

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Kondisi lokasi penelitian

Penelitian ini berbasis eksperimen dilaksanakan di laboratorium patologi klinik RSUD Kabupaten Klungkung. Layanan laboratorium di RSUD Klungkung khusus yang menyediakan layanan fasilitas 24 jam adalah laboratorium patologi klinik yang mencakup pemeriksaan faal hati dan ginjal, hematologi lengkap dan hemostasis, urinalisis, imunologi, elektrolit, diabetes, lemak, endokrin, dan anemia. Lokasi penelitian ini difokuskan pada pengendalian lingkungan terutama suhu untuk menjamin perlakuan yang diberikan benar-benar sesuai. Ruangan laboratorium patologi klinik RSUD Klungkung khususnya pada ruang proses penelitian, yaitu laboratorium kimia klinik urinalisis, suhu ruangan tercatat 26 derajat C dan tidak ber-AC. Ventilasi udara tersedia di sekitar ruangan. Cahaya matahari tidak dapat menembus langsung lingkungan penelitian. Sehingga kondisi lingkungan di lokasi penelitian mendukung syarat perlakuan penelitian eksperimen, yaitu perlakuan penundaan pada suhu ruangan.

2. Karakteristik subjek penelitian

Subjek penelitian yang menjadi responden dalam penelitian ini merupakan responden dengan kriteria menderita infeksi saluran kemih yang ditandai oleh kondisi medis spesimen sedimen urin penderita terdapat peningkatan jumlah leukosit lebih dari 5 sel leukosit/LPB yang merupakan indikasi leukosituria atau infeksi saluran kemih. Berdasarkan perhitungan menggunakan rumus *federer* untuk menentukan jumlah subjek dalam setiap perlakuan, yaitu 6 subjek yang

dilakukan untuk 4 perlakuan termasuk kontrol sehingga total sampel berjumlah 24. Sampel diperoleh melalui teknik pengambilan teknik sampling *acidental*, subjek berdasarkan jenis kelamin penderita infeksi saluran kemih, yaitu subjek laki-laki berjumlah 2 responden, subjek perempuan berjumlah 4 responden. Sehingga total responden yang dijadikan subjek dalam penelitian ini adalah 6 subjek penelitian. Keseluruhan populasi atau subjek penelitian merupakan seluruh pasien yang menderita infeksi saluran kemih yang ditemui ketika melakukan pemeriksaan urin rutin di laboratorium patologi klinik RSUD Kabupaten Klungkung.

Tabel 5
Karakteristik responden berdasarkan jenis kelamin

No	Jenis kelamin	Jumlah	Persentase (%)
1	Laki-laki	2	33%
2	Perempuan	4	67%
	Total	6	100%

Berdasarkan tabel 5, menunjukkan bahwa 4 dari 6 subjek penelitian adalah perempuan. Sebagian besar subjek dari populasi yang menderita infeksi saluran kemih adalah perempuan dengan persentase 67%, sedangkan subjek penderita infeksi saluran kemih laki-laki sebesar 33%.

3. Hasil pemeriksaan jumlah leukosit dan Nitrit

a. Hasil rata-rata hitung jumlah leukosit/LPB

Tabel 6
Hasil jumlah leukosit urin/ LPB pada pemeriksaan segera (0 jam) dan dengan penundaan pemeriksaan 3,4,5 jam

Perlakuan	Jumlah Leukosit						Rerata $\pm$ SD
0 Jam (Kontrol)	35,2	60,1	57,9	36,7	49,2	7,7	41,1 $\pm$ 19,4
3 Jam	18,8	24,6	49,2	19,2	28,5	4,4	24,1 $\pm$ 14,8
4 Jam	8,8	9,3	42,4	13,5	17,0	3,3	17,4 $\pm$ 13,5
5 Jam	4,0	15,7	36,2	10,8	9,1	,7	13,1 $\pm$ 12,3

Berdasarkan tabel 6 di atas merupakan hasil hitung rata-rata jumlah leukosit/LPB dari 6 subjek penelitian pada masing-masing perlakuan. Rerata jumlah leukosit tertinggi diperoleh pada kelompok pemeriksaan segera (0 jam)/kontrol dengan nilai 41,1 sel/LPB. Sedangkan rerata terendah didapatkan pada urin yang diperiksa 5 jam dengan nilai 13,1 sel/LPB. Dengan demikian, terjadi penurunan jumlah leukosit antara kelompok kontrol (0 jam) dengan pemeriksaan yang ditunda 3 jam, ditunda 4 jam, dan ditunda 5 jam

b. Hasil pengukuran nitrit urin

Pada penelitian ini dilakukan pemeriksaan nitrit urin dengan 4 perlakuan, yaitu pemeriksaan nitrit urin segera (0 jam), ditunda 3 jam, ditunda 4 jam, dan ditunda 5 jam untuk menganalisis pengaruh penundaan pemeriksaan terhadap jumlah nitrit urin penderita infeksi saluran kemih. Hasil pemeriksaan nitrit urin dapat dilihat pada tabel 7 di bawah ini:

Tabel 7
Hasil pengukuran nitrit urin pada pemeriksaan segera (0 jam) dan pemeriksaan dengan penundaan 3,4,5 jam

Perlakuan	Hasil PemeriksaanNitrit									
0 Jam (Kontrol)	+	(Pos)	-	(Neg)	-	(Neg)	-	(Neg)	+	(Pos)
3 Jam	+	(Pos)	-	(Neg)	-	(Neg)	-	(Neg)	-	(Neg)
4 Jam	+	(Pos)	-	(Neg)	-	(Neg)	-	(Neg)	-	(Neg)
5 Jam	+	(Pos)	-	(Neg)	+	(Pos)	-	(Neg)	-	(Neg)

Berdasarkan tabel 7. diperoleh hasil pengukuran nitrit terhadap enam subjek penelitian sebanyak 3 subjek yang memperoleh pengukuran nitrit urin positif, sedangkan 3 subjek penelitian lainnya memberikan hasil negatif atau tidak terdapat perbedaan hasil pemeriksaan.

4. Hasil analisis data statistik jumlah leukosit dan nitrit urin

a. Hasil analisis data statistik jumlah leukosit urin

1) Uji normalitas *saphiro-wilk*

Tabel 8
Hasil uji normalitas data hasil jumlah leukosit/LPB menggunakan uji normalitats *Saphiro wilk*

Perlakuan	Statistic	Df	Sig
0 Jam	0,902	6	0,387
3 Jam	0,940	6	0,658
4 Jam	0,880	6	0,267
5 Jam	0,829	6	0,105

Berdasarkan tabel 8. Nilai (p) lebih tinggi daripada nilai α (0,05) $p > \alpha$. Hal ini menunjukkan bahwa data jumlah leukosit pada keempat perlakuan tersebut terdistribusi normal. Karena data terdistribusi normal, maka uji dilanjutkan dengan uji homogenitas *levене test* untuk mengetahui variasi data.

2) Uji homogenitas *levene test*

Berdasarkan lampiran 5. Hasil uji *levene test* diperoleh nilai probabilitas (p)= 0,685. Nilai p ini lebih tinggi daripada nilai α (0,05) $p > \alpha$. Hal ini menunjukkan data jumlah leukosit pada keempat perlakuan adalah homogen. Karena data terdistribusi normal dan data homogen atau memiliki variasi yang sama sehingga memenuhi persyaratan sebelum melakukan pengujian parameterik *one way anova*. Dengan demikian, maka uji dapat dilanjutkan dengan uji beda *one way anova* untuk mengetahui perbedaan rata-rata jumlah leukosit urin/LPB pada setiap perlakuan.

3) Hasil analisis statistik uji *One way anova*

Tabel 9
Perbedaan rata-rata hasil hitung jumlah leukosit

	Sum of squares	Df	Mean square	F	Sig
Between groups	2738.991	3	912.997	3.937	
Within groups	4637.758	20	231.888		0,023
Total	7376.750	23			

Berdasarkan tabel 9. Hasil uji *One way anova* diperoleh nilai p ($0,023 < \alpha$ (0,05) dengan derajat kepercayaan 95% (0,05) yang berarti terdapat perbedaan bermakna jumlah leukosit pada keempat perlakuan. Selanjutnya, untuk mengetahui pada perlakuan mana yang memiliki perbedaan paling signifikan atau yang memiliki pengaruh paling signifikan, maka analisis dilanjutkan dengan uji *post-hoc tukey Least significant difference (LSD)*.

Tabel 10
Hasil uji post-hoc tukey LSD

Perlakuan	Uji <i>post-hoc tukey LSD</i>
Segera dengan penundaan 3 jam	0,067
Segera dengan penundaan 4 jam	0,014*
Segera dengan penundaan 5 jam	0,005*

Keterangan *: Terdapat perbedaan

Berdasarkan tabel 10. Dapat diketahui nilai $p < 0,05$ didapatkan pada perlakuan segera diperiksa (0 jam) terhadap penundaan pemeriksaan 4 jam dengan nilai probabilitas 0,014 dan perbedaan juga terdapat antara perlakuan segera (0 jam) terhadap penundaan pemeriksaan 5 jam dengan nilai probabilitas 0,005. Hasil tersebut menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan jumlah leukosit antara pemeriksaan segera (0 jam) dengan penundaan 4 jam dan 5 jam yang disebabkan oleh penurunan jumlah leukosit yang berbanding lurus dengan peningkatan waktu penundaan. Sehingga, setelah diuji dengan uji *post-hoc* perlakuan yang memiliki perbedaan signifikan antara kelompok kontrol dan eksperimen, maka perlakuan yang diberikan dapat berpengaruh secara signifikan.

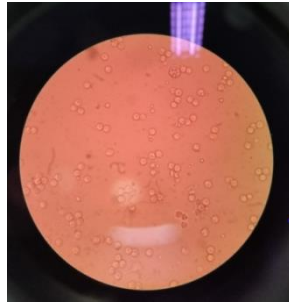
4) Hasil pemeriksaan morfologi leukosit urin penderita ISK



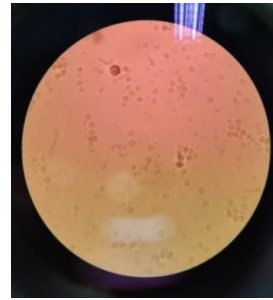
Gambar 9. morfologi leukosit yang diperiksa (0 jam) pada suhu kamar



Gambar 10. morfologi leukosit yang diperiksa (3 jam) pada suhu kamar



Gambar 11. morfologi leukosit yang diperiksa (4 jam) pada suhu kamar



Gambar 12. morfologi leukosit yang diperiksa (5 jam) pada suhu kamar

Hasil pemeriksaan leukosit urin secara mikroskopis dengan perbearan 40x menunjukkan perubahan morfologi leukosit urin pada pemeriksaan segera (0 jam) dengan 3 jam, 3 jam dengan 4 jam, dan 4 jam dengan 5 jam. Berdasarkan gambar di atas, hasil pemeriksaan leukosit segera (0 jam) (Gambar 9) menunjukkan morfologi leukosit secara normal, yaitu berbentuk bulat, lebih besar dari eritrosit, berinti, dan bergranula, dan sesuai dengan indikasi klinik pasien dengan *suspect* ISK, yaitu dilaporkan dengan rata-rata per 10 LPB, diperoleh hasil jumlah leukosit 35,2/LPB. Hasil pemeriksaan leukosit ditunda 3 jam (Gambar 10). Menunjukkan perubahan morfologi sel bentuk leukosit tampak mengecil, mengerut, bentuk tidak bulat sama rata, dan bergerombol, diperoleh jumlah rata-rata/LPB berkurang dari pemeriksaan segera, yaitu 18,8 sel/LPB. Hasil pemeriksaan leukosit ditunda 4 jam (Gambar 11) menunjukkan morfologi leukosit tampak terdapat perubahan, yaitu dengan bentuk tidak sama rata, mengecil, mengerut, dan pecah sehingga sulit untuk dihitung karena bergerombol, diperoleh jumlah rata-rata/LPB juga semakin menurun, yakni 8,8/LPB. Hasil pemeriksaan leukosit ditunda 5 jam (Gambar 12) menunjukkan morfologi leukosit tampak terdapat perubahan, yaitu dengan bentuk tidak sama rata, mengecil, mengerut, dan pecah atau lisis sehingga sulit untuk dihitung, jumlah rata-rata/LPB juga semakin menurun, yakni 4,0/LPB

b. Hasil analisis data statistik pemeriksaan kadar nitrit urin

1) Uji normalitas *saphiro-wilk*

Tabel 11
Hasil uji normalitas kadar nitrit urin

	Perlakuan	Normality test		
		Statistic	Df	Sig
Nitrit urin	Segera (0 jam)	0.640	6	0,001
	Ditunda 3 jam	0.640	6	0,001
	Ditunda 4 jam	0.640	6	0,001
	Ditunda 5 jam	0.683	6	0,004

Berdasarkan tabel 11. Hasil uji normalitas *saphiro-wilk* yang diperoleh pada data uji nitrit dengan perlakuan pemeriksaan segera (0 jam), ditunda 3 jam, ditunda 4 jam, dan ditunda 5 jam memiliki nilai p lebih rendah daripada $\alpha(0,05)$, $p < \alpha$. Hal ini menunjukkan bahwa data hasil pemeriksaan nitrit urin tersebut tidak berdistribusi normal, maka agar uji dapat dilanjutkan untuk mengetahui adanya perbedaan hasil pengukuran nitrit, analisis data uji dilanjutkan dengan uji non-parameterik *Kruskal-Wallis*.

2) Hasil analisis statistik uji *Kruskal-wallis*

Tabel 12
Hasil uji kruskal-wallis perbedaan nilai nitrit urin

	Perlakuan	N	Mean rank	Chi-square	Sig
Nitrit Urin	Segera (0 jam)	6	12.00	5.111	0.916
	Ditunda 3 jam	6	12.00		
	Ditunda 4 jam	6	12.00		
	Ditunda 5 jam	6	14.00		
	Total	24			

Berdasarkan tabel 12 dapat diketahui hasil uji *kruskal-wallis* diperoleh nilai signifikansi probabilitas 0,916. Nilai tersebut lebih besar dari $\alpha(0,05)$ $p < \alpha$ ($0,916 > 0,05$) yang menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna

antara penundaan urin dengan perlakuan pemeriksaan segera (0 jam), ditunda 3 jam, ditunda 4 jam, dan ditunda 5 jam.

B. Pembahasan

1. Hitung rata-rata jumlah leukosit urin/LPB

Infeksi saluran kemih merupakan infeksi yang terjadi akibat masuknya patogen pada ginjal, ureter, kandung kemih, dan uretra. Gejala yang ditimbulkan ISK umumnya bersifat ringan dan kadang tidak menimbulkan gejala pada infeksi tahap awal. Infeksi saluran kemih dapat terjadi karena ketidakmampuan atau kegagalan kandung kemih untuk mengosongkan isinya dengan sempurna sehingga menyebabkan penurunan daya tahan tubuh. Pemeriksaan laboratorium yang dapat dilakukan untuk mengidentifikasi ISK adalah pemeriksaan urinalisis rutin dan biakan bakteri. Melalui pemeriksaan urinalisis dapat diperoleh hasil yang lebih cepat, sedangkan pada biakan urin yang merupakan *gold standar* diagnosis ISK membutuhkan waktu yang lebih lama, mahal, dan seringkali memberikan hasil yang negatif (Rinawati, Weny and Aulia, 2022). Pemeriksaan mikroskopis urin adalah salah satu metode pemeriksaan urin rutin untuk mendeteksi zat-zat yang terkandung di dalam urin.

Berdasarkan hasil penelitian pada tabel 5. menunjukkan karakteristik responden penderita infeksi saluran kemih berdasarkan jenis kelamin lebih banyak diderita oleh wanita, yaitu sebesar 67%, sedangkan laki-laki sebesar 33%, yang mana dari total 6 responden, 4 responden penderita infeksi saluran kemih adalah wanita. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh (Santi Herlina, 2015) diperoleh hasil penderita infeksi saluran kemih pada

wanita sebesar 65,6% atau sebanyak 63 pasien, sedangkan pada laki-laki sebesar 34,4% atau sebanyak 33 pasien.

Menurut Setiati, 2014 dalam (Lina, L 2019) menerangkan bahwa salah satu faktor yang berhubungan erat dengan kejadian infeksi saluran kemih adalah jenis kelamin. Wanita berisiko 30 kali lebih tinggi terkena ISK karena uretra wanita lebih pendek daripada uretra laki-laki sehingga memudahkan bakteri di sekitar anus masuk ke dalam kandung kemih. Sedangkan pada laki-laki memiliki risiko yang lebih rendah daripada wanita. Meskipun demikian, prevalensi pria di atas 65 tahun dapat meingkat dengan adanya bakteria yang menyebabkan prevalensi ISK meningkat pada laki-laki, selain itu dapat dipengaruhi oleh penggunaan kateter urin pada lanjut usia, dipengaruhi oleh urodinamik, seperti *hipertrophy* prostat pada pria lanjut usia karena perubahan kondisi biologis atau imunologis yang terjadi seiring berjalannya waktu (Hhera *et al.*, 2022).

Berdasarkan hasil eksperimen penelitian yang termuat pada tabel 6 rerata jumlah leukosit tertinggi diperoleh pada kelompok pemeriksaan segera (0 jam)/kontrol dengan nilai 41,1 sel/LPB dan standar deviasi 19,4. Sedangkan rerata terendah didapatkan pada urin yang diperiksa 5 jam dengan nilai 13,1 sel/LPB dengan standar deviasi 12,3. Hal tersebut mengindikasikan terjadinya penurunan jumlah leukosit urin/LPB pada seiring waktu urin tersebut ditunda. Pada pemeriksaan segera (0 jam) jumlah leukosit urin pada infeksi saluran kemih memiliki jumlah yang tertinggi dibandingkan dengan pemeriksaan urin yang ditunda, peningkatan jumlah leukosit pada penderita infeksi saluran kemih menandakan adanya proses inflamasi yang menyebabkan terjadinya infeksi saluran kemih bawah, sistitis, pielonefritis, atau glomerulonefritis akut. Jumlah

leukosit urin/LPB pada urin normal adalah 0-5/LPB (Tarigan *et al.*, 2023). Hasil penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh (kurniasari *et al.*, 2022) yang menyatakan bahwa jumlah leukosit pada pasien ISK ditemukan meningkat dengan jumlah 5-10 sel/LPB. Ditemukannya leukosit dalam urin disebabkan oleh bakteri yang masuk ke dalam saluran kemih melalui orivisum uretra ataupun peradangan lain yang merangsang pembentukan leukosit sebagai bentuk pertahanan tubuh dari patogen yang mencoba masuk ke dalam tubuh (Tarigan *et al.*, 2023).

Menurut *Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI)*, pemeriksaan urin yang dianjurkan harus dilakukan paling lambat dua jam pada suhu ruang setelah urin dikeluarkan. Penundaan urin lebih dari waktu tersebut harus disimpan dalam lemari pendingin suhu 2-8 °C dan diberi zat pengawet (Dolscheid-Pommerich *et al.*, 2016). Delanghe dan Speeckaert dalam (Sarihati, Dewanti and Burhannuddin, 2019) menerangkan bahwa tahapan preanalitik yang tidak tepat dapat memengaruhi hasil pemeriksaan urin. Hal tersebut terjadi karena penanganan sampel yang dilakukan tidak baik sehingga menyebabkan perubahan analit di dalamnya. Kondisi lain juga dapat disebabkan oleh *human error* atau kondisi lingkungan di laboratorium sehingga kejadian penundaan pemeriksaan sering terjadi fasilitas pelayanan kesehatan dan dapat memengaruhi mutu kualitas pemantapan mutu internal di laboratorium.

Berdasarkan hasil penelitian pada tabel 9 diperoleh hasil terhadap pemeriksaan sedimen leukosit urin yang diperiksa segera (0 jam) dan dengan penundaan pemeriksaan 3 jam, 4 jam, 5 jam, dan pemeriksaan yang dilakukan segera (0 jam) sebagai kontrol pada 24 sampel didapatkan $p\text{ value} = 0,023 < 0,05$

artinya terdapat pengaruh pada pemeriksaan urin yang mengalami penundaan waktu pengerjaan seiring lamanya waktu pemeriksaan ditunda atau perlakuan yang diberikan berpengaruh secara signifikan. Hasil Penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian (Sarihati, Dewanti and Burhannuddin, 2019) menyatakan bahwa terdapat pengaruh terhadap penundaan pemeriksaan urin selama 3 jam pada sedimen leukosit urin. Dalam uji leukosit melalui dipstik urin, leukosit dapat dideteksi pada parameter leukosit melalui reaksi antara reagen dengan enzim leukosit esterase yang terkandung di dalam sel neutrofil. Penelitian lain dari (Parwati *et al.*, 2021) juga memberikan hasil yang sejalan dalam hasil penelitiannya menyatakan bahwa pengaruh penundaan terhadap jumlah leukosit yang diperiksa pada suhu ruang diperoleh *p value* sebesar 0,000 yang berarti terdapat pengaruh lama penyimpanan urin di suhu ruang terhadap jumlah dan morfologi leukosit urin.

Berdasarkan tabel 11. Perbedaan hasil jumlah leukosit yang diperoleh melalui uji beda *one way anova* selanjutnya agar dapat mengetahui pada perlakuan mana saja yang mengalami perbedaan yang signifikan maka dilanjutkan dengan uji *post hoc* tukey LSD. Melalui uji *post-hoc* tersebut diperoleh hasil di antara perbedaan rata-rata jumlah leukosit tersebut, terjadi perbedaan yang paling signifikan antara penundaan 0 jam dengan 4 jam serta 0 jam dengan 5 jam dengan (*p*) *value* masing-masing 0,014 dan 0,005 sehingga penundaan atau perlakuan yang diberikan berbanding lurus dengan penurunan jumlah leukosit.

Penundaan urin sampai waktu 4 – 5 jam atau pada urin yang diperiksa lebih dari dua jam dapat menyebabkan leukosit urin akan semakin berkurang atau mengalami autolisis. Menurut penelitian Supardi dalam (Inayati *et al.*, 2017)

menyatakan bahwa pemeriksaan urin yang ditunda tanpa diberikannya pengawet dapat menyebabkan menurunnya jumlah leukosit yang dikandung sebanyak 15% setiap jam penyimpanan. Leukosit dalam urin akan mengalami autolisis sejalan dengan satuan waktu. Oleh karena itu, dalam hasil penelitian ini jumlah rata-rata leukosit tampak terus menurun seiring bertambahnya waktu. Hal tersebut terjadi karena urin yang didiamkan terlalu lama tanpa bahan pengawet dapat menyebabkan stabilitas spesimen berkurang dan mempercepat metabolisme sel-sel, pemberian pengawet urin, seperti toulana, thymol, formalin, dan asam sulfat pekat dapat berfungsi untuk menekan dan menghambat perombakan urin oleh bakteri dengan merusak sintesa dinding sel oleh bahan kimia sehingga dapat menghambat polimerase penyusun dinding sel bakteri. Formalin merupakan pengawet yang sering dipakai dalam pemeriksaan sedimen apabila spesimen tidak dapat dikerjakan segera dengan cara dapat mencegah penguraian komponen sedimen-sedimen yang terdapat dalam urin (Bintari *et al.*, 2022).

Spesimen urin yang tidak diberikan pengawet dan didiamkan di suhu ruang dapat menyebabkan bakteri berkembang biak sehingga dapat menguraikan NH_3 (amoniak) yang bersifat basa. Pada kondisi urin basa, urin akan semakin encer, pH urin meningkat dan dapat memengaruhi komposisi-komposisi komponen sedimen urin termasuk leukosit urin menjadi cepat lisis sehingga jumlahnya akan berkurang (Purwaningsih, 2018). Terlihat pada tabel 6 perbandingan jumlah leukosit yang diperiksa segera memiliki rata-rata 41,1 sel/LPB, ditunda 3 jam memiliki rata-rata 24,1 sel/LPB, ditunda 4 jam memiliki rata-rata 17,4 sel/LPB, dan ditunda 5 jam memiliki rata-rata paling kecil, yaitu 13,2 sel/LPB. Jumlah leukosit terus menurun seiring lamanya urin tersebut

diperiksa. Hal tersebut dapat disebabkan oleh bakteri dalam urin yang disimpan dan terkontaminasi dapat mengubah susunan urin yang telah didiamkan lebih dari 2 jam. Urea dipecah oleh bakteri menjadi amonia dan karbon dioksida, pH urin juga menjadi basa dan encer karena amonia serta memberikan bau khas pada urin, terdapat endapan kalsium magnesium fosfat, dan bakteri akan memecah glukosa yang menyebabkannya keluar melalui urin dan hilang. Lisisnya leukosit urin sejalan dengan kenaikan pH, leukosit akan rentan lisis pada urin dengan pH tinggi atau bersifat alkali $pH > 8$ dan berat jenis akan berkurang < 1.005 , kepekatan urin urin juga semakin berkurang, dan susunan komponen sedimen urin akan menurun secara signifikan seiring lama waktu penyimpanan (Zarmila, 2023). Terdapat faktor-faktor lain yang dapat memengaruhi stabilitas urin menurut Panduan Praktikum Laboratorium Menteri Kesehatan Republik Indonesia, yaitu stabilitas urin akan berkurang apabila urin telah terkontaminasi oleh bahan kimia, terjadi metabolisme sel-sel hidup pada spesimen, dan terjadi penguapan (Purwaningsih, 2018).

Pada gambar 12 morfologi leukosit urin yang diperiksa segera masih memiliki morfologi yang normal, yaitu memiliki ukuran kira-kira 1,5-2 kali lebih besar dari eritrosit, berbentuk bulat, berinti, dan bergranuler. Sedangkan pada gambar 13, 14, dan 15 morfologi leukosit urin tampak berkelompok atau bergerombol pada suasana alkali/basa, leukosit tampak lisis, mengecil, dan pecah sehingga tidak dapat dihitung sebagai sel yang normal.

Penanganan dan penyimpanan spesimen urin adalah bagian dari faktor praanalitik yang sangat penting dan merupakan tahap dengan persentase kesalahan terbesar, yaitu 68% peluang kesalahan (Maria, Tuntun 2018). Penanganan

spesimen urin untuk pemeriksaan sebaiknya disimpan pada suhu ruangan dan diperiksa paling lambat dua jam setelah pengambilan sampel dan apabila urin harus disimpan lebih lama, sebaiknya diberikan penambahan pengawet urin agar komposisi dan komponen urin tetap terjaga. Penundaan pemeriksaan sering kali terjadi disebabkan oleh sistem efisiensi pengerjaan yang diberlakukan oleh masing-masing instansi laboratorium, dapat disebabkan oleh kondisi teknis instrumen yang digunakan, keterbatasan analisis laboratorium, dan keterlambatan pengiriman sampel dari tempat awal pengumpulan (Pinontoan, *et al*, 2023).

2. Pengukuran nilai nitrit urin

Berdasarkan hasil penelitian terhadap kadar nitrit oleh penundaan pemeriksaan urin diperoleh hasil analisis data nitrit diolah menggunakan uji statistik non-parameterik *kruskal-wallis* karena data tidak terdistribusi normal, yang (p) *value* lebih rendah daripada nilai α , yaitu (p)=0,001 < (α) =0,005 sehingga pengujian dilanjutkan dengan uji *kruskal-wallis* untuk mengetahui rata-rata perbedaan kadar nitrit pada tiap perlakuan antara segera (0 jam), 3 jam, 4 jam, dan 5 jam. Hasil uji *kruskal-wallis* pada tabel 11 menunjukkan bahwa nilai signifikansi probabilitas hasil nitrit sebesar 0,916, yang mana nilai tersebut lebih besar daripada α (0,005), (p)=(0,916) sehingga data tersebut menunjukkan bahwa hasil kadar nitrit pada perlakuan yang diberikan tidak memberikan dampak atau tidak terdapat perbedaan yang signifikan, artinya pengaruh variabel independen, yaitu penundaan urin selama 3 jam, 4 jam, dan 5 jam, serta 0 jam sebagai kontrol tidak memberikan perbedaan hasil yang bermakna. Tidak adanya pengaruh yang bermakna pada pemeriksaan nitrit selama waktu penundaan 3,4, dan 5 jam dapat

disebabkan oleh hasil yang diperoleh hanya positif atau negatif sehingga seiring waktu pemeriksaan tidak memberikan perubahan yang bermakna.

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh (Pinontoan *et al.*, 2023) yang dalam penelitiannya pada pengaruh penundaan waktu terhadap pemeriksaan kimia urin menerangkan bahwa tidak terdapat pengaruh yang bermakna pada analisis nitrit yang ditunda 3 jam menggunakan analisis uji *kruskal-wallis* karena hasil yang diperoleh adalah negatif atau normal sehingga tidak terdapat perbedaan yang bermakna.

Dasar kimia pemeriksaan nitrit urin adalah kemampuan bakteri urin untuk mereduksi nitrat. Berdasarkan hasil penelitian pada tabel 7. Menunjukkan bahwa dari 6 responden, 2 responden menghasilkan urin dengan nilai positif nitrit bahkan saat urin tersebut masih segar. Hal tersebut mengindikasikan bahwa dalam urin penderita terdapat aktivitas bakteri nitrifikasi sehingga menunjukkan indikasi infeksi saluran kemih yang disebabkan oleh bakteri nitrifikasi. Tes nitrit didasarkan pada bakteri pengurai nitrat menjadi nitrit di dalam urin. Nitrit dapat memberikan hasil positif apabila terdapat lebih dari 10 organisme/ml. Namun, hasil dapat memberikan negatif palsu apabila bakteri yang terdapat di dalam urin tidak menghasilkan nitrit, seperti *Streptococcus faecalis*, *Neisseria gonorrhoea*, *Mycobacterium tuberculosis*, dan jamur serta dapat disebabkan juga oleh tingginya kadar asam askorbat dapat menyebabkan negatif palsu pada nitrit urin (Firdausa and Suryantoro, 2018).

Pada penelitian ini, pemeriksaan nitrit urin dilakukan dengan metode deteksi *dipstick multiple analytest* menggunakan alat *urine analyzer*. Melalui dipstick urin, nitrit urin dideteksi oleh reaksi *Greiss*, yaitu nitrit pada pH asam

akan bereaksi dengan amin aromatik membentuk senyawa diazonium yang kemudian bereaksi dengan tetrahidrobenzokuinolin untuk menghasilkan pewarna azo merah muda (Di Lorenzo and Stransinger, 2014). Pemeriksaan nitrit mengindikasikan adanya kelainan klinis berupa infeksi saluran kemih. Pemeriksaan nitrit tidak ditunjukkan untuk menggantikan kultur urin sebagai metode *gold standar* penentu diagnosis ISK, tetapi pemeriksaan nitrit urin digunakan sebagai pemeriksaan skrining cepat dan sebagai pemeriksaan ketika kultur urin tidak bisa dilakukan (Delanghe J and Speeckaert M, 2014).

Hasil nitrit tidak terdapat perbedaan dapat disebabkan oleh beberapa faktor, seperti dalam urin tersebut tidak terdapat nitrit, yang artinya tidak terdapat cukup bakteri yang dapat menguraikan nitrat menjadi nitrit. Pada urin normal, seharusnya tidak terdapat nitrit dalam urin, tetapi nitrat yang terdapat dalam urin dapat mengalami reduksi oleh bakteri-bakteri yang mempunyai enzim nitrat reduktase menjadi nitrit. Perubahan nitrat menjadi nitrit memerlukan waktu sekurang-kurangnya 4 jam untuk bakteri dapat mereduksi nitrat menjadi nitrit (Pinontoan *et al.*, 2023).

Berdasarkan hasil penelitian pada tabel 12. diperoleh nilai rata-rata hasil nitrit pada keempat perlakuan adalah 12.00 yang mana hasil rata-rata tersebut sama untuk keseluruhan perlakuan dan melalui uji *kruskal-wallis* pada gambar tabel 10 menyatakan tidak terdapat perbedaan hasil nitrit baik pada perlakuan yang ditunda 3 jam, 4 jam, dan 5 jam. Adanya nitrit dalam urin diperankan oleh adanya bakteri nitrifikasi, yaitu bakteri yang dapat menguraikan nitrat menjadi nitrit. Berdasarkan teori, keberadaan nitrit dalam urin merupakan indikator terjadinya infeksi pada saluran kemih bawah dan nitrit hadir dengan bakteri gram

negatif yang dapat menghasilkan enzim nitrat reduktase. Nitrat yang terdapat dalam urin akan mengalami reduksi oleh bakteri yang mempunyai enzim reduktase, seperti *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *citrobacter*, dan *Proteus sp* yang mereduksi nitrat menjadi nitrit. Sehingga, hasil positif dari pemeriksaan kimia urin nitrit menunjukkan adanya aktivitas bakteri yang menghasilkan enzim reduktase, sebaliknya pemeriksaan urin dengan hasil kimia nitrit negatif dapat mengeksklusi adanya infeksi bakteri, tetapi bukan bakteri nitrifikasi (Berhandus ,and Mongan , 2016).

Bakteri *uropatogenetik* memetabolisme nitrat urin untuk menghasilkan nitrit yang biasanya tidak terdapat dalam urin normal. Hal itu bisa terdeteksi sebagai perubahan warna pada *dipstick* jika jumlah bakteri yang dapat mereduksi nitrit punya waktu yang cukup agar dapat mereduksi nitrat menjadi nitrit yang membutuhkan waktu empat jam urin harus berada di dalam kandung kemih (Coulthard, 2019). Apabila dalam urin yang mengandung banyak bakteri atau dalam uji *dipstick* terdapat bakteri dalam jumlah banyak tidak dapat mengindikasikan bahwa bakteri urin tersebut dapat menghasilkan nitrit.

Hasil positif palsu pada *dipstick test urine analyzer* dapat terjadi karena urin terkontaminasi, carik celup terpapar udara yang lebih dari 1 minggu atau pasien menggunakan obat fenazopiridin. Untuk menghindari hasil positif palsu pada spesimen yang tercemar secara eksternal, sensitivitas pemeriksaan harus distandardisasi agar selaras dengan kriteria kultur bakteri kuantitatif 100.000 per organisme mililiter. Sedangkan hasil negatif palsu dapat disebabkan oleh adanya mikroorganisme penyebab bakteruria asimtomatis yang tidak menghasilkan nitrit atau pada bakteri yang melakukan metabolisme nitrat menjadi amonia dengan

cepat sehingga nitrit hanya sebentar berada di dalam urin. Semakin lama urin berada di dalam kandung kemih, maka semakin besar kemungkinan hasil positif. Hasil negatif palsu juga dapat disebabkan oleh adanya peningkatan berat jenis, peningkatan urobilinogen, pH 6,0 dan pasien mengonsumsi vitamin C (Berhandus and Arthur, 2016). Penyebab lain hasil negatif palsu adalah inhibisi metabolisme bakteri oleh adanya antibiotik, asam askorbat yang sangat banyak yang dapat mengganggu reaksi diazo dan penurunan sensitivitas pada spesimen dengan berat jenis tinggi. Sejumlah besar asam askorbat berkomptisi dengan nitrit untuk bergabung dengan garam diazonium sehingga mencegah pengukuran nitrit yang sebenarnya.

Terdapat beberapa gangguan dalam pemeriksaan nitrit urin secara kimia dengan dipstick *urine analyzer* sehingga hasil diperoleh negatif dengan gejala suspect klinis, yaitu bakteri yang menurunkan enzim reduktase tidak memiliki kemampuan untuk mereduksi nitrat menjadi nitrit. Reduktase dapat dijumpai pada bakteri gram negatif (*Enterobacteriaceae*) yang paling sering menyebabkan ISK, yaitu *Escherichia coli* dapat menyebabkan ISK dengan prevalensi 90% kejadian. Namun, bakteri gram positif non-pereduksi nitrat dan jamur juga dapat menyebabkan ISK dalam jumlah yang bermakna dan pemeriksaan nitrit tidak mendeteksi adanya organisme tersebut. Selanjutnya, kendala pemeriksaan tersebut bergantung pada adanya nitrat yang memadai di dalam urin. Reduksi lebih lanjut nitrit menjadi nitrogen dapat terjadi saat ditemukan sejumlah besar bakteri dan dapat menyebabkan reaksi negatif palsu.