



PEMERIKSAAN MICROALBUMINURIA DENGAN MENGGUNAKAN METODE IMMUNOTURBIDIMETRI

Y. Kusumo Adi Arji Atmanto¹, Tenri Esa², Uleng Bahrun²

¹Program Pendidikan Dokter Spesialis Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, Makassar

²Departemen Ilmu Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, Makassar

Corresponding Author: Y. Kusumo Adi Arji Atmanto, Program Pendidikan Dokter Spesialis Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.

E-Mail: adi.pk.unhas@gmail.com

Received 18 Juni 2024; Accepted 28 Juni 2024; Online Published 30 Juli 2024

Abstrak

Mikroalbuminuria (MA) adalah suatu kondisi terdapatnya albumin di dalam urine. MA telah dikaitkan dengan adanya penyakit ginjal diabetes. MA sendiri bukan bukti pasti adanya nefropati, namun beberapa penderita diabetes tipe 1 dan tipe 2 dengan MA akan berkembang menjadi nefropati dari waktu ke waktu. Pada pasien yang menderita hipertensi dan diabetes, MA sebagai petanda dari disfungsi endotelial dan peningkatan risiko morbiditas serta mortalitas kardiovaskular. Tes MA diindikasikan sebagai tes skrining, diagnosis, dan pemantauan terapi penyakit ginjal dan kardiovaskular. Tes skrining dilakukan pada setiap pasien yang berisiko mengalami MA di mana hasil tes akan memberikan informasi tentang tingkat risiko kardiovaskular dan ginjal, serta implikasi terapeutik. Metode-metode yang dipakai dalam pengukuran kuantitatif albumin yaitu: High Performance Liquid Chromatography (HPLC), Immunonephelometry, Immunoturbidimetry, Radioimmunoassay. Turbidimetry adalah pengukuran kehilangan cahaya yang melewati larutan, sedangkan nephelometry adalah pengukuran peningkatan cahaya yang dipantulkan ke arah yang berbeda. Seringkali antibodi digunakan dengan metode turbidimetry dan nephelometry ini disebut metode immunoturbidimetry dan immunonephelometry. Metode ini digunakan untuk mengukur konsentrasi partikel besar (seperti kompleks antigen-antibodi, prealbumin, dan protein serum lainnya) yang karena ukurannya tidak dapat diukur dengan spektroskopi absorpsi. Pada Immunoturbidimetry dilakukan deteksi sinar yang ditransmisikan ke arah depan dan pengukuran terhadap pengurangan kadar transmisi sinar yang disebabkan oleh kekeruhan yang terjadi akibat pembentukan partikel akibat adanya kompleks antigen-antibodi.

Keywords: Mikroalbuminuria, immunoturbidimetry, kompleks antigen-antibodi

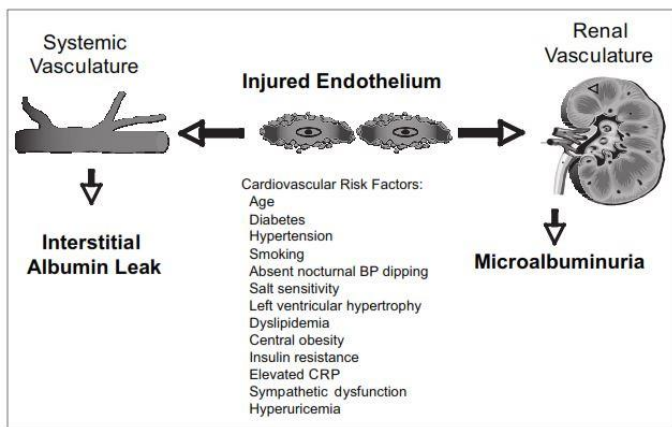
PENDAHULUAN

Mikroalbuminuria (MA) adalah suatu kondisi terdapatnya albumin di dalam urine. Albumin biasanya difiltrasi oleh glomerulus dan diserap kembali di tubulus proksimal ginjal; oleh karena itu, hanya sejumlah kecil albumin biasanya ada dalam urin, dalam kondisi normal berkisar antara 5-10 mg dan rasio albumin: kreatinin urin berkisar antara 0-29 mg albumin / g kreatinin. Definisi MA menurut American Diabetes Association adalah suatu kondisi terdapatnya albumin di dalam urin sebesar 30 - 299 mg/24 jam (sampel urin 24 jam) atau 20 - 199 ug/menit (sampel urin sewaktu). Bila menggunakan sampel urin sewaktu maka diperlukan pemeriksaan tambahan yaitu kreatinin untuk koreksi, sehingga dinyatakan sebagai rasio albumin terhadap kreatinin, dimana dikatakan MA bila

terdapat albumin dalam urin sebesar 30-299 mg albumin / g kreatinin (30-299 µg albumin/ mg kreatinin). American Diabetes Association dan National Institutes of Health merekomendasikan pengukuran albumin dalam urin menggunakan teknik rasio albumin: kreatinin. Sedangkan makroalbuminuria (Proteinuria) didefinisikan sebagai peningkatan abnormal ekskresi albumin ke dalam urine ≥ 300 mg albumin / g kreatinin.^{1,2,3}

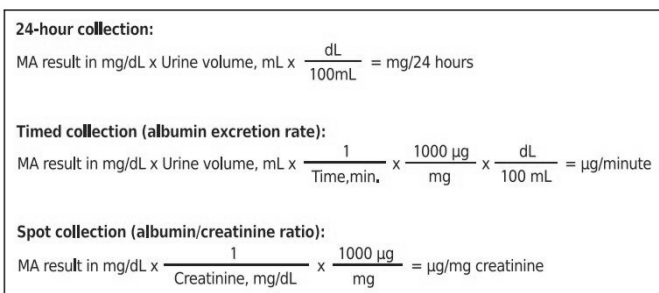
MA telah dikaitkan dengan adanya penyakit ginjal diabetes (Diabetic Kidney Disease). Fase ini membutuhkan manajemen yang agresif, untuk mencegah atau memperlambat terjadinya nefropati diabetik. MA sendiri bukan bukti pasti adanya nefropati, namun beberapa penderita diabetes tipe 1 dan tipe 2 dengan MA akan berkembang menjadi nefropati

dari waktu ke waktu. MA yang menetap juga merupakan penanda peningkatan permeabilitas pembuluh darah yang terkait dengan berbagai faktor risiko penyakit kardiovaskular. Pada pasien yang menderita hipertensi dan diabetes, MA sebagai petanda dari disfungsi endotelial dan peningkatan risiko morbiditas serta mortalitas kardiovaskular.¹



Gambar 1. Microalbuminuria : manifestasi kerusakan sel endotelial difus¹

Telah dijelaskan sebelumnya bahwa sampel yang dipergunakan yaitu sampel urine 24 jam, maupun urine sewaktu. Oleh karena itu diperlukan konversi hasil pengukuran MA berdasarkan tipe sampel urine yang dipergunakan. Gambar 2 menunjukkan cara konversi hasil pengukuran MA berdasarkan tipe sampel urine.³



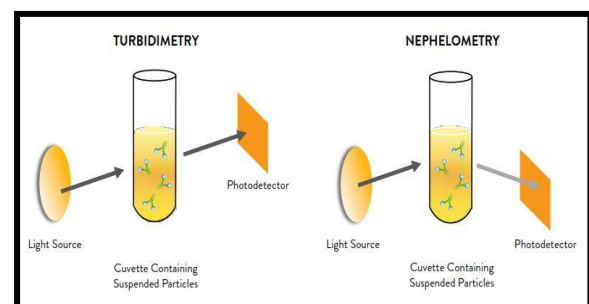
Gambar 2. Konversi hasil pengukuran MA berdasarkan tipe sampel urine³

Tes MA diindikasikan sebagai tes skrining, diagnosis, dan pemantauan terapi penyakit ginjal dan kardiovaskular. Tes skrining dilakukan pada setiap pasien yang berisiko mengalami mikroalbuminuria di mana hasil tes akan memberikan informasi tentang tingkat risiko kardiovaskular dan ginjal, serta implikasi terapeutik. Metode-metode yang dipakai dalam pengukuran kuantitatif albumin yaitu High Performance Liquid Chromatography (HPLC), Immunonephelometry, Immunoturbidimetry, Radioimmunoassay. Setiap metode mempunyai detection limit yang berbeda.^{1,2}

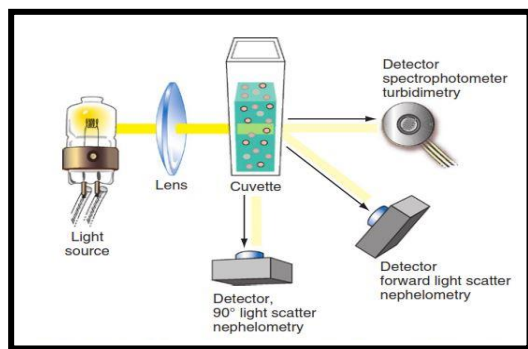
Turbidimetry adalah pengukuran kehilangan cahaya yang melewati larutan, sedangkan nephelometry adalah pengukuran peningkatan cahaya yang dipantulkan ke arah yang berbeda. Metode ini didasarkan pada pembentukan partikel yang tidak dapat

larut yang mengganggu jalannya cahaya melalui larutan. Analit bereaksi dengan pereaksi tambahan untuk menghasilkan partikel yang tidak larut yang tetap tersuspensi dalam larutan. Ketika cahaya mengenai partikel-partikel ini, sebagian terpantul ke berbagai arah. Detektor ditempatkan untuk mengukur jumlah kehilangan cahaya atau jumlah cahaya yang dipantulkan ke arah yang berbeda oleh partikel. Semakin tinggi konsentrasi analit, semakin besar partikel yang akan menghambat cahaya yang melewati larutan dan meningkatkan jumlah cahaya yang dipantulkan. Dalam turbidimetry, detektor ditempatkan di depan langsung dengan cahaya yang datang. Jumlah kehilangan cahaya yang ditangkap oleh detektor berkurang seiring dengan peningkatan jumlah partikel analit. Dalam nephelometry, detektor ditempatkan di sudut jalan cahaya untuk menghindari deteksi cahaya yang melewati sampel. Detektor nephelometry menangkap cahaya yang dipantulkan ke arah yang berbeda oleh partikel. Jumlah cahaya yang dipantulkan mencapai detektor, meningkat seiring dengan meningkatnya jumlah partikel analit.⁴

Seringkali antibodi digunakan dengan metode turbidimetry dan nephelometry ini disebut metode immunoturbidimetry dan immunonephelometry. Metode ini digunakan untuk mengukur konsentrasi partikel besar (seperti kompleks antigen-antibodi, prealbumin, dan protein serum lainnya) yang karena ukurannya tidak dapat diukur dengan spektroskopi absorpsi.⁴ Antibodi dalam reagen akan menyebabkan molekul analit membentuk kompleks antigen-antibodi dimana agregat partikel besar ini meningkatkan pantulan cahaya, meningkatkan sinyal analitis yang diukur.⁴ Pada Immunoturbidimetry dilakukan deteksi sinar yang ditransmisikan ke arah depan dan pengukuran terhadap pengurangan kadar transmisi sinar yang disebabkan oleh kekeruhan yang terjadi akibat pembentukan partikel akibat adanya kompleks antigen-antibodi. Jumlah sinar yang diabsorpsi oleh suspensi partikel tergantung pada konsentrasi spesimen dan ukuran partikel, sehingga zat yang menyebabkan kekeruhan sampel dapat dihitung kadarnya oleh spektrofotometer pada alat.⁵⁻⁸



Gambar 3. Prinsip Turbidimetry dan Nephelometry⁴



Gambar 4. Prinsip *Immunoturbidimetry* dan **TUJUAN** *Immunonephelometry*⁵

Tujuan pemeriksaan ini adalah untuk mengukur kadar albumin dalam urine sebagai petanda dari disfungsi endotelial dan peningkatan risiko morbiditas serta mortalitas kardiovaskuler, dengan metode immunoturbidimetri menggunakan EUROLyser CUBE-5 analyser.

METODE^{3,8-11}

A. Pra Analitik

1. Persiapan pasien

Tidak melakukan latihan fisik berat dalam 24 jam terakhir, tidak ada keadaan dehidrasi, tidak demam, tidak ada peradangan, tidak sedang menderita infeksi saluran kemih, tidak sedang minum obat-obat tertentu (acetaminophen, ibuprofen, glibenclamide, metformin).

2. Persiapan sampel

Sampel yang digunakan adalah urine 24-hour collections, timed collections, dan spot atau random collections. Sampel urine dapat disimpan dalam refrigerator 2-8°C hingga 2 minggu, atau dibekukan pada suhu -70°C hingga 5 bulan.

3. Alat dan bahan

Alat:

- a. EUROLyser Cube 5 analyser
- b. Test kit rack
- c. Timer
- d. Radio Frequency Identification (RFID) Card
- e. Pipet volumetrik dan pipet tip 10 µl

Bahan:

- a. Sampel urine
- b. EUROLyser Microalbumin test kit yang terdiri dari :
 - Cuvette Eurolyser Reagent System (ESR) berisi Reagen buffer pH 7,6 100 mM Tris
 - Cap Eurolyser Reagent System (ESR) berisi Reagen antiserum pH 7,6 dan 20 % anti-human albumin goat antiserum 100 mM Tris

4. Stabilitas Reagen dan Penyimpanan

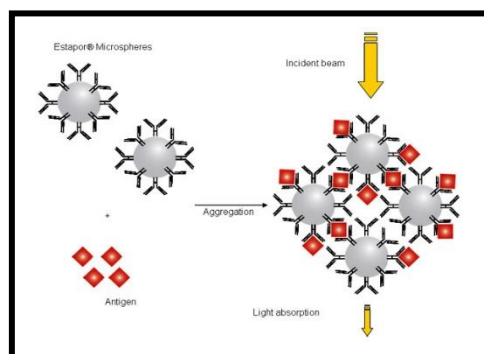
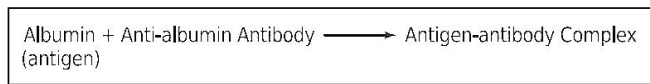
Reagen disimpan pada suhu 2-8°C, dapat dipakai sampai tanggal kadaluarsa yang tercetak pada label. Sekali dibuka, reagen stabil hingga 3 bulan

dari sejak dibuka, kecuali tanggal kadaluarsanya terlampaui. Jangan disimpan dalam freezer.

B. Analitik

1. Prinsip tes

Menentukan konsentrasi albumin dari kompleks antigen-antibodi yang terbentuk dalam sampel melalui pengukuran fotometri pada panjang gelombang 700 nm secara end-point method. Konsentrasi albumin diukur berdasarkan pengurangan kadar transmisi sinar yang disebabkan oleh kekeruhan yang terjadi akibat pembentukan kompleks antigen-antibodi pada sampel. Jumlah sinar yang diabsorpsi oleh suspensi partikel tergantung pada konsentrasi spesimen dan ukuran partikel, sehingga zat yang menyebabkan kekeruhan sampel dapat dihitung kadarnya oleh spektrofotometer secara otomatis berdasarkan kurva kalibrasi pada alat.^{3,5-7,11,12}



Gambar 5. *Antigen-antibody complex*³

2. Cara kerja¹¹

- a. Buka paket Microalbumin test kit, lalu tulis tanggal dibukanya paket tersebut pada label yang tersedia.
- b. Ambil ESR cuvette dan ESR cap dalam paket Microalbumin test kit, lalu letakkan dalam test kit rack secara terpisah.
- c. Biarkan selama 10 menit sampai tercapai suhu ruangan.
- d. Ambil dan letakkan RFID Card pada RFID Card Pit pada alat EUROLyser CUBE-5 analyser.
- e. Tekan tombol “Measurement” dan masukkan data nama dan identitas pasien pada tablet PC yang tersedia di alat. Kemudian pengukuran blanko dimulai, pintu pada alat akan terbuka.
- f. Pipetkan 20µl sampel urine, lalu masukkan ke dalam ESR cuvette.
- g. Tutup ESR cuvette yang telah berisi sampel urine dengan ESR cap, kemudian letakkan di pintu alat yang telah terbuka. Pintu alat ditutup.

- h. Sampel akan diproses otomatis oleh alat. Hasil pengukuran sampel akan terlihat di layar tablet PC alat dalam satuan mg/dl dan

	24-h collection (mg/24 hrs)	Timed collection (Albumin excretion rate) (µg/min)	Spot collection (Albumin/Creatinin ratio) (µg/mg creatinin)
Normal	<30	<20	<30
Microalbuminuria	30-299	20-199	30-299
Clinical Albuminuria	≥300	≥200	≥300

pintu alat akan terbuka otomatis.

- i. Buang ESR cuvette dan ESR cap pada tempat sampah yang tersedia, kemudian tutup pintu alat.
3. Linearitas^{11,13}
- Linearitas terendah : 0,5 mg/dl (5 mg/l)
 - Linearitas tertinggi : 30 mg/dl (300 mg/l)

C. Pasca Analitik

- Nilai rujukan^{11,13}
Tercantum pada EURO Lyser Microalbumin test kit sebagai reference range < 2,5 mg/dl (<25 mg/l). Pada Microalbumin test kit lainnya tercantum sebagai expected value sebagai berikut:
- Interpretasi^{1,14,15}
Mikroalbuminuria sebagai :
 - Prediktor outcome pada pasien dengan penyakit ginjal, terutama penyakit ginjal diabetes (Diabetic Kidney Disease):
 - Membutuhkan manajemen yang agresif, untuk mencegah atau memperlambat terjadinya nefropati diabetik.
 - Beberapa kondisi medis yang dapat menyebabkan kerusakan ginjal termasuk:
 - Tekanan darah tinggi
 - Diabetes tipe I dan tipe II
 - Obesitas dan sindrom metabolik
 - Penyakit ginjal bawaan genetik.
 - Prediktor morbiditas dan mortalitas pada pasien yang tidak memiliki bukti signifikan menderita penyakit ginjal.
Pada pasien dengan hipertensi, mikroalbuminuria dihubungkan dengan hipertrofi ventrikel kiri. Pada pasien yang menderita hipertensi dan diabetes, mikroalbuminuria sebagai petanda dari disfungsi endotelial dan peningkatan risiko morbiditas serta mortalitas kardiovaskular. Ada beberapa keadaan yang dapat meningkatkan ekskresi albumin dalam urin untuk sementara waktu, yaitu:
 - Keadaan dehidrasi
 - Demam
 - Luka kecil yang menyebabkan peradangan

- Setelah melakukan latihan fisik yang intens
- Infeksi saluran kemih
- Obat-obatan tertentu
- Asupan natrium dan protein dalam makanan

DAFTAR PUSTAKA

- Toto, R. D. (2004). Microalbuminuria: Definition, Detection, and Clinical Significance. *The Journal of Clinical Hypertension*, 6(s11), 2–7. doi:10.1111/j.1524-6175.2004.4064.x
- Chugh, A., & Bakris, G. L. (2007). Microalbuminuria: What Is It? Why Is It Important? What Should Be Done About It? An Update. *The Journal of Clinical Hypertension*, 9(3), 196–200. doi:10.1111/j.1524-6175.2007.06445.x
- Beckman Coulter. Chemistry Information Sheet Microalbumin. 2010;(August):1–10.
- Roberta Reed PD. Clinical Chemistry Learning Guide series. Clin Chem [Internet]. 2016; Available from: https://www.corelaboratory.abbott/sal/learningGuide/AD-D-00061345_ClinChem_Learning_Guide.pdf
- McPherson R, Pincus MR. Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. Elsevier Saunders. 2011. P47-48
- Whicher, J. T., Price, C. P., Spencer, K., & Ward, A. M. (1982). Immunonephelometric and Immunoturbidimetric Assays for Proteins. *CRC Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 18(3), 213–260. doi:10.3109/10408368209085072
- DiaSys. DiaSys Immunoturbidimetric Tests No Doubt Advantages of Turbidimetric Testing. 49(0):0–1
- Pointe Scientific. Microalbumin Reagent Set. 1988
- Gmbh ED. Point-of-Care Test Products Article List point-of-care instruments. 2018;(December).
- Eurolyser CUBE Product flyer. Available from: http://www.sysmex.de/fileadmin/media/f101/Produktflyer/hosPOC/Produktflyer_Eurolyser_Cube.pdf
- Gmbh ED, Testkit M, Kit MC. Microalbumin test kit. 43(0):1–4
- Diasys. Albumin in Urine/CSF FS: Diagnostic Reagent for Quantitative in Vitro Determination of Albumin in urine, CSF, Serum or Plasma on Photometric Systems. 2012;(1):10–1.
- Beckman Coulter Microalbumin test kit
- Devkota Bishnu Prasad. Microalbumin: Reference Range, Interpretation, Collection and Panels. 2014. Available from: <https://emedicine.medscape.com/article/2088184-overview#showall>
- Hickman Ruth Jessen. An Overview of Microalbuminuria. 2020. Available from : <https://www.verywellhealth.com/microalbuminuria-overview-4684503>serta Upaya Pengendaliannya. Bagian Patologi Klinik FK Unhas. Makassar. 2007.