penderita.

Teknik Pengambilan sampel

Pengambilan sampel dilakukan dengan *selective sampling*. Dari penderita yang diperiksakan kliren kreatinin, kalsium dan fosfat urine yang memenuhi syarat inklusi dan eksklusi diambil sampel urine dari 30 orang penderita.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Klasifikasi variabel

Variabel bebas :

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah :

- Suhu penyimpanan
- Waktu penyimpanan
- Pengawet urine

Variabel tergantung :

- Kadar kreatinin urine
- Kadar kalsium urine
- Kadar fosfat urine

4.3.2 Definisi Operasional Variabel

a. Suhu penyimpanan

Adalah suhu yang digunakan untuk menyimpan urine segar, digunakan suhu kamar yaitu suhu ruangan dengan temperatur 25 - 30°C dan suhu refrigerator yaitu suhu dalam lemari es dengan temperatur 2 - 8 °C, kedua suhu tersebut dikontrol dengan termometer setiap hari.

b. Waktu penyimpanan

Adalah waktu 24 jam yang digunakan untuk menyimpan urine segar dengan tujuan untuk melihat stabilitas kadar kreatinin, kalsium dan fosfat urine dibandingkan dengan yang tidak disimpan.

c. Pengawet urine

Adalah asam klorida atau HCl 6 N yang ditambahkan sebanyak 0,1 ml pada 10 ml sampel urine segar yang disimpan selama 24 jam dengan tujuan untuk menjaga stabilitas kreatinin, kalsium dan fosfat urine.

d. Urine segar

Adalah urine yang baru dikeluarkan, ditampung dalam wadah yang bersih dan dalam waktu 1 jam diperiksa kadar kreatinin, kalsium dan fosfat urine.

e. Kadar kreatinin urine

Adalah kadar kreatinin yang diperoleh dari hasil pemeriksaan kreatinin dengan metode Jaffe, dari sampel urine yang tidak disimpan, disimpan pada suhu kamar selama 24 jam, disimpan pada suhu kamar selama 24 jam dengan penambahan HCl 6 N, disimpan pada suhu *refrigerator*

selama 24 jam dan disimpan pada suhu *refrigerator* selama 24 jam dengan penambahan HCl 6 N.

f. Kadar kalsium urine

Adalah kadar kalsium yang diperoleh dari hasil pemeriksaan kalsium dengan metode *arsenazo III*, dari sampel urine yang tidak disimpan, disimpan pada suhu kamar selama 24 jam, disimpan pada suhu kamar selama 24 jam dengan penambahan HCl 6 N, disimpan pada suhu *refrigerator* selama 24 jam dan disimpan pada suhu *refrigerator* selama 24 jam dengan penambahan HCl 6 N.

g. Kadar fosfat urine

Adalah Kadar fosfat yang diperoleh dari hasil pemeriksaan fosfat dengan metode Amonium molibdat, dari sampel urine yang tidak disimpan, disimpan pada suhu kamar selama 24 jam, disimpan pada suhu kamar selama 24 jam dengan penambahan HCl 6 N, disimpan pada suhu *refrigerator* selama 24 jam dan disimpan pada suhu *refrigerator* selama 24 jam dengan penambahan HCl 6N.

4.4 Bahan Penelitian

- a. Bahan pengawet urine : HCl 6 N, sebanyak 0,1 ml untuk 10 ml urine
- b. Bahan pemeriksaan carik celup : Combur 10 Test M dari Roche
- c. Bahan untuk pemeriksaan kreatinin urine :
 - NaOH 0,20 mol/l
 - Asam Pikrat 25 mmol/L

d. Bahan untuk pemeriksaan fosfat urine :

- Asam sulfat 0,36 mol/
- Amonium molibdat 3,5 mmol/l

e. Bahan untuk pemeriksaan kalsium urine :

- Arsenazo III
- Buffer

4.5 Alat Penelitian

Alat untuk penampungan urine :

- Wadah atau pot plastik bertutup dengan kapasitas kurang lebih 100 ml

Alat untuk pembuatan HCL 6 N :

- Pipet ukur
- Labu erlenmeyer

Alat untuk penyimpanan urine :

- Gelas ukur
- Tabung plastik bertutup dengan kapasitas 10 ml
- Rak tabung
- Lemari es atau *refrigerator*

Alat untuk pemeriksaan carik celup :

- Miditron *urinalysis analyzer*

Alat untuk pemeriksaan kreatinin dan fosfat urine :

- *Autoanalyzer* HITACHI 704

Alat untuk pemerksaan kalsium urine :

- Fotometer Clinicon 4010

4.6 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Patologi Klinik RSUD Dr. Soetomo Surabaya, dengan kurun waktu antara bulan Mei s/d Juli 2003.

4.7 Prosedur Pengumpulan Data

a. Prosedur Penampungan Urine :

- Urine yang digunakan untuk bahan pemeriksaan adalah urine segar
- Urine segar yang baru dikeluarkan ditampung pada tempat yang telah disediakan (pot plastik bertutup) masing-masing untuk setiap penderita kurang lebih sebanyak 60 ml.
- Diperiksa dengan carik celup urine
- Selanjutnya urine dari setiap penderita, dibagi menjadi 5 bagian atau 5 tabung plastik masing-masing sebanyak 10 ml :
 - Bagian urine dalam tabung pertama tidak disimpan dan dalam waktu tidak lebih dari satu jam diperiksa kadar kreatinin, kalsium dan fosfat urine.
 - Bagian urine dalam tabung kedua disimpan selama 24 jam pada suhu kamar.
 - Bagian urine dalam tabung ketiga ditambah dengan 0,1 ml HCl 6 N dan disimpan selama 24 jam pada suhu kamar.
 - Bagian urine dalam tabung keempat disimpan selama 24 jam dalam *refrigerator* dengan suhu 2-8°C
 - Bagian urine dalam tabung kelima ditambah 0,1 ml HCL 6N dan disimpan selama 24 jam dalam *refrigerator*.

- setelah disimpan selama 24 jam, masing-masing urine dalam tabung kedua sampai kelima ditentukan kadar kreatinin urine, kalsium dan fosfat urine.

b. Prosedur pembuatan HCL 6 N :

- HCL 6 N dibuat dari pengenceran HCL pekat (konsentrasi HCL pekat 12 N)
- dibuat HCL 6 N sebanyak 15 ml, dengan perhitungan sebagai berikut:

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 \times 12 = 15 \times 6$$

$$12 V_1 = 90$$

$$V_1 = 7,5$$

- dipipet HCL pekat sebanyak 7,5 ml dan diencerkan dengan aquadest sampai 15 ml
- dikocok sampai homogen dan disimpan dalam labu erlenmeyer.

c. Pemeriksaan carik celup urine

Pemeriksaan makroskopis dan kimia dilakukan dengan menggunakan carik celup. Carik celup yang digunakan adalah Combur 10 test M dari Roche, carik celup ini dapat memeriksa 10 parameter urine.

Prinsip :

Pereaksi diresapkan (*impregnated*) pada kertas hisap yang ditempelkan berderet sepanjang kerangka plastik dengan ukuran 6 x 10 mm.

Permukaan kertas hisap ditutup (*laminated*) dengan nylon untuk menghindari kontaminasi dan terbuka disamping untuk perembesan urine.

Jika carik celup dicelupkan pada sampel urine akan timbul perubahan

warna. Intensitas warna yang terjadi pada carik celup sebanding dengan konsentrasi zat yang diperiksa dalam urine.

Prosedur Kerja :

1. carik celup dicelupkan sekejap (maksimum satu detik) ke dalam sampel urine.
2. carik celup dikeluarkan sambil disapukan pada pinggiran tabung penampung urine untuk membuang urine yang berlebihan dari carik celup.
3. setelah 30-60 detik, perubahan warna pada carik celup dibaca pada alat Miditron.
4. dievaluasi hasil pH dan nitrit urine

d. Pemeriksaan Kreatinin Urine

Kadar kreatinin diukur dengan *Autoanalyzer* HITACHI 704 dengan menggunakan reagen kreatinin Roche, katalog nomor 1489291.

Metode :

Reaksi Jaffe, pengukuran secara kolorimetrik kinetik tanpa deproteinisasi.

Prinsip :

Kreatinin dalam urine akan bereaksi dengan asam pikrat dalam suasana alkalis membentuk warna kuning merah.

Reagen :

- a. R1 Natrium hidroksida : 0,20 mol/l
- b. R2 Asam Pikrat : 25 mmol/l

e. Pemeriksaan Kalsium Urine

Kadar kalsium urine diukur dengan fotometer Clinicon 4010, menggunakan reagen kalsium DiaSys, katalog nomor 11309910021.

Metode Pemeriksaan :

Arsenazo III, pengukuran secara kolorimetrik dengan *endpoint* dan *blanko* reagen.

Prinsip Pemeriksaan :

Kalsium bereaksi dengan Arsenazo III dalam suasana netral, akan membentuk kompleks yang berwarna biru. Intensitas warna yang terbentuk sebanding dengan konsentrasi kalsium.

Reagen :

1. R1 Buffer :

Phosphate buffer pH 7,5 50 mmol/l.

2. R2 Chromogen :

Arsenazo III 120 mikromol/l, 8-hydroxyquinoline-5-sulfonic acid 5 mmol/l, detergents 10 mg/dl

f. Pemeriksaan Fosfat Urine

Kadar fosfat urine diukur dengan *Autoanalyzer* HITACHI 704 dengan menggunakan reagen fosfat Roche, katalog nomor 1489348.

Metode Pemeriksaan :

Amonium fosfomolibdat, metode *endpoint* dengan *blanko* sampel.

Prinsip Pemeriksaaan :

Fosfat anorganik dengan ammonium molibdat dalam asam sulfat akan membentuk kompleks ammonium fosfomolibdat. Kompleks ini dapat

diukur secara fotometris pada panjang gelombang 340 nm pada daerah ultra violet (UV).

Reagen :

1. R1 Blanko reagen :

Asam sulfat : 0,36 mol/l; detergent

2. R2 Reagen fosfat :

Amonium molibdat : 3,5 mmol/l; asam sulfat : 0,36 mol/l; natrium klorida : 150 mmol/l

Prosedur Kerja *Autoanalyzer* HITACHI 704 :

- tempat pembuangan patologis (sisa serum dan reagen) dikosongkan.
- diperiksa apakah kertas printer dan Hightergent masih cukup
- pipet sampel, pipet reagen dan pengaduk (*mixer*) dibersihkan dengan alkohol 70%
- disiapkan air secukupnya (buka kran) dan periksa kualitas air (*conductivity* < 25)
- alat dinyalakan pada posisi "ON"
- persiapan kalibrasi ; sampel cup ditempatkan pada posisi :
 - NaOH 1 N pada posisi W
 - NaCl 0,9% pada posisi S1
 - Kalibrator (C f.a.s.) pada posisi S2
 - Precinorm U pada posisi C1
 - Precipath U pada posisi C2
- dilakukan kalibrasi dan kontrol serum pada program rutin No. 3 :

- Std 1 untuk blanko reagen
- Std 2-6 untuk C F.a.s.
- Serum kontrol :
 - No. 1 untuk precinorm U
 - No. 2 untuk precipath U
- program rutin No. 4 *start condition* ; *Start up calibration* : *Yes*
- setelah nilai kontrol seluruh parameter masuk *range*, dapat dilakukan pemeriksaan

Prosedur Kerja Pemeriksaan kreatinin dan Fosfat urine :

- Urine dimasukkan sampel cup atau tempat sampel, ditempatkan pada posisi C3, C4 dan seterusnya tergantung jumlah sampel yang diperiksa
- Dipilih program rutin, dimasukkan No. posisi sampel, tekan “enter”, dimasukkan data identitas penderita, tekan “enter”.
- Dipilih pemeriksaan yang diminta yaitu kreatinin dan fosfat, tekan “enter”
- Tunggu hasil keluar, dan tercetak pada *print out* hasil

Prosedur Kerja Pemeriksaan Kalsium dengan Fotometer Clinicon

4010 :

	Blanko	Sample	Standart
Sample	-	10	-
Standart	-	-	10
Reagen	1000	1000	1000

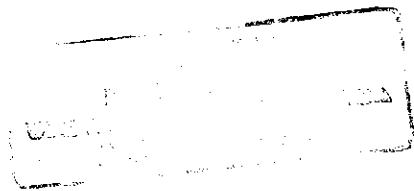
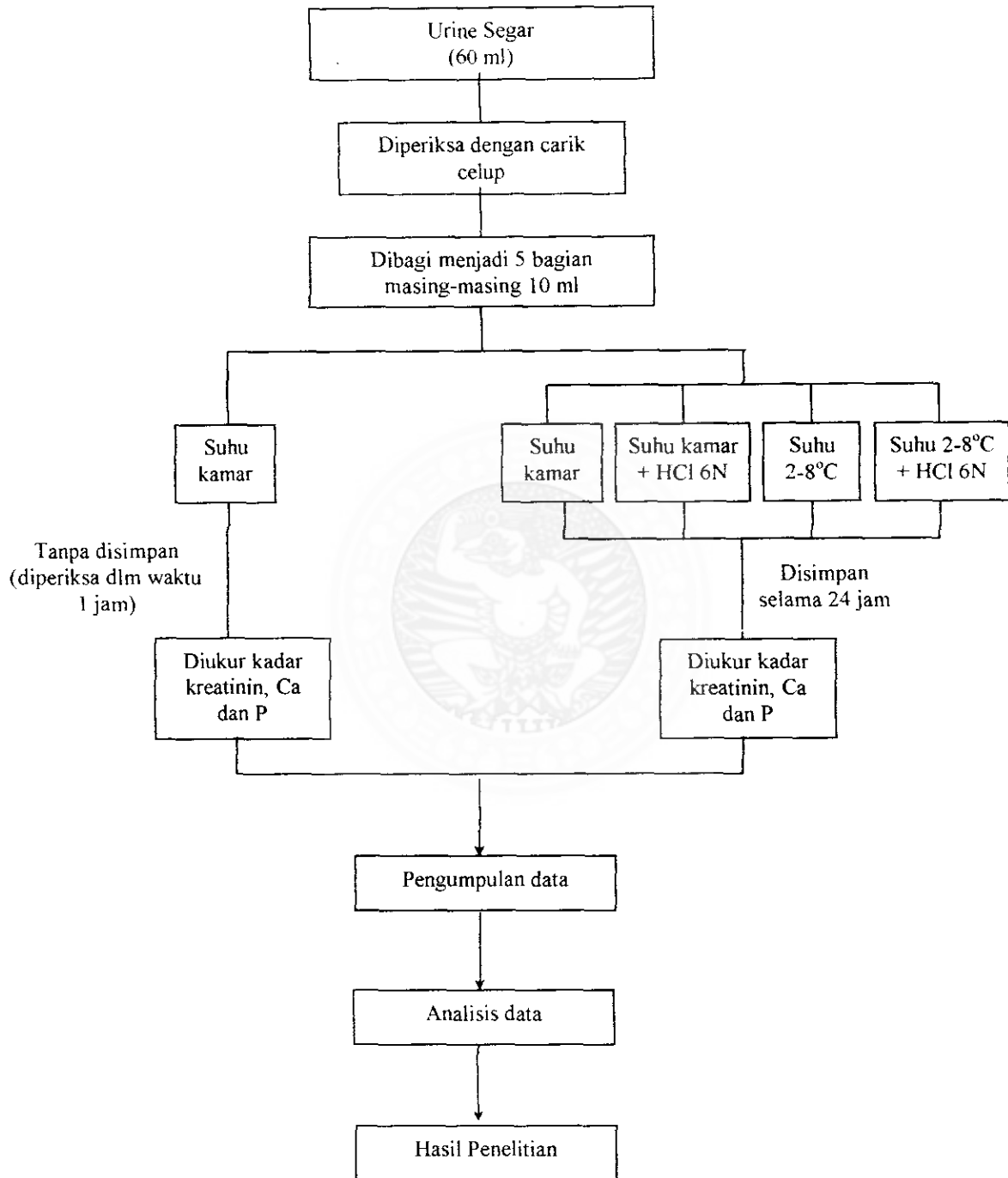
Campur, inkubasi selama 5 menit dan baca absorbansi sampel terhadap blanko reagen

4.8 Teknik Analisis Data

Dilakukan tabulasi data hasil pemeriksaan kadar kreatinin, kalsium dan fosfat urine. Selanjutnya dibuat tabulasi data perubahan kadar kreatinin, kalsium dan fosfat urine. Untuk pengolahan data digunakan ANAVA non parametrik Kruskal Wallis Test, jika terdapat perbedaan yang nyata maka dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney Test dengan derajat signifikan 5%.



4.9 Skema Alur Penelitian



BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Penelitian

5.1.1 Pemantapan Kualitas Pemeriksaan Kreatinin dan Fosfor

a. Penentuan impresisi dengan pemeriksaan duplikat

Penentuan impresisi dilakukan dengan memeriksa sepuluh sampel urine yang berasal dari sepuluh penderita yang berbeda. Pemeriksaan kadar kreatinin, kalsium dan kadar fosfor urine masing-masing dilakukan dua kali pemeriksaan atau duplikat.

Tabel 5.1 Hasil pemeriksaan duplikat kreatinin urine

No. penderita	Hasil 1 (mg/dl)	Hasil 2 (mg/dl)	Beda (d)	d ²
1.	74,49	73,88	0,61	0,3721
2.	30,31	30,39	0,08	0,0064
3.	13,52	13,55	0,03	0,0009
4.	181,34	180,54	0,80	0,6400
5.	97,08	97,03	0,05	0,0025
6.	60,78	61,09	0,31	0,0961
7.	50,88	50,25	0,63	0,3969
8.	35,11	35,46	0,35	0,1225
9.	24,27	26,42	2,15	4,6225
10	48,40	47,50	0,90	0,8100
				$\Sigma d^2 = 7,0699$

$$SD = \sqrt{\frac{\sum d^2}{2n}}$$

$$SD = \sqrt{\frac{7,0699}{2.10}}$$

$$SD = 0,59 \text{ mg/dl}$$

Dari penentuan impresisi dengan pemeriksaan duplikat kreatinin urine diperoleh

SD sebesar 0,59 mg/dl

Tabel 5.2 Hasil pemeriksaan duplikat fosfor urine.

No. penderita	Hasil 1 (mg/dl)	Hasil 2 (mg/dl)	Beda (d)	d ²
1.	12,8	13,0	0,2	0,04
2.	8,0	8,6	0,6	0,36
3.	10,7	10,0	0,7	0,49
4.	9,8	11,0	1,2	1,44
5.	18,7	19,2	0,5	0,25
6.	18,4	18,5	0,1	0,01
7.	15,1	18,3	3,2	10,24
8.	7,2	8,3	1,1	1,21
9.	18,5	18,6	0,1	0,01
10.	10,4	12,6	2,2	4,84
				$\Sigma d^2 = 18,89$

$$SD = \sqrt{\frac{\sum d^2}{2n}}$$

$$SD = \sqrt{\frac{18,89}{2.10}}$$

$$SD = 0,97 \text{ mg/dl}$$

Dari penentuan impresi dengan pemeriksaan duplikat fosfor urine diperoleh SD sebesar 0,97 mg/dl

Tabel 5.3 Hasil pemeriksaan duplikat Kalsium Urine.

No. penderita	Hasil 1 (mg/dl)	Hasil 2 (mg/dl)	Beda (d)	d ²
1.	12,7	12,1	0,6	0,36
2.	2,5	2,4	0,1	0,01
3.	8,4	8,0	0,4	0,16
4.	17,7	16,9	0,8	0,64
5.	3,3	3,2	0,1	0,01
6.	3,5	3,4	0,1	0,01
7.	7,3	7,0	0,3	0,09
8.	22,4	23,3	0,9	0,81
9.	11,4	12,1	0,7	0,49
10.	8,3	9,3	1,0	1,0
				$\Sigma d^2 = 3,58$

$$SD = \sqrt{\frac{\sum d^2}{2n}}$$

$$SD = \sqrt{\frac{3,8}{2 \cdot 10}}$$

$$SD = 0,44 \text{ mg/dl}$$

Dari penentuan impresisi dengan pemeriksaan duplikat Kalsium diperoleh SD sebesar 0,44 mg/dl.

b. Penentuan inakurasi dengan bahan kontrol

Pada penentuan inakurasi digunakan bahan kontrol akurasi atau *assayed control sera* yang kadar setiap komponennya diketahui atau dinyatakan sebagai nilai rujukan. Apabila nilai hasil pemeriksaan bahan kontrol terletak didalam daerah kontrol tertentu atau di dalam nilai rujukan maka dapat dianggap bahwa hasil pemeriksaan sampel pasien cukup tepat dan terandalkan.

Tabel 5.4 Hasil pemeriksaan kreatinin dengan *assayed control sera* (PNU)

No.	Hasil (mg/dl)	Rentang nilai (mg/dl)
1.	1,41	1,03 – 1,48
2.	1,34	(nilai tengah 1,25)
3.	1,36	
4.	1,34	
5.	1,37	
6.	1,39	
7.	1,37	
8.	1,36	
9.	1,37	
10.	1,40	

$$\sum X_i = 13,71$$

$$\bar{X} = \frac{\sum X_i}{n}$$

$$= \frac{13,71}{10}$$

$$= 1,37 \text{ mg/dl}$$

Dari hasil penentuan kreatinin *assayed control sera* (PNU) diperoleh nilai rata-rata sebesar 1,371 mg/dl

Tabel 5.5 Hasil Pemeriksaan Fosfor dengan *Assayed Control Sera* (PNU)

No.	Hasil	Rentang nilai (mg/dl)
1.	4,4	3,23 – 4,38
2.	4,1	(nilai tengah 3,81)
3.	4,2	
4.	4,2	
5.	5,2	
6.	3,3	
7.	3,2	
8.	4,4	
9.	3,5	
10.	3,7	

$$\sum X_i = 40,2$$

$$\bar{X} = \frac{\sum X_i}{n}$$

$$= \frac{40,2}{10}$$

$$= 4,02 \text{ mg/dl}$$

Dari hasil penentuan *assayed control sera* (PNU) diperoleh nilai rata-rata sebesar 4,02 mg/dl.

5.1.2 Pemantapan Kualitas Pemeriksaan Kalsium

Pemantapan kualitas terhadap pemeriksaan kalsium urine pada fotometer Clinicon 4010 dilakukan dengan menggunakan bahan kontrol serum assayed (PNU).

Tabel 5.6 Hasil Pemeriksaan Kalsium dengan *Assayed Control Sera* (PNU)

No.	Hasil (mg/dl)	Rentang nilai (mg/dl)
1.	8,50	7,90 – 10,10
2.	9,02	(Nilai tengah 8,98)
3.	8,47	
4.	9,42	
5.	8,85	
6.	8,90	
7.	8,75	
8.	9,50	
9.	9,34	
10.	8,01	

$$\sum X_i = 88,76$$

$$\bar{X} = \frac{\sum X_i}{n}$$

$$= \frac{88,76}{10}$$

$$= 8,88 \text{ mg/dl}$$

Dari hasil penentuan assayed control sera (PNU) diperoleh nilai rata-rata sebesar 8,88 mg/dl.

5.1.3 Hasil Pemeriksaan Kreatinin Urine Tanpa Penyimpanan, Penyimpanan 24 Jam pada Suhu Kamar + HCl, Penyimpanan 24 Jam pada Suhu 2 – 8 ° C, Penyimpanan 24 Jam pada Suhu 2- 8°C + HCl.

Sampel urine diperoleh dari 30 orang penderita yang memenuhi kriteria penerimaan sampel , terdiri dari 18 orang penderita pria dan 12 orang penderita wanita dengan kelompok umur 35 –55 tahun. Pemeriksaan kreatinin urine dilakukan pada auto analyzer Hitachi 704. Sebelumnya dilakukan pemeriksaan carik celup dengan alat Miditron.

Tabel 5.7 Hasil Pemeriksaan Kadar Kreatinin Urin (mg/dl) pada berbagai Penyimpanan

N	Perlakuan				
	Tanpa Penyimpanan	Penyimpanan 24 jam			
		Suhu Kamar	SK + HCl	Suhu 2-8°C	Suhu 2-8°C+HCl
1	49.94	46.95	49.44	49.93	50.22
2	41.46	41.81	41.59	42.21	41.45
3	36.07	36.24	37.02	36.36	36.21
4	41.03	41.71	41.74	42.65	41.77
5	58.36	51.83	59.70	60.17	58.97
6	150.78	149.20	150.10	151.61	150.62
7	80.80	75.40	75.60	77.20	78.10
8	111.99	99.91	98.71	106.86	99.50
9	18.96	17.15	18.84	18.55	18.80
10	138.56	113.22	137.43	139.11	138.51
11	18.35	16.99	18.28	17.99	18.42
12	51.51	48.44	48.81	49.42	49.10
13	88.69	82.71	83.14	87.84	84.22
14	58.95	55.53	57.58	58.53	57.56
15	43.60	40.77	40.92	42.60	41.67
16	167.85	157.41	165.16	170.45	167.68
17	58.78	58.19	59.21	59.65	58.70
18	123.30	123.30	116.30	120.40	116.90
19	97.01	97.79	97.28	98.01	96.87
20	45.35	45.45	44.85	45.25	45.11
21	33.12	33.72	33.44	33.71	32.94
22	125.83	123.16	124.72	125.11	125.14
23	98.94	98.45	97.94	98.10	98.50
24	146.00	142.70	145.70	147.10	148.00
25	45.40	42.00	41.05	43.30	45.15
26	218.10	212.50	214.10	216.30	216.80
27	72.20	72.50	72.80	69.70	71.75
28	115.60	112.35	114.10	110.25	112.75
29	125.94	122.71	124.01	125.02	123.07
30	147.70	144.70	145.90	144.00	146.20

Tabel 5.8. Data Lengkap Hasil Perubahan Kadar Kreatinin Urin (mg/dl) pada berbagai Penyimpanan

n	Perlakuan (Penyimpanan 24 jam)			
	Suhu Kamar	SK + HCl	Suhu 2-8°C	Suhu 2-8°C+HCl
1	2.99	0.50	0.01	-0.28
2	-0.35	-0.13	-0.75	0.01
3	-0.17	-0.95	-0.29	-0.14
4	-0.68	-0.71	-1.62	-0.74
5	6.53	-1.34	-1.81	-0.61
6	1.58	0.68	-0.83	0.16
7	5.40	5.20	3.60	2.70
8	12.08	13.28	5.13	12.49
9	1.81	0.12	0.41	0.16
10	25.34	1.13	-0.55	0.05
11	1.36	0.07	0.36	-0.07
12	3.07	2.70	2.09	2.41
13	5.98	5.55	0.85	4.47
14	3.42	1.37	0.42	1.39
15	2.83	2.68	1.00	1.93
16	10.44	2.69	-2.60	0.17
17	0.59	-0.43	-0.87	0.08
18	8.00	7.00	2.90	6.40
19	-0.78	-0.27	-1.00	0.14
20	-0.10	0.50	0.10	0.24
21	-0.60	-0.32	-0.59	0.18
22	2.67	1.11	0.72	0.69
23	0.49	1.00	0.84	0.44
24	3.30	0.30	-1.10	-2.00
25	3.40	4.35	2.10	0.25
26	5.60	4.00	1.80	1.30
27	-0.30	-0.60	2.50	0.45
28	3.25	1.50	5.35	2.85
29	3.23	1.93	0.92	2.87
30	2.80	1.80	3.70	1.50
Jumlah	113.2	54.7	22.8	39.5
Rerata	3.8	1.8	0.7	1.3
SD	5.3	3.0	1.9	2.7
Maksimum	25.3	13.3	5.4	12.5
Minimum	-0.8	-1.3	-2.6	-2.0

5.1.4 Hasil Pemeriksaan Kalsium Urine Tanpa Penyimpanan, Penyimpanan 24 Jam pada Suhu Kamar + HCl, Penyimpanan 24 Jam pada Suhu 2-8°C, Penyimpanan 24 Jam pada Suhu 2-8°C +HCl.

Sampel urine diperoleh dari 30 orang penderita yang memenuhi kriteria penerimaan sampel, terdiri dari 17 orang penderita pria dan 13 orang penderita wanita dengan kelompok umur 35-55 tahun. Pemeriksaan kalsium urine dilakukan pada alat Clinicon 4010. Sebelumnya dilakukan pemeriksaan carik celup dengan alat Mditron.



Tabel 5.9 Hasil Pemeriksaan Kadar Kalsium Urin (mg/dl) pada berbagai Penyimpanan

n	Perlakuan				
	Tanpa Penyimpanan	Penyimpanan 24 jam			
		Suhu Kamar	SK + HCl	Suhu 2-8°C	Suhu 2-8°C+HCl
1	12.7	11.1	11.6	12.7	11.5
2	2.5	0.5	0.9	1.0	0.7
3	8.4	6.3	6.9	6.5	6.8
4	17.7	16.5	17.0	17.2	16.8
5	3.3	1.8	2.0	1.9	1.7
6	3.5	3.2	3.0	3.4	3.0
7	7.3	6.8	7.2	7.1	7.3
8	22.4	19.8	20.8	21.2	21.4
9	11.4	10.7	11.1	11.3	11.3
10	8.3	6.4	7.1	6.3	6.4
11	4.7	1.8	4.2	3.0	3.2
12	4.2	2.7	3.2	2.7	3.3
13	4.2	1.0	3.6	2.0	3.0
14	10.0	7.5	7.4	7.2	6.3
15	20.7	10.0	10.2	9.9	10.4
16	5.6	2.0	1.8	2.5	2.3
17	4.6	0.5	0.9	0.8	0.8
18	15.6	8.2	14.0	14.2	14.6
19	4.8	0.7	0.7	1.5	1.5
20	3.0	0.4	0.4	0.6	0.4
21	5.6	2.6	4.4	3.8	4.0
22	5.8	0.2	5.8	4.2	5.2
23	4.3	0.7	1.1	1.1	1.4
24	3.0	0.1	0.8	0.5	0.8
25	7.2	4.4	7.0	6.4	6.8
26	8.4	7.9	8.7	8.3	8.7
27	3.6	3.0	4.0	3.8	4.1
28	26.4	24.6	26.9	26.4	25.7
29	33.8	30.7	33.0	32.7	33.9
30	5.5	4.3	4.7	4.5	4.9

Tabel 5.10 Data Lengkap Hasil Penghitungan Perubahan Kadar Kalsium Urin (mg/dl) pada Berbagai Perlakuan

n	Perlakuan (Penyimpanan 24 jam)			
	Suhu Kamar	SK + HCl	Suhu 2-8°C	Suhu 2-8°C+HCl
1	1.6	1.1	0.0	1.2
2	2.0	1.6	1.5	1.8
3	2.1	1.5	1.9	1.6
4	1.2	0.7	0.5	0.9
5	1.5	1.3	1.4	1.6
6	0.3	0.5	0.1	0.5
7	0.5	0.1	0.2	0.0
8	2.6	1.6	1.2	1.0
9	0.7	0.3	0.1	0.1
10	1.9	1.2	2.0	1.9
11	2.9	0.5	1.7	1.5
12	1.5	1.0	1.5	0.9
13	3.2	0.6	2.2	1.2
14	2.5	2.6	2.8	3.7
15	10.7	10.5	10.8	10.3
16	3.6	3.8	3.1	3.3
17	4.1	3.7	3.8	3.8
18	7.4	1.6	1.4	1.0
19	4.1	4.1	3.3	3.3
20	2.6	2.6	2.4	2.6
21	3.0	1.2	1.8	1.6
22	5.6	0.0	1.6	0.6
23	3.6	3.2	3.2	2.9
24	2.9	2.2	2.5	2.2
25	2.8	0.2	0.8	0.4
26	0.5	-0.3	0.1	-0.3
27	0.6	-0.4	-0.2	-0.5
28	1.8	-0.5	0.0	0.7
29	3.1	0.8	1.1	-0.1
30	1.2	0.8	1.0	0.6
Jumlah	82.1	48.1	53.8	50.3
Rerata	2.7	1.6	1.8	1.7
SD	2.2	2.1	2.0	2.0
Maksimum	10.7	10.5	10.8	10.3
Minimum	0.3	-0.5	-0.2	-0.5

5.1.5 Hasil Pemeriksaan Fosfor Urine Tanpa Penyimpanan, Penyimpanan 24 Jam pada Suhu Kamar + HCl, Penyimpanan 24 Jam pada Suhu 2 – 8 ° C, Penyimpanan 24 Jam pada Suhu 2- 8°C + HCl.

Sampel urine diperoleh dari 30 orang penderita yang memenuhi kriteria penerimaan sampel , terdiri dari 19 orang penderita pria dan 11 orang penderita wanita dengan kelompok umur 35 –55 tahun. Pemeriksaan fosfor urine dilakukan pada auto analyzer Hitachi 704. Sebelumnya dilakukan pemeriksaan carik celup dengan alat Miditron.



Tabel 5.11 Hasil Pemeriksaan Kadar Fosfor Urin (mg/dl) pada Berbagai Perlakuan

N	Perlakuan				
	Tanpa Penyimpanan	Penyimpanan 24 jam			
		Suhu Kamar	SK + HCl	Suhu 2-8°C	Suhu 2-8°C+HCl
1	14.8	13.7	14.0	14.2	14.9
2	21.7	20.6	21.2	21.0	21.5
3	43.7	39.8	40.8	41.1	41.7
4	18.7	16.8	17.1	17.0	17.3
5	18.3	17.1	17.1	17.4	16.7
6	5.7	3.2	3.9	3.4	3.6
7	10.5	7.6	7.4	7.7	7.6
8	10.8	9.8	9.7	10.1	9.9
9	19.4	18.4	19.1	18.5	18.6
10	12.9	12.2	12.7	12.7	12.6
11	18.7	18.5	19.1	19.0	18.5
12	19.3	18.9	19.0	19.0	18.5
13	21.2	19.8	19.9	19.9	19.9
14	20.5	19.1	19.8	18.7	19.8
15	45.5	40.5	41.0	40.8	41.0
16	22.4	19.1	21.1	19.8	21.1
17	20.5	17.6	20.6	18.8	20.6
18	21.4	20.0	20.3	19.0	20.3
19	41.1	38.7	39.2	38.3	39.2
20	40.2	38.4	39.0	38.8	39.3
21	20.1	19.7	19.8	20.0	20.3
22	19.0	18.2	18.6	18.4	18.8
23	12.3	11.6	12.0	11.9	12.2
24	40.6	37.9	38.7	39.2	38.9
25	46.2	28.4	46.0	45.7	46.4
26	40.2	38.4	39.2	40.2	40.9
27	20.1	19.7	19.2	20.4	20.2
28	19.0	18.2	19.1	19.4	19.9
29	12.3	11.6	12.3	12.0	11.9
30	40.6	37.9	38.2	39.2	39.9

Tabel 5.12 Data Lengkap Hasil Penghitungan Perubahan Kadar Fosfor Urin (mg/dl) pada Berbagai Perlakuan

n	Perlakuan (Penyimpanan 24 jam)			
	Suhu Kamar	SK + HCl	Suhu 2-8°C	Suhu 2-8°C+HCl
1	1.1	0.8	0.6	-0.1
2	1.1	0.5	0.7	0.2
3	3.9	2.9	2.6	2.0
4	1.9	1.6	1.7	1.4
5	1.2	1.2	0.9	1.6
6	2.5	1.8	2.3	2.1
7	2.9	3.1	2.8	2.9
8	1.0	1.1	0.7	0.9
9	1.0	0.3	0.9	0.8
10	0.7	0.2	0.2	0.3
11	0.2	-0.4	-0.3	0.2
12	0.4	0.3	0.3	0.8
13	1.4	1.3	1.3	1.3
14	1.4	0.7	1.8	0.7
15	5.0	4.5	4.7	4.5
16	3.3	1.3	2.6	1.3
17	2.9	-0.1	1.7	-0.1
18	1.4	1.1	2.4	1.1
19	2.4	1.9	2.8	1.9
20	1.8	1.2	1.4	0.9
21	0.4	0.3	0.1	-0.2
22	0.8	0.4	0.6	0.2
23	0.7	0.3	0.4	0.1
24	2.7	1.9	1.4	1.7
25	17.8	0.2	0.5	-0.2
26	1.8	1.0	0.0	-0.7
27	0.4	0.9	-0.3	-0.1
28	0.8	-0.1	-0.4	-0.9
29	0.7	0.0	0.3	0.4
30	2.7	2.4	1.4	0.7
Jumlah	66.3	32.6	36.1	25.7
Rerata	2.2	1.1	1.2	0.9
SD	3.2	1.1	1.2	1.1
Maksimum	17.8	4.5	4.7	4.5
Minimum	0.2	-0.4	-0.4	-0.9

5.2 Analisis Data

Berdasarkan tingkat kemaknaan (α) sebesar 0,05 (5%) maka perbedaan dianggap bermakna (Significant / S) jika $p < 0,05$ dan tidak bermakna (Non Significant /NS) jika $p > 0,05$.

5.2.1 Analisis Statistik Non Parametrik Kruskal-Wallis Pengaruh Cara Penyimpanan Terhadap Perubahan Kadar Kreatinin Urine

Dari hasil analisis statistik non parametrik Kruskal-Wallis Test pengaruh cara penyimpanan terhadap perubahan kadar kreatinin, didapatkan nilai $p = 0,011$ yang berarti terdapat perbedaan yang bermakna antar perlakuan. Kemudian analisis statistik dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney Test. Perubahan kadar kreatinin urine yang disimpan selama 24 jam pada suhu kamar menunjukkan perbedaan yang bermakna dibandingkan dengan perubahan kadar kreatinin urine yang disimpan selama 24 jam pada suhu kamar + HCl ($p = 0,047$), berbeda bermakna dibandingkan dengan perubahan kadar kreatinin yang disimpan selama 24 jam pada suhu 2-8°C ($p = 0,002$) dan berbeda bermakna dibandingkan dengan perubahan kadar kreatinin urine yang disimpan selama 24 jam pada suhu 2-8°C + HCL ($p = 0,015$).

Perubahan kadar kreatinin pada penyimpanan suhu kamar + HCl tidak berbeda bermakna jika dibandingkan dengan penyimpanan suhu 2-8°C ($p=0,167$) dan suhu 2-8°C + HCl ($p=0,584$). Sedangkan penyimpanan pada suhu 2-8°C tidak berbeda bermakna jika dibandingkan dengan suhu 2-8°C + HCl ($p=0,492$). Hasil analisis statistik lengkap terdapat pada lampiran 4.

5.2.2 Analisis Statistik Non Parametrik Kruskal-Wallis Pengaruh Cara Penyimpanan Terhadap Perubahan Kadar Kalsium Urine

Dari hasil analisis statistik non parametrik Kruskal-Wallis Test pengaruh cara penyimpanan terhadap perubahan kadar kalsium, didapatkan nilai $p = 0,015$ yang berarti terdapat perbedaan yang bermakna antar perlakuan. Kemudian analisis statistik dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney Test. Perubahan kadar kalsium urine yang disimpan selama 24 jam pada suhu kamar menunjukkan perbedaan yang bermakna dibandingkan dengan perubahan kadar kalsium urine yang disimpan selama 24 jam pada suhu kamar + HCl ($p = 0,005$), berbeda bermakna dibandingkan dengan perubahan kadar kalsium yang disimpan selama 24 jam pada suhu $2-8^{\circ}\text{C}$ ($p = 0,017$) dan berbeda bermakna dibandingkan dengan perubahan kadar kalsium urine yang disimpan selama 24 jam pada suhu $2-8^{\circ}\text{C} + \text{HCl}$ ($p = 0,011$).

Perubahan kalsium pada penyimpanan suhu kamar + HCl tidak berbeda bermakna jika dibandingkan dengan penyimpanan suhu $2-8^{\circ}\text{C}$ ($p = 0,442$) dan suhu $2-8^{\circ}\text{C} + \text{HCl}$ ($p = 0,722$). Sedangkan penyimpanan pada suhu $2-8^{\circ}\text{C}$ tidak berbeda bermakna jika dibandingkan dengan suhu $2-8^{\circ}\text{C} + \text{HCl}$ ($p = 0,652$). Hasil analisis statistik lengkap terdapat pada lampiran 5.

5.2.3 Analisis Statistik Non Parametrik Kruskal-Wallis Pengaruh Cara Penyimpanan Terhadap Perubahan Kadar fosfor Urine

Dari hasil analisis statistik non parametrik kruskal-Wallis Test pengaruh cara penyimpanan terhadap perubahan kadar fosfat, didapatkan nilai $p = 0,018$ yang berarti terdapat perbedaan yang bermakna antar perlakuan. Kemudian analisis

statistik dilanjutkan dengan Mann-Whitney Test. Perubahan kadar fosfor urine yang disimpan selama 24 jam pada suhu kamar menunjukkan perbedaan yang bermakna dibandingkan dengan perubahan kadar fosfor urine yang disimpan selama 24 jam pada suhu kamar + HCl ($p = 0,023$), berbeda bermakna dibandingkan dengan perubahan kadar fosfor urine yang disimpan selama 24 jam pada suhu 2-8°C ($p = 0,03$) dan berbeda bermakna dibandingkan dengan perubahan kadar fosfor urine yang disimpan selama 24 jam pada suhu 2-8°C + HCl ($p = 0,03$).

Perubahan fosfor pada penyimpanan suhu kamar + HCl tidak berbeda bermakna dibandingkan dengan penyimpanan suhu 2-8°C ($p = 0,790$) dan suhu 2-8°C + HCl ($p = 0,351$). Sedangkan penyimpanan pada suhu 2-8°C tidak berbeda bermakna jika dibandingkan dengan suhu 2-8°C + HCl ($p = 0,300$). Hasil analisis statistik lengkap terdapat pada lampiran 6.

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 Pemantapan Kualitas

Pemantapan kualitas untuk pemeriksaan kreatinin dan fosfor urine dilakukan dengan menentukan impresisi melalui pemeriksaan duplikat pada sepuluh sampel urine. Metode untuk pemeriksaan kreatinin adalah reaksi Jaffe kinetik tanpa deproteinasi dan fosfat urine ditentukan dengan metode ammonium molibdat. Untuk pemeriksaan kreatinin urine diperoleh SD sebesar 0,59 mg/, sedangkan untuk pemeriksaan fosfor urine diperoleh SD sebesar 0,97 mg/dl. Selain itu juga digunakan precinorm U, yaitu bahan kontrol dalam bentuk serum (assayed sera). Hasil pemeriksaan kreatinin dengan precinorm U, semua hasil yang diperoleh masuk dalam rentang nilai rujukan, dan diperoleh nilai rata-rata sebesar 1,37 mg/dl (rentang nilai rujukan : 1,03 – 1,48 mg/dl). Sedangkan hasil pemeriksaan fosfor dengan precinorm U, ada hasil yang tidak masuk dalam rentang nilai rujukan, tetapi diperoleh nilai rata-rata 4,02 mg/dl (rentang nilai rujukan : 3,23 - 4,38 mg/dl)

Pada pemeriksaan kalsium urine digunakan fotometer Clinicon 4010 yang menggunakan reagen DiaSys. Pemantapan kualitas menggunakan bahan kontrol dalam bentuk serum (PNU). Selain itu juga dilakukan penentuan impresisi dengan melakukan pemeriksaan duplikat pada sepuluh sampel urine. Hasil pemeriksaan duplikat kalsium urine diperoleh nilai SD

0,44 mg/dl. Sedangkan pada pemeriksaan serum kontrol PNU diperoleh nilai rata-rata 8,88 mg/dl. Jika dilihat dari nilai rujukan, semua hasil yang diperoleh masuk dalam rentang nilai rujukan (7,90 - 10,10 mg/dl).

Karena dalam penelitian ini yang diperiksa adalah urine seharusnya bahan kontrol yang digunakan adalah urine (Roche, 2000), karena terbatasnya biaya dan tidak tersedianya bahan urine kontrol, dalam penelitian ini digunakan serum kontrol.

6.2 Pengaruh Penyimpanan Terhadap Perubahan Kadar Kreatinin Urine

Pada penelitian ini, sampel urine untuk penentuan kadar kreatinin diambil dari penderita yang memenuhi kriteria penerimaan sampel, yaitu penderita yang diperiksa kliren kreatinin dan tidak sedang mengkonsumsi obat-obatan. Pemeriksaan kreatinin dilakukan dengan metode Jaffe pada alat autoanalyzer. Dari hasil pemeriksaan kreatinin urine tanpa penyimpanan didapatkan hasil pemeriksaan kadar kreatinin urine yang kadar terendahnya 18,35 mg/dl sedangkan kadar tertingginya mencapai 218,10 mg/dl. Karena sampel urine diambil pagi hari dari penderita dengan diagnosis yang berbeda, maka didapatkan hasil kreatinin urine yang bervariasi. Hal tersebut juga tampak dari hasil pemeriksaan urine dengan carik celup yang hasilnya juga bervariasi. Pada pemeriksaan pH urine didapatkan nilai terendah 5,0 dan pH tertinggi 8,5. Sampel urine dengan nitrit positif didapatkan pada 3 orang penderita, sedangkan urine dengan leukosit positif didapatkan pada 10 orang penderita. Menurut Newman dan price (1999) kontaminasi bakteri dapat memperlambat laju reaksi Jaffe

sehingga mengakibatkan kadar kreatinin rendah palsu. Pada penentuan kreatinin dengan bahan urine, kromogen nonkreatinin tidak mengganggu analisis secara signifikan (First, 1996)

Setelah dilakukan penyimpanan selama 24 jam dengan berbagai perlakuan terjadi penurunan kadar kreatinin urine yang besarnya bervariasi. Dari hasil uji statistik non parametrik pengaruh cara penyimpanan terhadap perubahan kadar kreatinin urine didapatkan perbedaan yang bermakna. Perbedaan yang signifikan terjadi pada perubahan kadar kreatinin yang disimpan pada suhu kamar dibandingkan dengan perubahan kadar kreatinin yang disimpan pada suhu kamar + HCl ($p= 0,047$), suhu 2-8°C ($p= 0,002$) dan suhu 2-8°C + HCl ($p= 0,015$). Dilihat dari rata-rata perubahan kadar kreatinin, penyimpanan pada suhu kamar memberikan penurunan yang paling besar. Karena itu untuk jaminan kualitas, penyimpanan urine 24 jam pada suhu kamar tanpa pengawetan tidak dianjurkan. National Committee for Clinical Laboratory Standart (NCCLS) (1995) merekomendasikan bahwa penyimpanan urine untuk pemeriksaan kreatinin adalah dengan menyimpannya pada *refrigerator*, *freeze* atau menambahkan asam klorida (HCl 6 N) atau asam borat.

Penelitian ini menggunakan urine segar yang tentunya berbeda tingkat kontaminasinya dengan urine kumpulan. Sebagian besar hasil pemeriksaan kreatinin urine dari sampel urine segar lebih tinggi dari hasil pemeriksaan urine 24 jam (urine kumpulan). Untuk urine kumpulan

sebaiknya sebelum dianalisis dilakukan homogenasi dengan sempurna untuk mendapatkan hasil pemeriksaan yang sesuai.

Dari hasil analisis didapatkan bahwa penyimpanan pada suhu kamar + HCl, suhu 2–8°C dan suhu 2–8°C + HCl tidak berbeda bermakna terhadap perubahan kadar kreatinin urine. Untuk itu disarankan untuk menyimpan urine 24 jam pada refrigerator (suhu 2–8°C) atau menambahkan asam (HCL 6N) sebelum penempungan urine. Hal ini sesuai dengan penelitian Miki dan Suda (1998) yang menyatakan bahwa konsentrasi kreatinin tidak berubah secara signifikan ($p > 0,1$) jika disimpan pada suhu 4°C selama 1 minggu pada berbagai nilai pH kecuali pH 10. Selain itu Roche (2002), menyebutkan bahwa stabilitas kreatinin urine yang disimpan pada suhu 2–8°C adalah 4 hari.

6.3 Pengaruh Penyimpanan Terhadap Perubahan Kadar Kalsium Urine

Pada penelitian ini, sampel urine untuk penentuan kadar kalsium diambil dari penderita yang memenuhi kriteria penerimaan dan penolakan sampel, yaitu penderita yang diperiksa ekskresi kalsium urine dan tidak sedang mengkonsumsi obat-obatan. Dari pemeriksaan urine tanpa penyimpanan didapatkan hasil pemeriksaan kadar kalsium urine dengan kadar terendah 2,5 mg/dl dan kadar tertinggi 33,8 mg/dl. Endres dan Rude (1999) menyebutkan bahwa jumlah kalsium yang diekskresikan ke dalam urine menggambarkan serapan intestinal, resorpsi skeletal, reabsorpsi dan filtrasi renal tubular. Pada hasil pemeriksaan kalsium urine juga didapatkan

hasil yang variasinya cukup besar. Sedangkan pada pemeriksaan pH urine didapatkan nilai pH terendah 5, sedangkan pH tertinggi 7,5 dimana rata-rata pH urine antara 5-6.

Setelah dilakukan penyimpanan selama 24 jam dengan berbagai perlakuan terjadi penurunan kadar kalsium urine yang besarnya bervariasi. Dari hasil uji statistik non parametrik pengaruh cara penyimpanan terhadap perubahan kadar kalsium urine didapatkan perbedaan yang bermakna. Perbedaan yang signifikan terjadi pada perubahan kadar kalsium yang disimpan pada suhu kamar dibandingkan dengan perubahan kadar kalsium yang disimpan pada suhu kamar dengan penambahan HCl ($p=0,005$), dibandingkan dengan penyimpanan pada suhu $2-8^{\circ}\text{C}$ ($p=0,017$) dan dibandingkan dengan penyimpanan pada suhu $2-8^{\circ}\text{C} + \text{HCl}$ ($p=0,011$).

Roche (2002), DiaSys (2000) menyebutkan bahwa stabilitas kalsium urine yang disimpan pada suhu kamar adalah 2 hari, sedangkan jika disimpan pada refrigerator stabil dalam waktu 4 hari. Tetapi karena kalsium mudah sekali mengendap pada suasana basa, pengasaman diperlukan pada waktu penyimpanan untuk menjaga agar kalsium tetap larut. Hal ini terutama dilakukan untuk urine yang pH nya cenderung basa. Untuk urine yang disimpan pada refrigerator maka urine harus dikocok dengan baik dan dibiarkan pada suhu kamar beberapa lama atau dihangatkan agar kalsium yang mungkin mengendap dapat larut. Penambahan asam yang dilakukan sesudah pengumpulan urine tidak dapat melarutkan dengan sempurna presipitat garam kalsium (Tietz, 2001). Untuk jaminan kualitas,

penyimpanan pada suhu kamar tanpa pengasaman tidak dianjurkan. National Committee for Clinical Laboratory Standart (NCCLS) (1995), Endres(1999) dan Roche (2001) merekomendasikan bahwa penyimpanan urine untuk pemeriksaan kalsium adalah dengan menambahkan asam (HCl 6 N).

Dari pemeriksaan carik celup pada urine dengan pH yang cenderung basa, hasil pemeriksaan kalsium urine menunjukkan penurunan yang lebih besar. Untuk mengurangi bias pengaruh pH, pada metode pemeriksaa dengan alat Vitros sebelum dilakukan analisa sampel (tahap pra analisa) maka urine diasamkan lebih dahulu dengan HCl. Pemeriksaan kalsium dengan metode arsenazo III, reaksinya membutuhkan suasana netral dengan menggunakan buffer pH 7,5.

Pemeriksaan kalsium adalah pemeriksaan elektrolit yang sangat dipengaruhi kontaminan oleh karena ion kalsium ada di mana-mana. Untuk mendapatkan akurasi hasil, pelarut dan alat –alat yang digunakan harus dijaga terhadap kontaminasi kalsium. Pada pemeriksaan dengan alat manual maka hendaknya digunakan tabung yang bebas sabun, dicuci dengan HCl encer dan kemudian dibilas dengan aquabidest. Tabung yang digunakan sebaiknya terbuat dari plastik polipropilen. Tabung dari gelas dapat menyebabkan kesalahan karena hasilnya menjadi tinggi palsu (Scholer, 1993). Sedangkan jika menggunakan alat autoanalyzer maka kualitas air harus dijaga dan betul-betul bebas mineral. Jika menggunakan reagen kering, gangguan analisis seperti masalah air tidak terjadi.

6.4 Pengaruh Penyimpanan Terhadap Perubahan Kadar fosfor Urine

Pada penelitian ini, sampel urine untuk penentuan kadar fosfor diambil dari penderita yang memenuhi kriteria penerimaan dan penolakan sampel, yaitu penderita yang diperiksa ekskresi fosfor urine dan tidak sedang mengkonsumsi obat-obatan. Dari pemeriksaan sebelum penyimpanan didapatkan hasil pemeriksaan kadar fosfor urine yang kadar terendahnya 5,7 mg/dl sedangkan kadar tertinggi mencapai 46,2 mg/dl. Menurut Endres dan Rude (1999) dijelaskan bahwa ekskresi fosfat urine bervariasi oleh adanya umur, masa otot, fungsi ginjal, hormon paratiroid (PTH) dan waktu ekskresi. Pada pemeriksaan pH urine didapatkan nilai pH terendah 5, sedangkan pH tertinggi 8,5 dimana rata-rata pH urine antara 5-6.

Setelah dilakukan penyimpanan selama 24 jam dengan berbagai perlakuan terjadi penurunan kadar fosfor urine yang besarnya bervariasi. Dari hasil uji statistik non parametrik didapatkan perbedaan yang bermakna antara perubahan kadar fosfor urine yang disimpan pada suhu kamar dibandingkan dengan yang disimpan pada suhu kamar + HCl ($p=0,023$), suhu 2-8°C ($p=0,037$) dan suhu 2-8°C + HCl ($p=0,003$). Hal ini sesuai dengan referensi yang menyebutkan bahwa stabilitas fosfor urine dengan pH kurang dari 5 yang disimpan pada suhu kamar (20-25°C) adalah 2 hari (DiaSys, 2002). Roche (2002) menyebutkan bahwa stabilitas urine yang disimpan tanpa pengawetan pada suhu 25°C adalah 8 jam dan untuk urine 24 jam direkomendasikan untuk disimpan pada refrigerator. National

Committee for Clinical Laboratory Standart (NCCLS), 1995 dan Endres (1999) merekomendasikan bahwa penyimpanan urine untuk pemeriksaan fosfor adalah disimpan pada refrigerator atau ditambah asam (HCl 6 N).

Jika dilihat dari rata-rata perubahan kadar fosfor urine setelah penyimpanan, maka rata-rata perubahan kadar fosfor urine yang disimpan selama 24 jam pada suhu kamar adalah yang paling besar. Walaupun sebagian sampel urine penurunannya tidak berarti, tetapi ada beberapa sampel urine yang penurunannya cukup besar dan jika dilihat dari hasil pemeriksaan carik celup, urine tersebut pHnya cenderung basa. Tanpa adanya penambahan asam atau penyimpanan dalam refrigerator maka pH yang tinggi akan menyebabkan terbentuknya kompleks fosfat (Endres, 1999), selain itu juga dapat mengganggu analisis karena pH yang terlalu tinggi. Hasilnya adalah bias negatif yang menyebabkan hasil pemeriksaannya lebih rendah. Hal ini sesuai dengan prinsip dari metode ammonium molibdat yang reaksinya membutuhkan suasana asam (Endres, 1999; Roche, 2000).

BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian ini dapat diambil beberapa kesimpulan sebagai berikut :

- a. Ada pengaruh cara penyimpanan terhadap perubahan kadar kreatinin urine yang disimpan selama 24 jam. Penyimpanan urine dapat menurunkan kadar kreatinin urine. Penyimpanan selama 24 jam pada suhu kamar berbeda bermakna dengan penyimpanan pada suhu kamar dengan penambahan HCl 6N ($p=0,047$), berbeda bermakna dengan penyimpanan pada suhu 2-8°C ($p=0,002$) dan berbeda bermakna dengan penyimpanan pada suhu 2-8°C dengan penambahan HCl 6N ($p=0,015$).
- b. Ada pengaruh cara penyimpanan terhadap perubahan kadar kalsium urine yang disimpan selama 24 jam. Penyimpanan urine dapat menurunkan kadar kalsium urine. Penyimpanan selama 24 jam pada suhu kamar berbeda bermakna dengan penyimpanan pada suhu kamar dengan penambahan HCl 6N ($p=0,005$), berbeda bermakna dengan penyimpanan pada suhu 2-8°C ($p=0,017$) dan berbeda bermakna dengan penyimpanan pada suhu 2-8°C dengan penambahan HCl 6N ($p=0,011$).
- c. Ada pengaruh cara penyimpanan terhadap perubahan kadar fosfor urine yang disimpan selama 24jam. Penyimpanan urine dapat menurunkan kadar fosfat urine. Penyimpanan selama 24 jam pada suhu kamar berbeda bermakna dengan penyimpanan pada suhu kamar dengan penambahan HCl 6N ($p=0,023$), berbeda bermakna dengan penyimpanan pada suhu 2-8°C

($p=0,037$) dan berbeda bermakna dengan penyimpanan pada suhu $2-8^{\circ}\text{C}$ dengan penambahan HCl 6N ($p=0,003$).

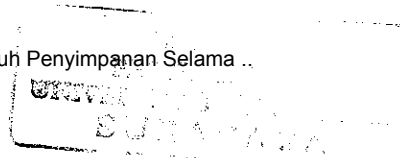
7.2 Saran-saran

Adapun saran-saran yang dapat diberikan dari hasil penelitian ini adalah :

- a. Walaupun kreatinin cukup stabil, untuk mengurangi bias pada pemeriksaan kliren kreatinin, pada saat penampungan urine 24 jam hendaknya ditambahkan pengawet atau disimpan pada suhu $2-8^{\circ}\text{C}$. Selain itu digunakan penampung yang bersih, ditampung secara lengkap dan sebelum diperiksa dilakukan homogenasi atau dikocok dengan baik untuk mendapatkan sampel yang representatif.
- b. Untuk mendapatkan hasil pemeriksaan ekskresi kalsium dan fosfor yang lebih valid, pada saat penampungan urine sebaiknya ditambahkan asam (HCl). Sebelum dilakukan pemeriksaan, urine harus dikocok dengan baik untuk melarutkan endapan kalsium atau kompleks fosfat yang terjadi.
- c. Mengingat pada penelitian ini jumlah sampel sangat terbatas, maka sebaiknya dilakukan penelitian lanjutan dengan jumlah sampel yang lebih besar dan dengan menggunakan urine 24 jam agar lebih memiliki arti klinis.
- d. Dilakukan penelitian lanjutan mengenai pengaruh pH terhadap perubahan kadar kreatinin, kalsium dan fosfor urine. Untuk meningkatkan validitas hasil penelitian, hendaknya dilakukan pemeriksaan duplikat pada setiap pemeriksaan sampel.

DAFTAR PUSTAKA

- Baron DN, 1995. Kapita Selekta Patologi Klinik. Alih Bahasa, Petrus Andrianto, Johannes Gunawan, ed.4, Jakarta : EGC, h 232-250.
- Boehringer Mannheim, 1994. Urinalysis Compendium: Urinalysis Systems from Boehringer Mannheim. Boehringer Mannheim GmbH, Germany, h 9-10.
- Boehringer Mannheim, 1995. HITACHI 704: Training Guide. Boehringer Mannheim Diagnostic.
- Bradley GM, Benson ES, 1974. Examination of Urine. In: Davidsohn I, Henry JB eds. Todd-Sanford: Clinical Diagnosis by Laboratory Methods, 15th ed. Philadelphia : W.B. Saunders Company, pp 15-23.
- Bradley M, Schumann GB, Ward PC, 1979. Examination of urine. In: Davidsohn I, Henry JB eds. Todd-Sanford: Clinical Diagnosis by Laboratory Methods, 16th ed. Philadelphia : W.B. Saunders Company, pp 74-75.
- Colombo JP, 1993. Die Urinanalyse. In: Colombo JP. Ed. Klinisch-chemische Urindiagnostik. Arbeitsgruppe "Urin" der Schweizerischen Gesellschaft für Klinische Chemie, pp 19-20.
- Endres DB, Rude RK, 1999. Mineral and Bone Metabolism. In: Burtis CA, Ashwood ER, eds. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed. Philadelphia : W.B. Saunders Company, pp 1395-1407.
- Faulkner WR, King JW, 1982. Renal Function, In : Tietz NW. eds. Fundamental of Clinical Chemistry 1st ed. Philadelphia : W.B. Saunders Company, pp 980-987.
- First MR, 1996. Renal Function. In : Kaplan LA, Pesce AJ, ed. Clinical Chemistry : Theory, analysis, and correlation, 3rd ed. St. Louis : Mosby, pp 485-498.
- Free AH, 1991. Urine study alive and well in 1991. In: Urinalysis Seminar in Indonesia, Singapura and Thailand.
- Free AH, Free HM, 1976. Urinalysis in Clinical Laboratory Practice. Cleveland : CRC Press, pp 1-29.
- Froom P, Bieganiec B, Ehrenrich Z, Barak M, 2000. Stability of Common Analytes in urine refrigerated for 24 h before Automated Analysis by Test Strips. Clinical Chemistry 46,9: 1384-1386.
- Gandasubrata R, 1992. Penuntun Laboratorium Klinik. Jakarta : Dian rakyat, h 69-131.



- Garza D, 1982. Urine Collection and Preservation. In : Ross DL, Neely AE. Ed. Textbook of Urinalysis and Body Fluids, Norwalk : Appleton-Century-Crofts, pp 49-64.
- Gray CH, Howorth PJN, Rinsler MG, 1985. Clinical Chemical Pathology, 10th ed. Singapura : Colset Private Ltd, pp 5-25.
- Guyton AC, Hall JE, 1997. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. Alih bahasa: Irawati S, LMA Ken Ariata T, Alex S; Editor: Irawati S, edisi 9, Jakarta: EGC, h 397-405.
- Hartmann AE, 2002. Nitrogen Metabolites and Renal Function. In: Mc Clatchey KD, ed. Clinical Laboratory Medicine, 2nd ed. Philadelphia : Lippincott Williams & Wilkins, pp 378-391.
- Henry JB, Lauzon RB, Schumann GB, 1996. Basic Examination of Urine. In: Henry JB eds. Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods, 19th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, pp 411-454.
- Kaplan A, Szabo LL, 1983. Clinical Chemistry : Interpretation and Techniques. 2nd ed. Philadelphia : Lea & Febiger, pp 126-133.
- Miki K, Sudo A, 1998. Effect of Urine pH, Storage time, and Temperatur on Stability of Catecholamines, Cortisol, and Creatinine. Clinical Chemistry 44, 8 : 1759-1761.
- Mukherjee KL, 1988. Medical laboratory technology a procedure manual for routine diagnostic test. Vol. II, New Delhi: Tata Mc Graw-Hill Publishing Company Limited, pp 810-815.
- Newman DJ, Price CP, 1999. Renal Function and Nitrogen Metabolites. In: Burtis CA, Ashwood ER eds. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed. Philadelphia : W.B. Saunders Company, pp 1241-1245.
- Newman DJ, Price CP, 2001. Non Protein Nitrogen Metabolites. In: Burtis CA, Ashwood ER eds. Tietz: Fundamental of Clinical Chemistry, 5th ed. Philadelphia : W.B. Saunders Company, pp 419-422.
- Pincus MR, Preuss HG, Henry JB, 1996. Evaluation of Renal Function, Water, Electrolytes, Acid-Base Balance, and Blood Gases. In: Henry JB eds. Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods, 19th ed. Philadelphia : W.B. Saunders Company, pp 139-142.
- Ringsrud KM, Linne JJ, 1995. Urinalysis and Body Fluids : A Colortext and Atlas. 1st ed. St Louis : Mosby-Year Book, Inc., pp 22-28.
- Roche Diagnostic, 2000. Determination of Calcium in human serum, plasma and urine with automated clinical chemistry analyzer. Roche Diagnostic GmbH, Mannheim, Germany.

- Roche Diagnostic, 2000. Determination of Creatinine in human serum, plasma and urine with automated clinical chemistry analyzer. Roche Diagnostic GmbH, Mannheim, Germany.
- Roche Diagnostic, 2000. Determination of Inorganic Phosphor in human serum, plasma and urine with automated clinical chemistry analyzer. Roche Diagnostic GmbH, Mannheim, Germany.
- Scholer A, 1993. Urinkonservierung. In: Colombo JP. Ed. Klinisch-chemische Urindiagnostik. Arbeitsgruppe "Urin" der Schweizerischen Gesellschaft für Klinische Chemie, pp 41-48.
- Scholer A, Lauber K, 1993. Elektrolyte (Mineralstoffe) im Urin. In: Colombo JP. Eds. Klinisch-chemische Urindiagnostik. Arbeitsgruppe "Urin" der Schweizerischen Gesellschaft für Klinische Chemie, pp141-156.
- Schumann GB, Schweitzer SC, 1996. Examination of Urine. In : Kaplan LA, Pesce AJ, eds. Clinical Chemistry : Theory, analysis, and correlation, 3rd ed. St. Louis : Mosby, pp 1115-1124.
- Simindinger J, Mansour FK, Slockbower JM, 1983. Specimens for Urinalysis. In: Slockbower JM, Blumenfeld TA, Eds. Collection and Handling of Laboratory Specimens : A Practical Guide. Philadelphia : JB Lippincott Company, pp 103-113.
- Smith MB, 1982. The Routin Examination of urine. In : Ross DL, Neely AE. Eds. Textbook of Urinalysis and body Fluids, Norwalk : Appleton-Century-Crofts, pp 68-75.
- Speicher CE, Smith JW, 1996. Pemilihan Uji Laboratorium yang Efektif, alih bahasa, Joko Suyono; Editor, Siti Boedi Kresno, Jakarta : EGC, h 196-201.
- Suhendra B, Nurwan, Chalim A, 1994. Analisa Urin dengan carik Uji. Jakarta: Boehringer Mannheim Indonesia, h 8-9.
- Tietz NW, 1982. Electrolytes, In : Tietz NW. ed. Fundamental of Clinical Chemistry 1st ed. Philadelphia : W.B. Saunders Company, pp 901-917.
- Ward PCJ, Haber MH, 2002. Urine. In: Mc Clatchey KD, eds. Clinical Laboratory Medicine, 2nd ed. Philadelphia : Lippincott Williams & Wilkins, pp 519-529.
- Widmann FK, 1995. Tinjauan Klinis atas Hasil Pemeriksaan Laboratorium, penerjemah, R. Gandasubrata; J. Latu; Siti Boedi Kresno, Ed. 9, Jakarta: EGC, h 519-539.
- Wirawan R, 1991. Pemantapan kualitas intra laboratorium pada pemeriksaan urine. Dalam: Simposium Urinalisis, Jakarta, h 7-12

Young DS, Bermes EW, 1999. Specimen Collection and Processing: Sources of Biological variation. In: Burtis CA, Ashwood ER eds. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed. Philadelphia : W.B. Saunders Company, pp 50-55.

Zainuddin M, 2000. Metodologi Penelitian. Surabaya.



Lampiran 1 Hasil pemeriksaan carik celup

N	SG	PH	LEU	NIT	PRO	GLU	KET	UBG	BIL	ERY
1	1,010	8,5	-	-	2+	-	-	-	-	-
2	1,015	6,0	-	-	1+	-	-	-	-	-
3	1,015	6,0	3+	-	2+	-	-	-	-	3+
4	1,005	7,0	4+	-	-	-	-	-	-	-
5	1,015	5,0	-	-	2+	-	-	-	-	1+
6	1,015	6,0	4+	-	-	-	-	-	-	1+
7	1,010	6,0	-	-	-	-	-	-	-	-
8	1,015	5,0	3+	-	1+	-	-	-	-	1+
9	1,020	6,0	2+	-	1+	-	-	-	-	3+
10	1,025	6,5	-	-	1+	-	-	-	-	2+
11	1,020	6,0	-	-	2+	-	-	-	-	3+
12	1,015	7,0	2+	-	1+	-	-	-	-	1+
13	1,015	6,0	-	-	1+	-	-	-	-	-
14	1,010	6,0	-	-	1+	-	-	-	-	1+
15	1,025	6,0	2+	1+	3+	-	-	-	-	3+
16	1,010	7,0	-	-	3+	-	-	-	-	2+
17	1,020	5,0	1+	-	1+	3+	-	-	-	2+
18	1,015	6,0	-	-	-	-	-	-	-	-
19	1,010	8,0	-	-	2+	-	-	-	-	-
20	1,015	6,0	-	-	2+	-	-	-	-	-
21	1,015	6,0	-	-	-	-	-	-	-	-
22	1,025	6,0	-	-	-	-	-	-	-	-
23	1,010	6,5	-	-	3+	-	+	-	-	-
24	1,020	6,0	-	-	-	-	-	-	-	-
25	1,010	6,5	2+	+	2+	-	-	-	-	1+
26	1,025	5,0	-	-	1+	-	-	-	-	3+
27	1,030	6,0	2+	-	3+	-	-	-	-	2+
28	1,030	6,0	-	-	2+	-	-	-	-	-
29	1,015	6,0	-	-	1+	-	-	-	-	1+
30	1,010	6,0	-	-	-	-	-	-	-	-

Lampiran 2 Hasil pemeriksaan carik celup

n	SG	PH	LEU	NIT	PRO	GLU	KET	UBG	BIL	ERY
1	1,020	5,0	-	-	-	-	-	-	-	-
2	1,015	5,0	-	-	1+	-	-	-	-	2+
3	1,020	5,0	-	-	-	-	-	-	-	-
4	1,025	5,0	-	-	1+	-	-	-	-	1+
5	1,010	6,0	-	-	1+	-	-	-	-	1+
6	1,010	6,0	2+	-	1+	-	-	-	-	3+
7	1,015	6,0	-	-	-	-	-	-	-	-
8	1,025	5,0	-	-	1+	-	-	-	-	2+
9	1,025	6,0	-	-	2+	-	-	-	-	3+
10	1,030	5,0	-	-	2+	3+	-	-	-	-
11	1,010	6,0	-	-	-	-	-	-	-	-
12	1,010	6,5	-	-	3+	1+	-	-	-	-
13	1,015	6,0	-	-	1+	-	-	-	-	-
14	1,025	6,0	-	-	-	-	-	-	-	-
15	1,015	6,0	-	-	2+	-	-	-	-	-
16	1,025	6,0	2+	+	3+	-	-	-	-	3+
17	1,020	6,0	2+	-	1+	-	-	-	-	3+
18	1,025	6,5	1+	-	1+	-	-	-	-	3+
19	1,020	6,0	2+	-	2+	-	-	-	-	3+
20	1,015	7,0	2+	+	1+	-	-	-	-	1+
21	1,015	6,0	-	-	1+	-	-	-	-	-
22	1,020	6,0	2+	-	3+	-	-	-	-	2+
23	1,010	6,0	-	-	1+	-	-	-	-	1+
24	1,010	7,0	-	-	3+	-	-	-	-	2+
25	1,020	6,0	1+	+	2+	-	-	-	-	2+
26	1,020	6,0	-	-	-	-	-	-	-	-
27	1,010	6,5	2+	+	2+	-	-	-	-	1+
28	1,025	5,0	-	-	1+	-	-	-	-	3+
29	1,030	5,5	2+	-	2+	-	-	-	-	3+
30	1,030	5,0	-	-	2+	-	-	-	-	1+

Lampiran 3 Hasil pemeriksaan carik celup

n	SG	PH	LEU	NIT	PRO	GLU	KET	UBG	BIL	ERY
1	1,015	6,0	-	+	-	-	+	-	-	+
2	1,015	6,0	2+	-	1+	-	-	-	-	3+
3	1,015	6,0	-	-	-	-	-	-	-	-
4	1,020	5,0	1+	-	1+	3+	-	-	-	3+
5	1,020	5,0	4+	+	1+	-	-	-	-	3+
6	1,010	8,0	-	-	2+	-	-	-	-	-
7	1,010	8,5	-	-	2+	-	-	-	-	-
8	1,015	6,0	-	-	1+	-	-	-	-	-
9	1,025	5,0	-	-	-	-	-	-	-	-
10	1,015	5,0	-	-	2+	-	-	-	-	1+
11	1,015	6,0	4+	-	1+	-	-	-	-	1+
12	1,010	6,5	-	+	1+	-	-	-	-	-
13	1,025	6,0	2+	+	3+	-	-	-	-	3+
14	1,020	6,0	-	-	1+	-	-	-	-	3+
15	1,025	6,5	1+	-	1+	-	-	-	-	3+
16	1,015	7,0	2+	+	1+	-	-	-	-	1+
17	1,020	6,0	2+	-	3+	-	-	-	-	3+
18	1,010	6,0	-	-	1+	-	-	-	-	3+
19	1,010	7,0	-	-	3+	-	-	-	-	2+
20	1,020	5,0	-	-	-	-	-	-	-	-
21	1,015	5,0	-	-	1+	-	-	-	-	1+
22	1,015	6,0	-	-	2+	-	-	-	-	-
23	1,020	6,0	-	-	-	-	-	-	-	-
24	1,010	6,0	-	-	-	-	-	-	-	-
25	1,025	5,0	-	-	1+	-	-	-	-	3+
26	1,020	5,0	-	-	-	-	-	-	-	-
27	1,015	5,0	-	-	1+	-	-	-	-	-
28	1,015	6,0	-	-	2+	-	-	-	-	-
29	1,010	6,0	-	-	-	-	-	-	-	-
30	1,010	6,0	-	-	-	-	-	-	-	-

Lampiran 4

Descriptives

Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
KDRKREAT	120	-2.60	25.34	1.9014	3.5725
PERLK	120	1	4	2.50	1.12
Valid N (listwise)	120				

NPar Tests

Kruskal-Wallis Test

Ranks

	PERLK	N	Mean Rank
KDRKREAT	Suhu Kamar	30	77.38
	Suhu Kamar + HCl	30	60.37
	Suhu 2-8o C	30	48.90
	Suhu 2-8o C + HCl	30	55.35
	Total	120	

Test Statistics^{a,b}

	KDRKREAT
Chi-Square	11.062
df	3
Asymp. Sig.	.011

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: PERLK

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

	PERLK	N	Mean Rank	Sum of Ranks
KDRKREAT	Suhu Kamar	30	34.98	1049.50
	Suhu Kamar + HCl	30	26.02	780.50
	Total	60		

Test Statistics^a

	KDRKREAT
Mann-Whitney U	315.500
Wilcoxon W	780.500
Z	-1.989
Asymp. Sig. (2-tailed)	.047

a. Grouping Variable: PERLK

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

	PERLK	N	Mean Rank	Sum of Ranks
KDRKREAT	Suhu Kamar	30	37.43	1123.00
	Suhu 2-8o C	30	23.57	707.00
	Total	60		

Test Statistics^a

	KDRKREAT
Mann-Whitney U	242.000
Wilcoxon W	707.000
Z	-3.075
Asymp. Sig. (2-tailed)	.002

a. Grouping Variable: PERLK

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

	PERLK	N	Mean Rank	Sum of Ranks
KDRKREAT	Suhu Kamar	30	35.97	1079.00
	Suhu 2-8o C + HCl	30	25.03	751.00
	Total	60		

Test Statistics^a

	KDRKREAT
Mann-Whitney U	286.000
Wilcoxon W	751.000
Z	-2.425
Asymp. Sig. (2-tailed)	.015

a. Grouping Variable: PERLK

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

PERLK	N	Mean Rank	Sum of Ranks
KDRKREAT Suhu Kamar + HCI	30	33.62	1008.50
Suhu 2-8o C	30	27.38	821.50
Total	60		

Test Statistics^a

	KDRKREAT
Mann-Whitney U	356.500
Wilcoxon W	821.500
Z	-1.382
Asymp. Sig. (2-tailed)	.167

a. Grouping Variable: PERLK

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

PERLK	N	Mean Rank	Sum of Ranks
KDRKREAT Suhu Kamar + HCI	30	31.73	952.00
Suhu 2-8o C + HCI	30	29.27	878.00
Total	60		

Test Statistics^a

	KDRKREAT
Mann-Whitney U	413.000
Wilcoxon W	878.000
Z	-.547
Asymp. Sig. (2-tailed)	.584

a. Grouping Variable: PERLK

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

PERLK	N	Mean Rank	Sum of Ranks
KDRKREAT Suhu 2-8o C	30	28.95	868.50
Suhu 2-8o C + HCI	30	32.05	961.50
Total	60		

Test Statistics^a

	KDRKREAT
Mann-Whitney U	403.500
Wilcoxon W	868.500
Z	-.687
Asymp. Sig. (2-tailed)	.492

a. Grouping Variable: PERLK



Lampiran 5

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Perubahan Kadar Ca Urin	120	1.9525	2.09746	-.50	10.80
Penyimpanan	120	3.50	1.123	2	5

Kruskal-Wallis Test

Ranks

	Penyimpanan	N	Mean Rank
Perubahan Kadar Ca Urin	Suhu Kamar	30	77.85
	Suhu Kamar + HCl	30	51.68
	Suhu 2-8oC.	30	57.88
	Suhu 2-8oC + HCl	30	54.58
	Total	120	

Test Statistics^{a,b}

	Perubahan Kadar Ca Urin
Chi-Square	10.440
df	3
Asymp. Sig.	.015

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Penyimpanan

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

	Penyimpanan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Perubahan Kadar Ca Urin	Suhu Kamar	30	36.78	1103.50
	Suhu Kamar + HCl	30	24.22	726.50
	Total	60		

Test Statistics^a

	Perubahan Kadar Ca Urin
Mann-Whitney U	261.500
Wilcoxon W	726.500
Z	-2.789
Asymp. Sig. (2-tailed)	.005

a. Grouping Variable: Penyimpanan

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

Penyimpanan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Perubahan Kadar Ca Urin Suhu Kamar	30	35.87	1076.00
Suhu 2-8oC	30	25.13	754.00
Total	60		

Test Statistics^a

	Perubahan Kadar Ca Urin
Mann-Whitney U	289.000
Wilcoxon W	754.000
Z	-2.381
Asymp. Sig. (2-tailed)	.017

a. Grouping Variable: Penyimpanan

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

Penyimpanan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Perubahan Kadar Ca Urin Suhu Kamar	30	36.20	1086.00
Suhu 2-8oC + HCl	30	24.80	744.00
Total	60		

Test Statistics^a

	Perubahan Kadar Ca Urin
Mann-Whitney U	279.000
Wilcoxon W	744.000
Z	-2.530
Asymp. Sig. (2-tailed)	.011

a. Grouping Variable: Penyimpanan

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

Penyimpanan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Perubahan Kadar Ca Urin Suhu Kamar + HCl	30	28.77	863.00
Suhu 2-8oC	30	32.23	967.00
Total	60		

Test Statistics^a

	Perubahan Kadar Ca Urin
Mann-Whitney U	398.000
Wilcoxon W	863.000
Z	-.769
Asymp. Sig. (2-tailed)	.442

a. Grouping Variable: Penyimpanan

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

Penyimpanan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Perubahan Kadar Ca Urin Suhu Kamar + HCl	30	29.70	891.00
Suhu 2-8oC + HCl	30	31.30	939.00
Total	60		

Test Statistics^a

	Perubahan Kadar Ca Urin
Mann-Whitney U	426.000
Wilcoxon W	891.000
Z	-.355
Asymp. Sig. (2-tailed)	.722

a. Grouping Variable: Penyimpanan

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

Penyimpanan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Perubahan Kadar Ca Urin Suhu 2-8oC	30	31.52	945.50
Suhu 2-8oC + HCl	30	29.48	884.50
Total	60		

Test Statistics^a

	Perubahan Kadar Ca Urin
Mann-Whitney U	419.500
Wilcoxon W	884.500
Z	-.451
Asymp. Sig. (2-tailed)	.652

a. Grouping Variable: Penyimpanan

Lampiran 6

Descriptives

Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
KDRFOS	120	-.90	17.80	1.3308	1.9066
PERLK	120	1	4	2.50	1.12
Valid N (listwise)	120				

NPar Tests

Kruskal-Wallis Test

Ranks

	PERLK	N	Mean Rank
KDRFOS	Suhu Kamar	30	76.92
	Suhu Kamar + HCl	30	56.88
	Suhu 2-8oC	30	58.73
	Suhu 2-8oC + HCl	30	49.47
	Total	120	

Test Statistics^{a,b}

	KDRFOS
Chi-Square	10.118
df	3
Asymp. Sig.	.018

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: PERLK

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

	PERLK	N	Mean Rank	Sum of Ranks
KDRFOS	Suhu Kamar	30	35.62	1068.50
	Suhu Kamar + HCl	30	25.38	761.50
	Total	60		

Test Statistics^a

	KDRFOS
Mann-Whitney U	296.500
Wilcoxon W	761.500
Z	-2.272
Asymp. Sig. (2-tailed)	.023

a. Grouping Variable: PERLK

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

	PERLK	N	Mean Rank	Sum of Ranks
KDRFOS	Suhu Kamar	30	35.20	1056.00
	Suhu 2-8oC	30	25.80	774.00
	Total	60		

Test Statistics^a

	KDRFOS
Mann-Whitney U	309.000
Wilcoxon W	774.000
Z	-2.087
Asymp. Sig. (2-tailed)	.037

a. Grouping Variable: PERLK

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

	PERLK	N	Mean Rank	Sum of Ranks
KDRFOS	Suhu Kamar	30	37.10	1113.00
	Suhu 2-8oC + HCl	30	23.90	717.00
	Total	60		

Test Statistics^a

	KDRFOS
Mann-Whitney U	252.000
Wilcoxon W	717.000
Z	-2.931
Asymp. Sig. (2-tailed)	.003

a. Grouping Variable: PERLK

NPar Tests Mann-Whitney Test

Ranks

PERLK	N	Mean Rank	Sum of Ranks
KDRFOS Suhu Kamar + HCl	30	29.90	897.00
Suhu 2-8oC	30	31.10	933.00
Total	60		

Test Statistics^a

	KDRFOS
Mann-Whitney U	432.000
Wilcoxon W	897.000
Z	-.266
Asymp. Sig. (2-tailed)	.790

a. Grouping Variable: PERLK

NPar Tests Mann-Whitney Test

Ranks

PERLK	N	Mean Rank	Sum of Ranks
KDRFOS Suhu Kamar + HCl	30	32.60	978.00
Suhu 2-8oC + HCl	30	28.40	852.00
Total	60		

Test Statistics^a

	KDRFOS
Mann-Whitney U	387.000
Wilcoxon W	852.000
Z	-.933
Asymp. Sig. (2-tailed)	.351

a. Grouping Variable: PERLK

NPar Tests Mann-Whitney Test

Ranks

PERLK	N	Mean Rank	Sum of Ranks
KDRFOS Suhu 2-8oC	30	32.83	985.00
Suhu 2-8oC + HCl	30	28.17	845.00
Total	60		

Test Statistics^a

	KDRFOS
Mann-Whitney U	380.000
Wilcoxon W	845.000
Z	-1.036
Asymp. Sig. (2-tailed)	.300

a. Grouping Variable: PERLK

