

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2. 1. Tinjauan Umum Kondisi Gagal Ginjal Kronis**

Penyakit ginjal mencakup berbagai penyakit dan gangguan yang mempengaruhi ginjal. Sebagian besar penyakit ginjal menyerang unit penyaring ginjal, nefron, dan merusak kemampuannya untuk menghilangkan limbah dan kelebihan cairan.(Arjani, 2017)

Ginjal memiliki peran penting untuk mempertahankan stabilitas volume, komposisi elektrolit, dan osmolaritas cairan ekstraseluler. Salah satu fungsi penting ginjal lainnya adalah untuk mengekskresikan produk-produk akhir atau sisa metabolisme tubuh, misalnya urea, asam urat, dan kreatinin. Apabila sisa metabolisme tubuh tersebut dibiarkan menumpuk, zat tersebut bisa menjadi racun bagi tubuh, terutama ginjal.(Arjani, 2017), (Prodyanatasari & Purnadianti, 2024)

Peran yang penting tersebut akan menimbulkan masalah bila ginjal mengalami kegagalan. Hasil metabolit seperti ureum dan kreatinin akan meningkat. Bila fungsi ginjal hanya 5% atau kurang, maka pengobatan cuci darah atau cangkok ginjal mutlak diperlukan. Jika penyakit ginjal tidak segera diobati dan ditangani maka kemungkinan akan terjadi gagal ginjal. Kelainan fungsi ginjal merupakan kelainan yang sering terjadi pada orang dewasa. Kelainan fungsi ginjal berdasarkan durasinya dibagi menjadi dua yaitu Gagal Ginjal akut dan gagal ginjal kronik Gagal Ginjal Kronik (GGK) adalah

kemunduran dari kemampuan ginjal dalam membersihkan darah dari bahan-bahan limbah metabolik didalam darah. Gagal Ginjal Akut merupakan suatu keadaan klinis yang ditandai dengan adanya penurunan fungsi ginjal secara mendadak dengan akibat terjadinya peningkatan hasil metabolik seperti ureum dan kreatinin.(Arjani, 2017)

Kasus GGK saat ini meningkat dengan cepat terutama di negara-negara berkembang. GGelah menjadi masalah utama kesehatan di seluruh dunia, karena selain merupakan faktor risiko terjadinya penyakit jantung dan juga menyebabkan peningkatan angka kematian dan kesakitan. (Arjani, 2017)

Prevalensi GGK berdasarkan pernah didiagnosis dokter di Indonesia sebesar 0,2%83.000 penduduk dunia yang menjalani perawatan ginjal akibat gagal ginjal, diantaranya 77 % dengan cuci darah, 23 % dengan transplantasi ginjal, disebutkan juga bahwa Indonesia termasuk dengan tingkat penderita gagal ginjal yang cukup tinggi. Menurut data dari Persatuan Nefrologi Indonesia diperkirakan ada 70.000 penderita gagal ginjal di Indonesia, namun yang terdeteksi menderita GGK tahap termil dari mereka yang menjalani cuci darah (hemodialysis) hanya sekitar 4.000 sampai 5.000 saja. Sedangkan menurut data Profil Kesehatan Indonesia (2006), gagal ginjal menempati urutan ke enam sebagai penyebab kematian pasien yang dirawat di rumah sakit.(Arjani, 2017)

Hingga akhir tahun 2004 terdapat 1.783.000 penduduk dunia yang menjalani perawatan ginjal akibat gagal ginjal, diantaranya 77% dengan cuci darah, 23% dengan transplantasi ginjal, disebutkan juga bahwa Indonesia

termasuk dengan tingkat penderita gagal ginjal yang cukup tinggi. Menurut data dari Persatuan Nefrologi Indonesia diperkirakan ada 70.000 penderita gagal ginjal di Indonesia, namun yang terdeteksi menderita GJK tahap termil dari mereka yang menjalani cuci darah (hemodialisis) hanya sekitar 4.000 sampai 5.000 saja. Sedangkan menurut data Profil Kesehatan Indonesia (2006), gagal ginjal menempati urutan ke enam sebagai penyebab kematian pasien yang dirawat di rumah sakit di Indonesia. Kecenderungan kenaikan penderita gagal ginjal juga terlihat dari meningkatnya jumlah pasien yang menjalani terapi hemodialisis, dimana frekuensi hemodialysis per minggu di Indonesia tahun 2012 yaitu frekuensi sekali seminggu sebanyak 3.666, frekuensi 2 kali seminggu sebanyak 7.902, frekuensi 3 kali seminggu sebanyak 783, frekuensi >3 kali seminggu sebanyak 53, sedangkan frekuensi yang tidak teratur sebanyak 4.631. Pada pasien gagal ginjal biasanya dilengkapi dengan pemeriksaan darah sebagai penguat diagnosis dari penyakit pasien. Salah satu parameter yang biasanya diperiksa adalah kadar ureum dan kreatinin serum. Ureum dan kreatinin merupakan produk sisa dari metabolisme tubuh. Kadar kreatinin yang tinggi delapan kali lebih umum ditemukan di antara para pengidap hipertensi dibandingkan individu lain yang tekanan darahnya normal. Penyakit ginjal dan hipertensi dapat menjadi penyakit ginjal kronik dan bila tidak diatasi akan berkembang ke gagal ginjal termin yang memerlukan terapi pengganti fungsi ginjal berupa dialisis atau transplantasi ginjal. (Arjani, 2017).

## 2. 2. Hemodialisis

Hemodialisis adalah metode pembuangan zat-zat sisa metabolisme/toksik seperti kotoran dari tubuh ketika ginjal tidak dapat menjalankan fungsi normalnya. Kata dialisis berasal dari kata Yunani “dialusis” yang berarti pembubaran, “dia” berarti melalui, dan “lusis” berarti pelonggaran.(Mehmood et al., 2019)

Berbagai fungsi vital dilakukan oleh ginjal yang sehat dan normal. Ginjal memainkan peran penting dalam homeostasis karena ginjal menjaga lingkungan tubuh yang normal. Produk-produk limbah yang dihasilkan dalam berbagai aktivitas metabolisme dikeluarkan melalui ginjal. Keseimbangan air dan elektrolit dalam tubuh juga dijaga oleh ginjal yang sehat. Ginjal mengeluarkan berbagai hormon seperti eritropoietin, renin, trombopoietin, prostaglandin, dll. Hormon-hormon ini mengatur tekanan darah dan kadar kalsium dalam tubuh. Dalam kasus penyakit ginjal, ginjal tidak dapat menjalankan fungsi-fungsi normal ini dan akan mengakibatkan retensi air dan natrium dalam tubuh. Gagal ginjal juga dapat menyebabkan akumulasi zat-zat sisa yang berbahaya/toksik dalam tubuh. Hal ini dapat mengakibatkan peningkatan tekanan darah dan penurunan produksi sel darah merah oleh sumsum tulang karena penghambatan pelepasan eritropoietin oleh ginjal yang sakit. Dengan demikian, patologi ginjal memerlukan penanganan yang tepat.(Mehmood et al., 2019)

Hemodialisis adalah teknik yang menggunakan filter khusus atau membran semipermeabel yang memungkinkan darah melewatinya. Filter

kemudian membuang kelebihan air, limbah tubuh, dan produk beracun dari darah. Prosedur ini membersihkan darah, menjaga lingkungan homeostatis tubuh, dan mengatur tekanan darah normal dengan menjaga keseimbangan cairan dan elektrolit yang tepat.(Mehmood et al., 2019)

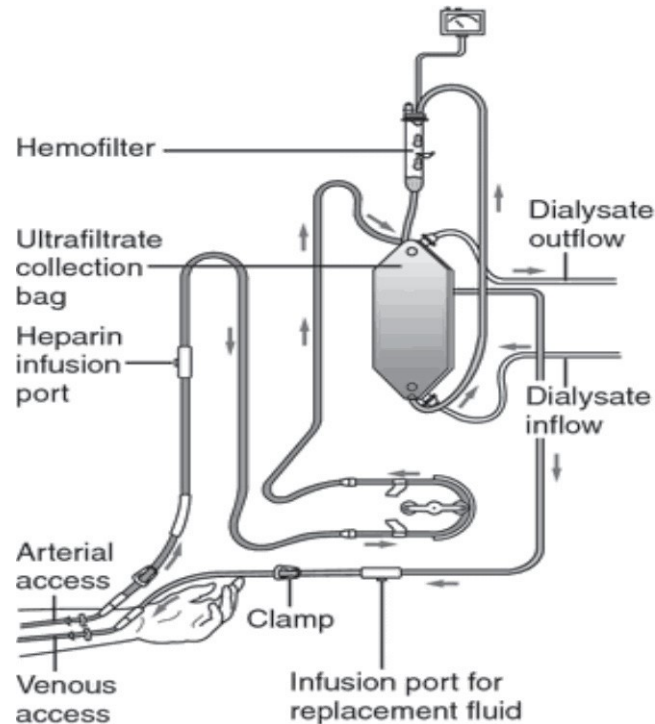
Terapi hemodialisis memerlukan dedikasi karena pasien harus pergi ke pusat dialisis setiap dua hari sekali dan setiap sesi memerlukan waktu beberapa jam. Namun, staf medis dapat memberikan fleksibilitas kepada pasien dalam memilih shift antara jam pagi, siang, atau malam. Pemilihan shift dapat bergantung pada ketersediaan pasien atau tim perawatan kesehatan dan juga pada kapasitas unit dialysis. (Mehmood et al., 2019)

Hemodialisis adalah prosedur yang benar-benar membuang semua produk limbah reaksi metabolisme, elektrolit, dan air berlebih dari darah saat ginjal tidak menjalankan fungsi normalnya misalnya pada gagal ginjal.(Mehmood et al., 2019)

Hemodialisis menggantikan fungsi penyaringan ginjal jika terjadi disfungsi ginjal. Akumulasi berbagai zat limbah dari tubuh bersifat toksik pada penyakit ginjal dan dapat menyebabkan kelainan serius dan bahkan kematian.<sup>4</sup> Meskipun hemodialisis tidak memantau fungsi tubuh normal karena bukan merupakan proses yang konstan, hemodialisis tetap menjaga lingkungan homeostatis tubuh.(Mehmood et al., 2019)

Prinsip di balik hemodialisis adalah difusi sederhana melalui membran semipermeabel. Mekanisme aliran arus berlawanan memungkinkan darah dan

dialisat mengalir ke arah yang berlawanan sehingga gradien konsentrasi terbentuk dan efisiensi dialisis meningkat.(Mehmood et al., 2019).



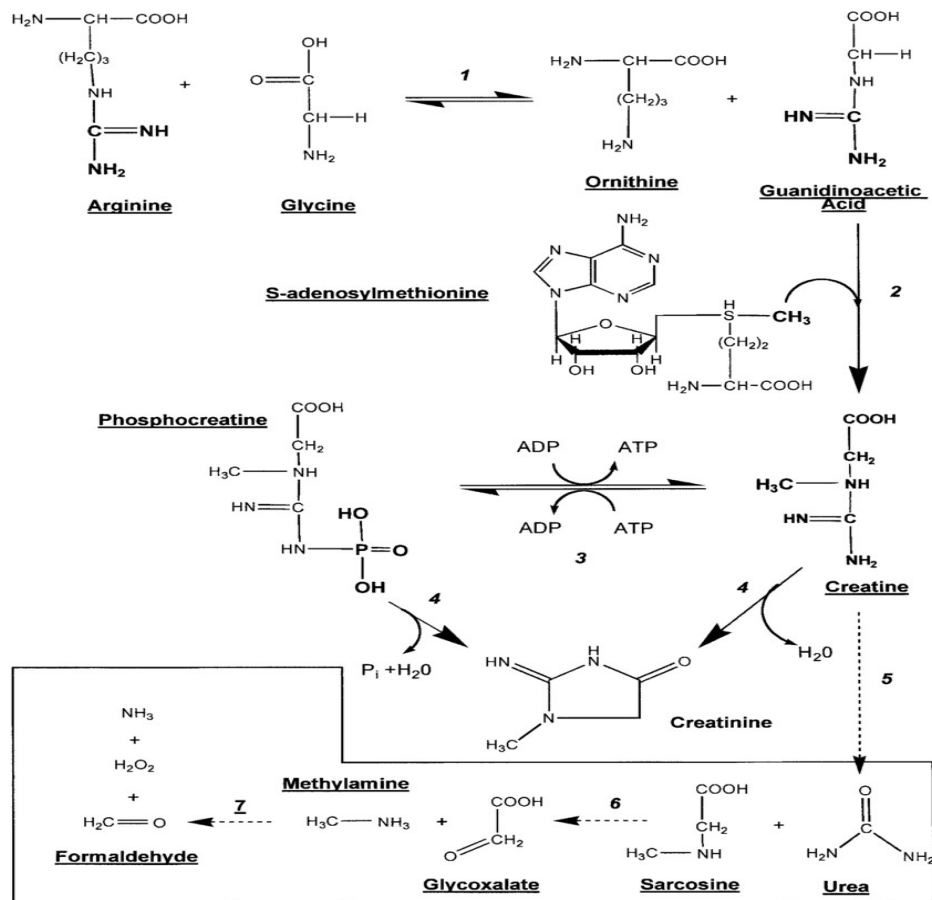
**Gambar 2. 1 Mekanisme Hemodialisis**

### 2. 3. Kreatinin

Kreatinin adalah produk akhir dari metabolisme keratin otot kreatinin fosfat (protein), disintesa dalam hati, ditemukan dalam otot rangka dan darah yang direaksikan oleh ginjal kedalam urine. Jumlah kreatinin yang dikeluarkan seseorang setiap hari lebih bergantung pada massa otot total daripada aktivitas otot atau tingkat metabolisme protein walaupun keduanya juga menimbulkan efek. Pembentukan kreatinin harian umumnya tetap, kecuali jika terjadi cedera fisik yang berat atau penyakit degeneratif yang menyebabkan kerusakan masif pada otot. (Arjani, 2017)

Kadar kreatinin normal pada setiap individu dapat bervariasi tergantung pada usia, jenis kelamin, aktivitas harian, dan berat badan. Secara umum, kadar kreatinin normal dalam tubuh adalah sekitar 0,7–1,3 mg/dL untuk pria dewasa dan 0,5–0,9 mg/dL untuk wanita dewasa. (Fs, 2021)

Kreatinin merupakan hasil metabolisme dari kreatin dan fosfokreatin. Kreatinin memiliki berat molekul 113-Da (Dalton). Kreatinin difiltrasi di glomerulus dan direabsorpsi di tubular. Kreatinin plasma disintesis di otot skelet sehingga kadarnya bergantung pada massa otot dan berat badan. Hasil akhir saat pembentukan kreatinin pada saat energi dari pospat kreatinin yang didapatkan pada proses metabolisme yang terdapat didalam otot rangka. Kreatinin merupakan bahan ampas dari metabolisme tenaga otot, yang seharusnya di saring oleh ginjal dan dimasukkan pada urin. (Lestari et al., 2017)



**Gambar 2. 2 Metabolisme Kreatinin**

Kreatin ditemukan di jaringan otot (sampai dengan 94%). Kreatin dari otot diambil dari darah karena otot sendiri tidak mampu mensintesis kreatin. Kreatin darah berasal dari makanan dan biosintesis yang melibatkan berbagai organ terutama hati. Proses awal biosintesis kreatin berlangsung di ginjal yang melibatkan asam amino arginin dan glisin. Menurut salah satu penelitian in vitro kreatin secara hampir konstan akan diubah menjadi kreatinin dalam jumlah 1,1% per hari. Pembentukan kreatinin dari kreatin berlangsung secara konstan dan tidak ada mekanisme reuptake oleh tubuh, sehingga sebagian besar kreatinin yang terbentuk dari otot diekskresi lewat ginjal sehingga ekskresi kreatinin dapat digunakan untuk menggambarkan filtrasi glomerulus walaupun

tidak 100% sama dengan ekskresi inulin yang merupakan baku emas pemeriksaan laju filtrasi glomerulus. Meskipun demikian, sebagian (16%) dari kreatinin yang terbentuk dalam otot akan mengalami degradasi dan diubah kembali menjadi kreatin. Sebagian kreatinin juga dibuang lewat jalur intestinal dan mengalami degradasi lebih lanjut oleh kreatininase bakteri usus. Kreatininase bakteri akan mengubah kreatinin menjadi kreatin yang kemudian akan masuk kembali ke darah.(Lestari et al., 2017)

Metabolisme kreatinin dalam tubuh menyebabkan ekskresi kreatinin tidak benar-benar konstan dan mencerminkan filtrasi glomerulus, walaupun pada orang sehat tanpa gangguan fungsi ginjal, besarnya degradasi dan ekskresi ekstrarenal kreatinin ini minimal dan dapat diabaikan.(Lestari et al., 2017).

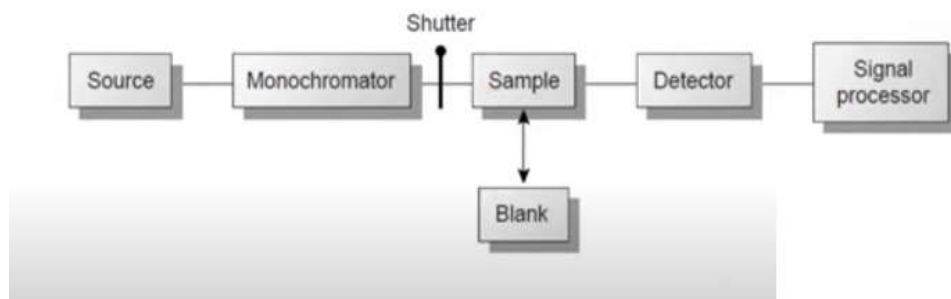
#### **2. 4. Faktor-Faktor Yang Dapat Memengaruhi Kadar Kreatinin**

Terdapat beberapa faktor yang dapat mempengaruhi kadar kreatinin dalam darah diantaranya :

- a. Perubahan massa otot.
- b. Diet kaya daging meningkatkan kadar kreatinin sampai beberapa jam setelah makan.
- c. Aktifitas fisik yang berlebihan dapat meningkatkan kadar kreatinin dalam darah.
- d. Obat-obatan yang dapat mengganggu sekresi kreatinin sehingga meningkatkan kadar kreatinin dalam darah.
- e. Peningkatan sekresi tubulus dan destruksi kreatinin internal.

- f. Usia dan jenis kelamin pada orang tua kadar kreatinin lebih tinggi daripada orang muda, serta kadar kreatinin pada laki-laki lebih tinggi dari pada kadar kreatinin wanita .

## 2. 5. Prinsip Kerja Fotometer



**Gambar 2. 3 Skema Bagan Fotometer**

Teknik spektroskopi adalah salah satu teknik analisis fisika-kimia yang mengamati tentang interaksi antara atom atau molekul dengan radiasi elektromagnetik (REM). Radiasi elektromagnetik panjang gelombang 380 nm – 780 nm merupakan radiasi yang dapat diterima oleh panca indera mata manusia, sehingga dikenal sebagai cahaya tampak (visibel). Diluar rentang panjang gelombang cahaya tampak, REM sudah tidak dapat ditangkap oleh panca indera mata manusia (Mulja dan Suharman, 1995). Spektrofotometer adalah alat yang terdiri atas spektrometer dan fotometer.

Spektrometer menghasilkan sinar dari spektrum dengan panjang gelombang tertentu dan fotometer adalah alat untuk mengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau diabsorpsi. Jadi spektrofotometer digunakan

untuk mengukur energi secara relatif jika energi tersebut ditransmisikan, direfleksikan atau diemisikan sebagai fungsi dari panjang gelombang.

Secara skematis pola kerja spektrofotometer UV-VIS (Gambar 1) adalah sebagai berikut:

- a) Sumber-sumber lampu, lampu deuterium digunakan untuk daerah UV pada panjang gelombang dari 190 – 350 nm, sementara lampu halogen kuarsa atau lampu tungsten digunakan untuk daerah visibel pada panjang gelombang antara 350 – 800 nm.
- b) Monokromator digunakan untuk mendispersikan sinar ke dalam komponen-komponen panjang gelombangnya yang selanjutnya akan dipilih oleh celah. Detektor berfungsi mengubah sinyal radiasi yang diterima menjadi sinyal elektronik. Prinsip spektrofotometri didasarkan adanya interaksi dari energi radiasi elektromagnetik dengan zat kimia. Dengan mengetahui interaksi yang terjadi, dikembangkan teknik-teknik analisis kimia yang memanfaatkan sifat-sifat dari interaksi tersebut (Sudarmadji dkk., 1996) Dalam mempelajari analisis kuantitatif dan absorpsi, berkas radiasi dikenakan pada sampel dan kemudian intensitas radiasi yang diteruskan atau ditransmisikan diukur. Radiasi yang diabsorpsi oleh sampel ditentukan dengan membandingkan intensitas dari berkas radiasi yang diteruskan bila ada zat penyerap.

Jika radiasi mengenai sampel memiliki energi sesuai dengan yang dibutuhkan untuk menyebabkan terjadinya perubahan energi, maka terjadilah absorpsi (Sudarmadji dkk., 1996). Penentuan kadar secara spektrofotometri

sinar tampak dilakukan dengan mengukur absorbansi maksimum. Apabila senyawa fisik tidak berwarna maka senyawa diubah dulu menjadi senyawa berwarna melalui reaksi kimia dan absorbansi ditentukan dalam daerah sinar tampak (Roth dan Blaschke, 1998). Hukum Lambert-Beer menyatakan bahwa intensitas yang diteruskan oleh rutan zat penyerap berbanding lurus dengan tebal dan konsentrasi larutan.

Hal tersebut sesuai dengan persamaan :

$$A = a \cdot b \cdot c$$

$A = \text{Log } I_0/I$  Yang mana :

$A$  = absorban

$a$  = absorptivitas

$b$  = tebal kuvet (cm)

$c$  = konsentrasi

$I_0$  = intensitas mula-mula

$I$  = intensitas sinar yang melewati media Kuantitas spektroskopi yang diukur

biasanya adalah transmitans ( $T$ ) =  $I/I_0$  dan absorbansi ( $A$ ) yang mana  $A =$

$\text{Log } 1/T$ . Absorbtivitas ( $a$ ) merupakan suatu konstanta yang tidak tergantung

pada konsentrasi, tebal kuvet, dan intensitas radiasi yang mengenai larutan

sampel. Absorptivitas tergantung pada suhu, pelarut, struktur molekul, dan

panjang gelombang radiasi. Satuan  $a$  ditentukan oleh satuan-satuan  $b$  dan  $c$ .

Jika satuan  $c$  dalam molar (M) maka absorptivitas disebut dengan

absortivitas molar dan disimbolkan dengan  $\epsilon$  dengan satuan  $M^{-1}cm^{-1}$  atau

liter  $mol^{-1}cm^{-1}$ . Jika  $c$  dinyatakan dengan persen berat/volume (g/100ml)

maka absorptivitas dapat ditulis dengan  $E 1\% 1cm$ .

Dalam hukum Lambert-Beer tersebut ada beberapa pembatasan yaitu:

- a. Sinar yang digunakan dianggap monokromatis
- b. Penyerapan terjadi dalam suatu volume yang mempunyai penampang luas yang sama
- c. Senyawa yang menyerap dalam larutan tersebut tidak tergantung terhadap yang lain dalam larutan tersebut
- d. Tidak terjadi peristiwa fluoresensi atau fosforesensi e. Indeks bias tidak tergantung pada konsentrasi larutan (Gandjar dan Rohman, 2007).

Apabila suatu larutan mendapat radiasi berupa sinar polikromatik yaitu sinar yang terdiri atas beberapa macam warna (polikromatis), maka hanya sinar dengan panjang gelombang tertentu yang diserap, sedangkan sinar dengan panjang gelombang lain diteruskan melalui larutan tersebut. Sinar mempunyai warna yang tidak diserap, akan diteruskan. Warna yang diteruskan sebenarnya adalah warna larutan tersebut, sedangkan warna komplementer dari warna itu tidak diteruskan atau yang diserap yaitu warna seperti yang terlihat oleh mata (Sudarmadji dkk., 1996). Tahapan-tahapan dalam analisis spektrofotometri secara garis besar adalah

- a. Pembentukan molekul yang dapat menyerap sinar UV-VIS Hal daerah tersebut. Cara yang digunakan adalah dengan merubah menjadi senyawa lain atau direaksikan dengan reaksi tertentu. Pereaksi yang digunakan harus memenuhi beberapa persyaratan yaitu : 1) Reaksinya selektif dan sensitif 2) Reaksinya cepat, kuantitatif, dan reproduksibel 3) Hasil reaksi stabil dalam jangka waktu yang lama.

- b. Waktu operasional (operating time) Cara ini biasa digunakan untuk pengukuran hasil reaksi atau pembentukan warna.

Tujuannya adalah untuk mengetahui waktu pengukuran yang stabil. Waktu operasional ditentukan dengan mengukur hubungan antara waktu pengukuran dengan absorbansi larutan (Gandjar dan Rohman, 2007). Pengukuran pada operating time akan diperoleh hasil pembacaan serapan yang stabil karena dimungkinkan setelah operating time kompleks warna yang terbentuk telah stabil. Penentuan operating time akan mempengaruhi hasil pengukuran secara keseluruhan (Mulja dan Suharman, 1995).

- c. Pemilihan panjang gelombang Panjang gelombang yang digunakan untuk analisis kuantitatif adalah panjang gelombang yang mempunyai absorbansi maksimal. Untuk memilih panjang gelombang maksimal, dilakukan dengan membuat kurva hubungan antara absorbansi dengan panjang gelombang dari suatu larutan baku pada konsentrasi tertentu (Gandjar dan Rohman, 2007). Pengertian  $\lambda_{\text{maks}}$  adalah panjang gelombang suatu larutan dimana larutan tersebut memberikan serapan terbesar. Cara menentukan  $\lambda_{\text{maks}}$  adalah dengan melakukan pembacaan serapan pada berbagai panjang gelombang dan serapan terbesar pada  $\lambda$  tertentu tersebut digunakan sebagai  $\lambda_{\text{maks}}$  (Mulja dan Suharman, 1995).

- d. Pembuatan kurva baku dibuat seri larutan baku dari zat yang akan dianalisis dengan berbagai konsentrasi. Masing-masing absorbansi larutan dengan berbagai konsentrasi diukur, kemudian dibuat kurva yang merupakan hubungan antara absorbansi dengan konsentrasi.

- e. Pembacaan absorbansi sampel atau cuplikan Absorban yang terbaca pada spektrofotometer hendaknya antara 0,2 sampai 0,8 atau 15 % sampai 70 % jika dibaca sebagai transmitans. Anjuran ini berdasarkan anggapan bahwa kesalahan dalam pembacaan T adalah 0,005 atau 0,5 % (Gandjar dan Rohman, 2007)

## **2. 6. Pemeriksaan Kadar Kreatinin**

Pemeriksaan kadar kreatinin darah dapat diukur absorbansinya dengan panjang gelombang tertentu menggunakan spektrofotometer dan prinsip pembacaanya terbentuk sinar dari spektrum dengan panjang gelombang tertentu gelombang tertentu dari sinar putih. Beberapa metode yang digunakan untuk pemeriksaan kreatinin darah adalah sebagai berikut :

### **2.6.1. Metode Jaffe**

Pertama kali ditemukan oleh Jaffe pada tahun 1886, berdasarkan reaksi antara kreatinin dan fikrat pada suasana basa yang akan membentuk warnah merah orange dan terjadi perubahan absorpsi pada panjang gelombang antara 505 nm dan 520 nm. (Preeti & Suresh, 2017).

Metode ini merupakan metode yang sederhana dan mudah dimana metode ini merupakan salah satu pengembangan metode kolorimetri berdasarkan reaksi antara kreatinin dengan adam pikrat dalam suasana basa, membentuk kompleks kreatinin pikrat berwarna kuning yang dapat diukur menggunakan photometer 4010 pada panjang gelombang 492 nm.

Metode ini didasarkan pada pembentukan senyawa berwarna merah-oranye yang terjadi antara asam pikrat dengan kreatinin dalam suasana basa. Cara ini memerlukan sampel dan waktu yang diperlukan sekitar 30 menit. (Ezeqogbu, Mark O. Abdulsalam, 2018), (Delanaye et al., 2017) Masih merupakan termasuk dari metode Jaffe tetapi yang membedakan cara inkubasi dan pembacaan sampel adalah sebagai berikut :

**Metode *One Point*** melakukan pembacaan pada waktu tertentu, yaitu pengukuran yang dilakukan pada saat reaksi antara sampel dan reagen terhenti. Metode one point memiliki kestabilan warna sampai dengan 10-60 menit dengan inkubasi menggunakan suhu 25°C, melihat kepekatan warna dan ketepatan waktu pembacaan akan berpengaruh pada hasil pemeriksaan. Penambahan larutan asam pikrat dari hasil pengenceran menggunakan 1000 µl pada serum sebelum dilakukan pengukuran, setelah disentrifuge dengan kecepatan tinggi antara 5-10 menit bertujuan agar protein dan senyawa-senyawa lain akan mengendap dan supernatannya digunakan untuk pemeriksaan. Adapun beberapa faktor kelemahan dan kelebihan pada metode one point sebagai berikut :

- Faktor kelemahan adalah pada saat melakukan pemeriksaan waktu inkubasi tidak diperhatikan (10-60).
- Faktor kelebihan adalah menggunakan metode one point hanya memerlukan satu kali pengukuran kadar kreatinin darah.

**Metode *Two Point*** dilakukan pengukuran kadar kreatinin darah dengan inkubasi di suhu 25°C dengan waktu inkubasi selama 60 detik maka

dilakukan pengukuran kadar kreatinin untuk mendapatkan absorban sampel kemudian pada menit kedua dilakukan pengukuran untuk melihat absorban sampel dengan menggunakan panjang gelombang 492 nm proses pengukuran dilakukan saat reaksi reagen dengan sampel sedang berlangsung (kecepatan reaksi enzim dapat berubah per satuan waktu).(Peake & Whiting, 2006) Adapun beberapa faktor kelemahan dan kelebihan dari metode two point sebagai berikut :

- a) Faktor kelemahan adanya gangguan terhadap bilirubin, ureum, protein yang mengakibatkan hasil tinggi palsu.
- b) Faktor kelebihan adalah waktu yang diperlukan untuk inkubasi pertama 60 detik kemudian inkubasi kedua memerlukan waktu 2 menit dan sampel yang diperlukan hanya sedikit sekitar 100  $\mu$ l.

## 2. 7. Kerangka Konsep

