

Critical Impact of Storage Conditions on Kidney Biomarkers

Risma Intantri¹⁾, Andika Aliviameita^{*2)}, Puspitasari³⁾, Chylen Setyo Rini⁴⁾
Program Studi Teknologi Laboratorium Medis, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia
Email: aliviameita@umsida.ac.id

Abstract. This study investigated the impact of storage time (0, 4, 8, and 24 hours) at 2-8°C on urea and creatinine levels in serum samples from healthy young adults. Using a laboratory experimental design, 32 serum samples were analyzed with enzymatic and Jaffe-kinetic methods on a Microlab 300 photometer. Results from One Way ANOVA indicated significant effects on urea ($p=0.007$) and creatinine levels ($p=0.009$) across different storage times, with Post-Hoc tests revealing significant differences between the 0-hour and 24-hour storage groups for both biomarkers. These findings highlight the importance of standardized storage protocols in clinical laboratories to ensure accurate kidney function assessment and improve diagnostic reliability.

Highlights:

1. **Storage Conditions Influence Biomarker Levels:** Temperature and time affect urea and creatinine.
2. **Experimental Setup:** Controlled lab study on serum samples with varying storage durations.
3. **Clinical Importance:** Standard protocols ensure accurate kidney function assessment in diagnostics..

Keywords: kidney function, serum biomarkers, storage conditions, clinical laboratories, diagnostic reliability

Introduction

Laboratorium kesehatan merupakan sarana kesehatan yang menjadi tempat untuk dilakukannya identifikasi, pengukuran dan pengujian terhadap bahan yang ada di manusia dengan tujuan menentukan jenis, penyebab, dan kondisi yang mempengaruhi kesehatan individu dan lingkungan. Laboratorium kesehatan merupakan sarana yang melakukan pemeriksaan pada bidang hematologi, imunologi, patalogi anatomi, dan bidang-bidang yang berhubungan pada kepentingan kesehatan perorangan yaitu sebagai diagnosis penyakit, penyembuhan, dan pemulihan kesehatan. Terhadap tiga fase yaitu pra analitik, analitik, dan pasca analitik [1].

Serum merupakan zat cair yang terbentuk dari darah dan tidak mengandung fibrinogen. Protein dalam darah akan menjadi jaringan fibrin lalu terkoagulasi dan bercampur dengan sel. Serum darah didapat dari spesimen yang tidak mengandung antikoagulan dan dibiarkan membeku selama 15-30 menit. Kemudian dilakukan

sentrifugasi agar sel-sel darah mengendap dengan kecepatan 3000 rpm dengan waktu kurang lebih 15 menit. Cairan kuning yang dihasilkan setelah sentrifugasi ini yang disebut sebagai serum darah [2].

Ginjal merupakan organ yang sangat penting untuk mempertahankan osmolaritas cairan ekstraseluler, stabilitas volume, dan komposisi elektrolit. Fungsi yang lainnya dari ginjal adalah untuk membuang produk sisa metabolime tubuh seperti Blood Urea Nitrogen (BUN), kreatinin dan uric acid (asam urat). Jika produk buangan hasil dari metabolisme dibiarkan menumpuk, maka dapat menjadi racun bagi tubuh, yaitu organ ginjal, karena peran ginjal adalah sebagai penyaring atau filtrasi, maka akan menjadi masalah yang serius ketika ginjal rusak (disfungsi) [3]. Parameter yang sering digunakan untuk mendeteksi gangguan fungsi ginjal adalah kreatinin, urea (BUN), dan asam urat [4].

Kreatinin didapat dari filtrasi glomerulus secara lengkap dan tidak di reabsorpsi oleh tubulus ginjal sehingga setiap harinya kadar kreatinin dapat konstan. Kadar kreatinin biasanya diperiksa menggunakan sampel serum dan segera diperiksa dalam waktu 1 jam setelah pengambilan sampel. Salah satu indeks dari fungsi ginjal terpenting adalah Glomerular Filtration Rate (GFR) atau laju filtrasi glomerulus, untuk memeriksa jaringan ginjal yang masih berfungsi. Pemeriksaan kosentrasi kadar urea dan kreatinin merupakan parameter pemeriksaan fungsi ginjal yang dapat digunakan untuk melihat apakah ada gangguan atau kerusakan pada organ ginjal. Keterlambatan pemeriksaan sering terjadi karena adanya kerusakan pada alat pemeriksaan, ketidakseimbangan antara jumlah pasien dengan jumlah pekerja analis, sehingga sampel dapat tertunda cukup lama [4]. Nilai normal dari kadar kreatinin serum laki-laki 0,8 – 1,3 mg/dL, sedangkan kadar kreatinin pada perempuan 0,6 – 1,2 mg/dL [5].

Urea diproduksi dari sisa metabolime protein lalu diekresikan oleh ginjal. Tingginya kadar urea dalam darah menyebabkan peningkatan morbiditas. Pemeriksaan kadar ureum pada serum adalah indikator untuk mengetahui tingkat fungsi ginjal [6]. Penurunan kadar urea dan kreatinin dapat terjadi karena dipengaruhi oleh lama waktu penyimpanan, penundaan dan suhu yang tidak tepat, sehingga dapat terjadi perubahan pada kosentrasi protein akibat penurunan protein yang mencegah ikatan peptida dan mengubah protein menjadi asam amino. Denaturasi protein menyebabkan kerusakan

protein karena suhu dan pemeriksaan yang ditunda, sehingga dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan kadar urea dan kreatinin [7].

Proses pra analitik di laboratorium berdasarkan penelitian sebelumnya diperoleh hasil bahwa penyimpanan pada suhu yang tidak sesuai dan lamanya penundaan serum dapat berakibat terjadinya ketidak seimbangan konsentrasi protein. Disebabkan oleh degradasi protein. Protein diubah menjadi asam amino, dan proporsi protein menjadi rendah. Pemeriksaan kadar kreatinin yang ditunda dapat menyebabkan penurunan, sehingga kadar kreatinin yang ditunda lebih rendah daripada kadar kreatinin yang segera diperiksa. Teori tersebut menyatakan bahwa proses penundaan pemeriksaan mampu mempengaruhi hasil. Berdasarkan penelitian sebelumnya terjadi penurunan pada kadar kreatinin yang ditunda selama 4 jam dan 5 jam. Hasil yang didapatkan dianalisis menggunakan uji One Way Anova, didapatkan $F_{hitung} > F_{tabel}$ ($3,628 > 3,403$) dengan nilai signifikansi $< 0,05$ ($0,042 < 0,05$). Dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan terhadap kadar kreatinin yang ditunda dengan yang segera diperiksa [3].

Menurut penelitian sebelumnya perlakuan pada penyimpanan serum yang digunakan memeriksa kadar ureum membutuhkan prosedur yang tepat, agar kestabilan serum terjaga. Penyimpanan sampel serum yang tidak tepat dengan prosedurnya maka akan menyebabkan ketidaklayakan pada serum. Maka lebih diperhatikan stabilitas sampel serum. Berdasarkan hasil yang diperoleh terdapat perbedaan pada kadar ureum yang segera diperiksa dengan yang ditunda. Kadar ureum yang ditunda lebih rendah dari kadar ureum yang segera diperiksa. Rata-rata kadar ureum yang segera diperiksa sebesar 26,77 mg/dl, sedangkan kadar ureum yang ditunda selama 4 jam didapatkan hasil sebesar 22,88 mg/dl serta kadar ureum yang ditunda 5 jam didapatkan hasil sebesar 18,44 mg/dl. Hasil statistik menunjukkan nilai signifikansi sebesar $1,02 > 0,05$, yang berarti tidak terjadi perbedaan tetapi ada penurunan pada kadar ureum yang ditunda pada suhu ruang [8].

Menurut penelitian sebelumnya diperoleh hasil penelitian menunjukkan 10 sampel serum mengalami peningkatan di atas nilai normal di penyimpanan 10 hari pada suhu -20°C , pada konsentrasi urea terjadi peningkatan di atas nilai normal dalam dua hari dari sepuluh sampel, sedangkan pada 8 sampel lainnya ditemukan normal [9]. Berdasarkan pernyataan di atas perlu untuk dilakukan penelitian terhadap pengaruh lama waktu penundaan dan suhu terhadap kadar urea dan kreatinin serum. Tujuan dari penelitian

ini untuk mengetahui adanya pengaruh lama waktu penundaan dan suhu terhadap kadar urea dan kreatinin serum.

Method

Penelitian dilakukan setelah mendapatkan uji kelaikan etik (ethical clearance) dikomisi Etik Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Airlangga Surabaya dengan nomor 527/HRECC.FODM/V/2023. Penelitian ini menggunakan desain penelitian eksperimental laboratorik, untuk mengetahui adanya pengaruh lama penyimpanan serum segera, 4 jam, 8 jam dan 24 jam pada suhu 2-8°C terhadap kadar urea dan kreatinin. Teknik pengambilan sampel menggunakan purposive random sampling. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Klinik, program Studi D-IV Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo pada bulan Mei 2023. Sampel penelitian ini adalah serum mahasiswa prodi D-IV Teknologi Laboratorium Medis Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Sidoarjo. Berdasarkan kriteria inklusi pasien berjenis kelamin laki-laki, usia 20-24 tahun dan pasien dalam keadaan sadar. Kriteria eksklusi terdapat pengaruh penundaan pada suhu 2-8° C terhadap kadar urea dan kreatinin. Sebanyak 32 serum dibagi dalam 4 kelompok perlakuan, yang mana masing-masing kelompok perlakuan 8 serum. Cara kerja untuk mendapatkan serum yaitu persiapan pasien lalu melakukan pengambilan darah vena menggunakan spuit 3cc, masukan darah yang telah diperoleh kedalam tabung vacutainer dengan tutup berwarna merah, tunggu spesimen darah yang telah diperoleh hingga membeku selama 20-30 menit dengan suhu ruang, lakukan sentrifugasi terhadap spesimen darah selama 10 menit menggunakan kecepatan 3000 rpm, pisahkan serum dengan sel darah merah, Serum yang telah didapatkan dibagi menjadi 4 tabung masing-masing tabung di beri label yang berbeda. Tabung pertama segera 0 jam, selanjutnya diberi label 4.8.dan 24 jam. Selanjutnya dilakukan pemeriksaan urea memipet reagen R1 sebanyak 400 µL dan R2 sebanyak 100 µL, tambahkan sampel serum sebanyak 5 µL, homogenkan dan baca pada alat fotometer, inkubasi dalam alat selama 2 menit dan tunggu hasil keluar. Selanjutnya dilakukan uji kreatinin yaitu memipet reagen R1 dan R2 kreatinin 250 µL, tambahkan sampel serum sebanyak 50 µL, homogenkan dan baca dengan alat fotometer, inkubasi di dalam alat selama 2 menit dan tunggu hasil keluar. Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah fotometer (Microlab 300), sedangkan bahan yang

digunakan adalah reagen urea (ELITech) menggunakan metode Urease/GIDH-kinetic, dan reagen kreatinin (ELITech) menggunakan metode Jaffe-kinetic. Selanjutnya data yang diperoleh dianalisa dengan uji statistik One Way Anova.

Result and Discussion

Berdasarkan Tabel 1. menunjukkan bahwa setelah dilakukan penundaan pada pemeriksaan urea mengalami peningkatan pada seluruh kelompok perlakuan. Pada kelompok perlakuan 4 jam mengalami peningkatan dari 17,700 mg/dL mejadi 18,713 mg/dL, pada kelompok perlakuan 8 jam mengalami peningkatan dari 18,713 mg/dL menjadi 20,388 mg/dL, Pada kelompok perlakuan 24 jam mengalami peningkatan dari 20,338 mg/dL menjadi 22,788 mg/dL. Hasil uji Anova dari kadar urea didapatkan nilai signifikansi sebesar $p = 0,007$ ($p < 0,05$) yang menunjukkan terdapat pengaruh penundaan serum terhadap kadar urea. Kemudian untuk mengetahui kelompok yang terdapat pengaruh selanjutnya maka dilakukan uji statistika Post-Hoc Test. Dari hasil uji Post-Hoc Test terlihat bahwa terjadi pengaruh yang signifikan yaitu pada kelompok perlakuan 0 jam dan 24 jam.

Berdasarkan Tabel 2. menunjukkan bahwa penundaan pemeriksaan kadar kreatinin serum pada suhu 2-8°C mengalami peningkatan pada seluruh kelompok perlakuan. Pada kelompok perlakuan 4 jam mengalami peningkatan dari 0,9288 mg/dL menjadi 1,0300 mg/dL, pada kelompok perlakuan 8 jam mengalami peningkatan dari 1,0300 mg/dL menjadi 1,0763 mg/dL, pada kelompok perlakuan 24 jam mengalami peningkatan dari 1,0763 mg/dL menjadi 1,1563 mg/dL. Hasil uji Anova dari kadar kreatinin didapatkan nilai signifikansi sebesar $p = 0,009$ ($p < 0,05$) yang menunjukkan bahwa adanya pengaruh penundaan serum terhadap kadar kreatinin. Kemudian untuk mengetahui kelompok yang terdapat pengaruh selanjutnya dilakukan uji statistika Post-Hoc Test. Dari hasil Post-Hoc Test terlihat bahwa terjadi pengaruh yang signifikan yaitu pada kelompok perlakuan 0 jam dan 24 jam.

Urea dan kreatinin mengalami kenaikan yang disebabkan oleh pembelahan enzimatik dari molekul prekursor, pertukaran zat antar serum dan eritrosit terjadi karena kontak yang lama antar keduanya, yang menyebabkan pengenceran atau bahkan dapat menyebabkan peningkatan konsentrasi analit dalam serum [10].

Berdasarkan penelitian sebelumnya faktor lingkungan seperti suhu, aliran udara dan kelembaban relatif dapat mempengaruhi nilai analit dari serum, dalam penelitian ini penyimpanan pada suhu 2-8°C menunjukkan peningkatan terhadap kadar urea disebabkan oleh pengenceran sampel yang disimpan dalam kulkas pada 2-8°C [11]. Menurut penelitian sebelumnya Kreatinin mengalami peningkatan jika pengukuran tidak segera dilakukan setelah pengumpulan spesimen dikarenakan perubahan molekul analit yang dapat mempengaruhi terhadap stabilitas serum [12].

Suhu dan lama waktu penyimpanan dapat berpengaruh pada hasil pemeriksaan, maka lama waktu penyimpanan dan suhu yang kurang tepat dapat menyebabkan konsentrasi dari protein berubah dikarena terjadi proses pemecahan ikatan peptida pada protein, yang mengubah protein menjadi asam amino, mengakibatkan proporsi protein menurun setelah dilakukan penundaan terhadap pemeriksaan faal ginjal [13]. Pengaruh penyimpanan serta suhu pada parameter kreatinin yang disimpan pada suhu -20°C rata-rata konsentrasi kadar kreatinin serum didapatkan meningkat. Maka dapat disimpulkan bahwa penundaan pemeriksaan serta penyimpanan pada suhu -20°C berpengaruh terhadap kadar kreatinin serum [9].

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan penanganan sampel yang tepat akan memberikan hasil yang akurat. Penanganan sampel darah dilakukan dengan cara disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit dapat membuat serum terpisah dari komponen-komponen lain yang baik untuk dilakukan pemeriksaan, dan lebih tahan lama apabila dilakukan penyimpanan [14]. Serum merupakan zat cair yang terbentuk dari darah dan tidak mengandung fibrinogen, biasanya jernih berupa cairan berwarna kekuningan dan berasal dari pemisahan darah beku oleh sentrifugasi dengan kecepatan tinggi untuk mengendapkan sel-selnya, cairan kuning jernih yang didapatkan disebut dengan serum [15].

Pada pedoman pemeriksaan kimia klinik terdapat faktor yang mempengaruhi stabilitas spesimen yaitu pengaruh metabolisme dan suhu dari sel hidup seperti sel darah. Stabilitas spesimen juga dapat dipengaruhi oleh beberapa hal seperti bahan kimia dan kontaminan oleh kuman, terkena paparan sinar matahari secara langsung, sehingga terdapat beberapa cara dan tahapan dalam penyimpanan sampel darah yaitu dengan cara disimpan setelah berbentuk serum dalam lemari es pada suhu 2-8°C. Sehingga stabilitas dari serum tetap terjaga, dan dapat bertahan stabil selama 5-7 hari [16].

Faktor-faktor dalam tahap pra analitik seperti persiapan, pengumpulan spesimen dan penanganan sampel dapat mempengaruhi sebuah hasil dari pemeriksaan. Pada tahap analitik jika dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan berupa kondisi pemipetan reagen dan sampel, kalibrasi alat, pemeliharaan alat laboratorium, dan tahap pemeriksaan sampel laboratorium. Sedangkan pada tahap pasca analitik dapat terjadi kesalahan berupa pencatatan serta pelaporan hasil [17].

Tabel 1. Rerata \pm Standar Deviasi kadar urea serum pada sampel segera dan ditunda selama 4 jam, 8 jam dan 24 jam.

Perlakuan	Kadar Urea (mg/dL) $\bar{x} \pm SD$
Segera	17,700 \pm 3,0813
Ditunda 4 jam	18,713 \pm 3,0446
Ditunda 8 jam	20,338 \pm 2,7552
Ditunda 24 jam	22,788 \pm 2,3461

Tabel 2. Hasil Rerata \pm Standar Deviasi kadar kreatinin serum pada sampel segera dan ditunda selama 4 jam, 8 jam dan 24 jam.

Perlakuan	Kadar Kreatinin (mg/dL) $\bar{x} \pm SD$
Segera	0,9288 \pm 0,1611
Ditunda 4 jam	1,0300 \pm 0,1131
Ditunda 8 jam	1,0763 \pm 0,1247
Ditunda 24 jam	1,1563 \pm 0,0841

Conclusion

Dari penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh lama waktu penundaan dan suhu terhadap kadar urea ($p=0,007$) dan pada kadar kreatinin ($p=0,009$). Hasil uji Post-Hoc Test diperoleh terdapat pengaruh yang signifikan terhadap kadar urea dan kreatinin pada kelompok perlakuan 0 jam dan 24 jam.

Originality Statement

The author[s] declare that this article is their own work and to the best of their knowledge it contains no materials previously published or written by another person, or substantial proportions of material which have been accepted for the published of and

other published materials, except where due acknowledgement is made in the article. Any contribution made to the research by others, with whom author[s] have work, is explicitly acknowledged in the article.

Conflict of interest statement

The author[s] declare that this article was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

References

- [1] A. M. Saputri, "Pengaruh Penundaan Terhadap Kadar Kreatinin Pada Sampel Serum," KTI Program Studi DIII Teknologi Laboratorium Medis Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta, 2021, pp. 34.
- [2] Q. A. N. Ramadhani, A. Garini, N. Nurhayati, and S. H. Harianja, "Perbedaan Kadar Glukosa Darah Sewaktu Menggunakan Serum Dan Plasma EDTA," JPP (Jurnal Kesehatan Poltekkes Palembang), vol. 14, no. 2, Art. no. 2, Nov. 2019, doi: 10.36086/jpp.v14i2.407.
- [3] I. P. Sari, "Perbedaan Kadar Kreatinin Serum Yang Diperiksa Segera Dan Ditunda Pada Suhu Ruang," KTI Universitas Muhammadiyah Semarang, 2018.
- [4] S. Wahyuni, "Gambaran Kadar Kreatinin Dan Ureum Pada Penderita Gagal Ginjal Kronik Sebelum Dan Sesudah Hemodialisa Di R.S.U Kisaran Asahan," KTI Teknologi Laboratorium Medis, Politeknik Kesehatan Kemenkes Medan, 2020, pp. 45.
- [5] A. A. Alfonso, A. E. Mongan, and M. F. Memah, "Gambaran Kadar Kreatinin Serum Pada Pasien Penyakit Ginjal Kronik Stadium 5 Non Dialisis," Jurnal e-Biomedik, vol. 4, no. 1, 2016.
- [6] P. N. Nuratmini, "Gambaran Kadar Ureum Dan Kreatinin Serum Pada Pasien GGK Setelah Terapi Hemodialisis Di RSD Mangusada, Kabupaten Badung," KTI, Jurusan Analis Kesehatan, Politeknik Kesehatan Kemenkes Denpasar, 2019, pp. 87.
- [7] R. Melya and T. Aryani, "Evaluasi Penyimpanan Serum Berdasarkan Variasi Waktu Dan Suhu Terhadap Kadar Glukosa Dan Kreatinin," Skripsi, Program Studi Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Aisyiyah Yogyakarta, 2021, pp. 9.
- [8] J. Maghfiroh, "Perbedaan Kadar Ureum Serum Yang Segera Diperiksa Dan Ditunda Pada Suhu Ruang," undergraduate, Universitas Muhammadiyah Semarang, 2018. Accessed: Nov. 15, 2022. [Online]. Available: <http://repository.unimus.ac.id/3221/>
- [9] Vernekar, "Effect Of Storage And Temperature On Two Biochemical Analytes (Creatinine And Urea) In Pooled Serum Samples Stored At -20°C," Jurnal, vol. 10, no. 1, pp. 63-67, Feb. 2023, doi: 10.4103/2349-5006.198591.

- [10] M. Heins, W. Heil, and W. Withold, "Storage of Serum or Whole Blood Samples? Effects of Time and Temperature on 22 Serum Analytes," *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, vol. 33, no. 4, pp. 231–238, 1995, doi: 10.1515/cclm.1995.33.4.231.
- [11] C. Selvakumar and V. Madhubala, "Effect of Sample Storage and Time Delay (Delayed Processing) on Analysis of Common Clinical Biochemical Parameters," *International Journal of Clinical Biochemistry and Research*, vol. 4, no. 3, pp. 295-298, 2017, doi: 10.18231/2394-6377.2017.0069.
- [12] A. Marjani, "Effect of Storage Time and Temperature on Serum Analytes," *American Journal of Applied Sciences*, vol. 5, no. 8, pp. 1047–1051, Aug. 2008, doi: 10.3844/ajassp.2008.1047.1051.
- [13] R. Meilinda, "Perbedaan Kadar Asam Urat Berdasarkan Waktu Penyimpanan Serum Selama 0 Jam, 72 Jam, Dan 96 Jam Pada Suhu Ruang," Universitas Muhammadiyah Semarang, 2017.
- [14] I. Apriliani, "Perbedaan Kadar Elektrolit (Na, K, Cl) Pada Sampel Segera Dan Ditunda 150 Menit," Universitas Muhammadiyah Semarang, 2018.
- [15] F. Noor, "Perbedaan Kadar Gula Darah Antara Sampel Serum, Plasma Naf Dan Plasma EDTA," Universitas Muhammadiyah Semarang, 2017.
- [16] C. D. Pratiwi, H. Hariyanto, A. H. Hermawati, and I. N. Fajrin, "Pengaruh Serum yang Disimpan Selama Lima Hari Suhu 2-8°C dengan Serum yang Diperiksa Langsung pada Pemeriksaan Kolesterol Total: The Effect of Serum Stored for Five Days Temperature of 2-8°C with Serum That is Checked Directly on Total Cholesterol Testing," *Borneo Journal of Medical Laboratory Technology*, vol. 4, no. 2, Art. no. 2, Apr. 2022, doi: 10.33084/bjmlt.v4i2.3790.
- [17] Permenkes, "Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor. 1792/Menkes/SK/XXI/2010 Tentang Pedoman Pemeriksaan Kimia Klinik Menteri Kesehatan Republik Indonesia," Jakarta, Indonesia, 2010.