

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Serum Lipemik

a. Pengertian serum lipemik

Serum adalah cairan yang didapat jika darah dibiarkan membeku, merupakan plasma yang telah kehilangan fibrinogen (unsur pembeku darah) (Wibowo, 2008). Koagulasi mengubah semua fibrinogen menjadi fibrin yang padat dan dalam prosesnya menghabiskan faktor VIII, faktor V dan protrombin. Serum normal mengandung faktor XII, XI, X, IX, dan VII. Jika proses koagulasi berlangsung secara abnormal, serum mungkin mengandung sisa fibrinogen atau protrombin yang belum diubah (Sacher dan McPherson, 2004).

Serum normal berwarna kekuningan-kuningan dan mempunyai sifat antigenik (Ramali dan Pamoentjak, 2005). Serum berwarna keruh yang mengacu pada kekeruhan dari kadar lemak disebut serum lipemik (Irawati, 2011). Serum lipemik yang baru dipisahkan tampak seperti susu. Pada serum yang diinginkan, kilomikron yang berlebihan akan mengapung dibagian atas dan tampak suatu lapisan krim. Kekeruhan yang merata pada serum mengisyaratkan peningkatan kandungan VLDL (*Very Low Density Lipoprotein*). Terdapat beberapa jenis kekeruhan yang dijumpai, yaitu :

- 1) Uniform berarti peningkatan VLDL tanpa kilomikron yang signifikan
- 2) Krim di atas suatu bahan pemeriksaan yang keruh berarti peningkatan kilomikron dan VLDL
- 3) Krim diatas bahan pemeriksaan yang jernih berarti kilomikronemia tanpa VLDL (Sacher dan McPherson, 2004).

b. Penyebab serum lipemik

Serum lipemik digambarkan sebagai kekeruhan pada serum sebelum proses analitik. Lipemik disebabkan oleh partikel protein lipoprotein seperti *cylomicrons*, VLDL (*Very Low Density Lipoprotein*) maupun trigliserida (Murray, 2009). Lipoprotein mempunyai variasi ukuran, tetapi tidak semua menyebabkan kekeruhan. Partikel terbesar yaitu *cylomicrons* dengan ukuran 70-1000 nm, mempunyai potensial terbesar penyebab kekeruhan. Akumulasi dari partikel kecil seperti HDL (*High Density Lipoprotein*), LDL (*Low Density Lipoprotein*), dan VLDL (*Very Low Density Lipoprotein*) tidak menyebabkan sempel lipemik (Nikolac, 2013). Serum dengan kadar trigliserida dan kolesterol lebih dari normal yaitu lebih dari 200 mg/L atau 2,26 mmol/L dapat beresiko menimbulkan kekeruhan pada sampel (Lee, 2009).

Asupan makanan seperti glukosa, lipid, dan kalsium dapat mempengaruhi hasil tes, sehingga pengambilan sampel setelah makna dapat menjadi penyebab kesalahan pra analitik untuk serum lipemik.

Rekomendasi dari Italia mengharuskan bahwa pasien harus berpuasa selama minimal 8 jam, sedangkan Australia membutuhkan 10-16 jam sebelum pemeriksaan lipid. Pada pasien rumah sakit, lipemik disebabkan oleh pengambilan sampel terlalu cepat setelah pemberian emulsi lipid parenteral (Nikolac, 2013).

Kondisi patologis yang dapat menyebabkan serum lipemik adalah multiple myeloma, diabetes mellitus, pankreatitis akut, gagal ginjal (Nikolac, 2013), lupus eritematosus, hipertrigliseridemia, hipotiroidise, dan orang dengan konsumsi alkohol (Kocak dkk., 2014).

c. Mekanisme Gangguan Serum Lipemik

Serum lipemik dapat menyebabkan gangguan fisika dan kimia, gangguan pada metode spektrofotometri, sampel yang tidak homogen dan efektif penggantian volume.

1) Gangguan fisika dan kimia

Akumulasi lipoprotein pada serum dapat mengganggu hasil analisis fisika dan interaksi kimia, terutama pada metode elektroforesis. Serum lipemik dapat menjadi pengganggu non-spesifik pada berbagai pengujian imunologi. Lipoprotein dapat mengganggu proses pencampuran sampel dengan reagen seperti deteksi antibodi (WHO, 2002). Lipoprotein dapat mengganggu reaksi antigen antibodi dengan memblokir tempat ikatan antibodi. Gangguan dapat menyebabkan meningkat palsu atau menurun palsu tergantung dari sifat reaksi (Nikolac, 2013). Selain itu juga

dapat mengganggu dalam prosedur elektroforesis dan kromatografi karena adanya matrik-matrik lipoprotein (WHO, 2002).

2) Gangguan metode spektrofotometer

Kekeruhan lipemik mengganggu pemeriksaan secara spektrofotometri, turbidimetri, maupun nephelometri karena menghamburkan cahaya dan penyerapan cahaya. Kekeruhan dapat mempengaruhi absorbansi spektrofotometer pada semua panjang gelombang sehingga menyebabkan kesalahan pada nilai analisa (Piyophiprapong dkk., 2010).

3) Sampel yang tidak homogen

Darah harus disentrifus terlebih dahulu sebelum menjadi serum. Setelah disentrifus, partikel-partikel lipoprotein terdistribusi menurut densitasnya, kilomikron dan VLDL memiliki densitas yang rendah karena itu akan terletak di bagian atas serum dan membentuk lapisan yang berbeda. Unsur yang ada di dalam serum didistribusikan di kedua lapisan menurut polaritasnya. Analit yang hidrofobik didistribusikan di fase lipid sedangkan analit yang larut air (molekul kecil dan elektrolit) tidak ada dijumpai di lapisan atas (lapisan lemak). Ketika pengukuran hasil, sebagian besar alat analisa mengambil sampel pada bagian atas tabung, hal ini dapat menghasilkan hasil pengukuran konsentrasi elektrolit dan metabolit lain yang larut air menjadi rendah palsu (Nikolac, 2013).

4) Efek penggantian volume

Lipemik menurunkan konsentrasi analit sebenarnya dengan menurunkan air yang tersedia, karena volume yang ditempati oleh lipoprotein dalam plasma atau serum dimasukkan dalam perhitungan konsentrasi analit. Hal ini menjelaskan alasan di belakang konsentrasi natrium dan potasium yang lebih rendah ketika diukur dalam serum lipemik, ketika plasma atau serum diukur dengan flame photometry atau dengan pengukuran tidak langsung menggunakan elektroda ion-sensitif, berbeda dengan potensimetri yang diukur secara langsung (Guder, 2015), yaitu karena terjadi pengenceran yang tinggi sebelum diperiksa (Nikolac, 2013).

d. Cara Menghindari Serum Lipemik

Serum lipemik perlu dihindari dengan perlakuan sebagai berikut :

- 1) Pasien harus puasa 12 jam sebelum pengambilan darah.
- 2) Pasien dengan pemberian infus parenteral dari lipid harus dihentikan terlebih dahulu selama 8 jam sebelum pengambilan darah.

Apabila kedua pendekatan ini tidak memberikan serum yang jernih maka penyebab lain kekeruhan harus dicurigai (WHO, 2002).

e. Penanganan Serum Lipemik

Metode yang digunakan untuk menghilangkan lemak pada serum adalah dengan sentrifugasi, ekstraksi lemak dengan pelarut organik dan presipitasi (WHO, 2002).

1) Sentrifugasi

Gold Standar yang direkomendasikan oleh WHO untuk mengatasi sampel lipemik adalah menggunakan ultrasentrifugasi. Namun karena harganya yang tinggi, peralatan ini tidak tersedia di banyak laboratorium. Selain metode ultrasentrifugasi, terdapat alat lain yang mampu mengatasi serum lipemik sebaik ultrasentrifugasi yaitu dengan *High Speed* Sentrifugasi. Sampel yang dibutuhkan sebanyak 1 ml dengan kecepatan 10.000xg selama 10 menit (Cotten, 2018).

2) Ekstraksi

Lemak dapat dihilangkan dengan cara diekstraksi menggunakan pelarut polar (Nikolac, 2013). Ekstraksi menggunakan fluorine chlorinated hydrocarbons sudah tidak direkomendasikan lagi karena alasan perlindungan lingkungan (WHO, 2002).

3) Presipitasi

Laboratorium masih menggunakan cara manual yaitu dengan menggunakan *Polyethylene glycol* atau menggunakan siklodekstrin yang dapat mengikat lemak. Setelah disentrifugasi, partikel lemak

akan mengalami presipitasi pada dasar tabung dan serum akan menjadi jernih sehingga pengukuran absorban dapat dilakukan secara tepat (Nikolac, 2013). Ketika dilakukan penambahan bahan kimia perlu dipastikan tidak mengganggu hasil pemeriksaan (WHO, 2002).

a) *Polyethylene glycol*

Polyethylene glycol digunakan untuk mengendapkan lipoprotein pada sampel serum atau plasma (Contois dan Nguyen, 2012). Serum ditambahkan dengan *Polyethylene glycol* 6000 konsentrasi 8% dengan perbandingan 1:1. Inkubasi selama 30 menit pada suhu 4°C dengan kecepatan 1000 x g. Hasil pengukuran pada sampel jernih dihitung dengan faktor pengenceran 2 (WHO, 2002).

b) Siklodekstrin

Siklodekstrin dikenal sebagai *Cycloamyloses*, *Cyclomaltoses* dan *Schardinger* dekstrin (Valle, 2003). Siklodekstrin merupakan oligosakarida non-pereduksi produk modifikasi pati dengan struktur kimia berbentuk cincin, dan terbentuk melalui proses siklisasi oleh aktivitas CGTase (*cyclodextrin glycosil transferase*) (Laga, 2008).

c) Pengenceran

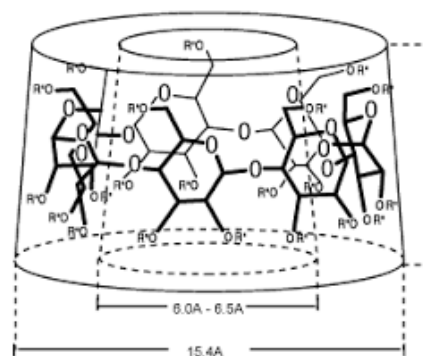
Pengukuran dapat dilakukan dengan pengenceran sampel. Pengenceran sampel hanya cukup untuk menghilangkan

gangguan kekeruhan, tetapi tidak menjamin konsentrasi analit masih ada karena keterbatasan analitik pada metode yang digunakan (Nikolac, 2013).

2. Siklodekstrin

a. Pengertian Siklodekstrin

Siklodekstrin dikenal sebagai *Cycloamyloses*, *Cyclomaltoses* dan *Schardinger* dekstrin (Valle, 2003). Siklodekstrin merupakan oligosakarida non-pereduksi produk modifikasi pati dengan struktur kimia berbentuk cincin, dan terbentuk melalui proses siklisasi oleh aktivitas CGTase (*cyclodextrin glycosil transferase*) (Laga, 2008). Bagian paling luar siklodekstrin dikelilingi oleh grup hidroksil primer dan sekunder, dimana lubang didalamnya tersusun atas ikatan glikosidik dan kerangka karbon. Oleh karena itu permukaan terluar bersifat hidrofilik sedangkan rongga dalam bersifat hidrofobik (Camiller dan Beecham, 1997). Struktur siklodekstrin seperti ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Struktur Siklodekstrin

Sumber : Laga, 2010.

Jenis siklodekstrin yang dihasilkan dipengaruhi oleh enzim CGTase yang digunakan. Sebagai contoh Alfa siklodekstrin dihasilkan dengan penggunaan enzim sikloheksamilase yang diproduksi oleh *Bacillus macerans*. Beta-siklodekstrin dengan penggunaan sikloheptamilase yang diperoleh dari *Bacillus megaterium*. Sedangkan Gama-siklodekstrin menggunakan siklooktamilase. Sifat-sifat siklodekstrin ditunjukkan pada tabel 1.

Tabel 1. Sifat-sifat Siklodekstrin

Sifat	Siklodekstrin		
	Alfa	Beta	Gama
Jumlah dari unit glucopyraose	6	7	8
Rumus molekul	$C_{36}H_{60}O_{30}$	$C_{42}H_{70}O_{35}$	$C_{48}H_{80}O_{40}$
Berat molekul (g/mol)	972	1135	1297
Kelarutan dalam air pada 25° C (% W/V)	14,5	1,85	23,2
Diameter luar (A)	14,6	15,4	17,5
Diameter dalam (A)	4,7-5,3	6,0-6,5	7,5-8,3
Berat dari torus (A)	7,9	7,9	7,9
Volume ruang (A ³)	174	262	427

Sumber: Valle, 2003.

b. Mekanisme pembentukan kompleks

Siklodekstrin dapat membentuk kompleks inklusi dengan molekul lain baik dalam keadaan padat maupun dalam larutan (Diaz dkk., 2003). Inklusi siklodekstrin merupakan kejadian molekul stoikiometri dimana biasanya hanya satu molekul tamu yang

berinteraksi dan berikatan dengan rongga molekul siklodekstrin. Dalam kompleks ini molekul tamu diikat dalam rongga molekul siklodekstrin. Molekul air digantikan oleh molekul hidrofobik dalam larutan sehingga dihasilkan penurunan regangan cincin siklodekstrin dalam energi yang lebih rendah dan lebih stabil (Valle, 2003).

Molekul tamu yang diikat dalam siklodekstrin bersifat tidak tepat tetapi sifat ikatannya dinamis. Kekuatan pengikatan tergantung pada ukuran siklodekstrin dengan ukuran molekul yang diikat, serta interaksi termodinamika antara berbagai komponen yang berbeda dari sistem (siklodekstrin, tamu dan pelarut) (Valle, 2003).

c. Manfaat siklodekstrin

Siklodekstrin dapat menstabilkan zat yang sensitif terhadap oksigen dan cahaya, memodifikasi kereaktifan reaksi kimia molekul yang terikat, memfiksasi zat yang mudah menguap, mengubah zat yang bersifat cair menjadi bubuk atau tepung dan melindungi zat dari degradasi akibat mikroorganisme (Valle, 2003).

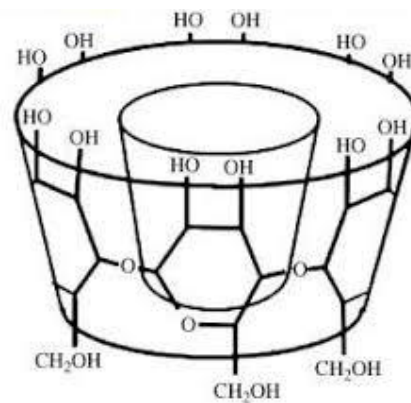
Siklodekstrin juga mempunyai kemampuan berinteraksi dengan bermacam-macam senyawa ionik dan molekular membentuk suatu senyawa kompleks inklusi siklodekstrin. Oleh karena kemampuan yang dimilikinya, siklodekstrin dapat dimanfaatkan sebagai bahan peng-inklusi sehingga siklodekstrin dapat dimanfaatkan dalam berbagai jenis industri seperti industri pangan, farmasi, pertanian dan kimia analisa (Pszczola, 1988).

d. Alfa siklodekstrin

Alfa siklodekstrin mempunyai sinonim *Cyclohexaamylose*, *Cyclomalthohexaose*, *α-Schardinger* dekstrin (WHO, 2005). Alfa siklodekstrin adalah sakarida siklik non pereduksi yang terdiri dari 6 unit glukosa dihubungkan 1-4 *α-glycosidic* yang dihasilkan oleh siklodekstrin *glucopyranosyltransferase* (CGTase, EC 2.4.1.19) pada hidrolisis sirup pati pH netral (6,0-7,0) dan suhu (35-40° C) (WHO, 2002).

Penjernihan Alfa siklodekstrin dapat dilakukan dengan presipitasi dari kompleks Alfa siklodekstrin dengan 1-decanol dan dilarutkan dalam air. Rumus kimia dari Alfa siklodekstrin adalah $C_{36}H_{60}O_{30}$ dan berat molekul 972,402. Sifat Alfa siklodekstrin adalah berbentuk bubuk, berwarna putih, tidak berbau dengan titik leleh 278° C (FAO, 2011). Struktur anular dari Alfa siklodekstrin membentuk rongga hidrofobik yang memungkinkan pembentukan kompleks inklusi dengan berbagai molekul organik non-polar dengan ukuran sesuai. Sifat hidrofobik dari permukaan luar struktur siklik membuat Alfa siklodekstrin larut dalam air (WHO, 2002).

Berikut ini skema struktur Alfa Siklodekstrin :



Gambar 2. Skema Struktur A-Siklodekstrin

Sumber : Duchene, 2011

3. Pemeriksaan Protein Total

a. Pengertian protein total

Protein merupakan senyawa yang tergolong kedalam biomakromolekul, artinya molekul besar yang mempunyai fungsi biologis. Biomakromolekul ini mempunyai ukuran yang besar karena senyawa ini adalah suatu polimer, artinya senyawa yang tersusun dari sejumlah besar senyawa lain sebagai satuan terikat satu sama lain. Molekul protein tersusun dari senyawa yang lebih kecil, yaitu asam amino (Sadikin, 2001).

Protein mempunyai empat tingkat struktur yang berbeda, yaitu struktur primer, sekunder, tersier dan kuartener. Protein mempunyai sifat yang berbeda-beda, yaitu protein mudah larut dan sukar larut dalam air (Poedjiadi, 2009).

Distribusi protein di dalam sel dan di dalam tubuh sangat luas. Protein terdapat di dalam inti sel maupun diluarnya, yaitu di

sitoplasma. Pada makhluk bersel banyak, molekul protein juga terdapat di dalam cairan darah. Protein yang larut di dalam darah dapat dibagi menjadi 2 kelompok besar. Protein yang pertama adalah albumin, sedangkan yang kedua adalah globulin (Sadikin, 2001).

Pengertian dari albumin dan globulin adalah sebagai berikut :

1) Albumin

Albumin merupakan substansi terbesar protein yang di produksi oleh hati dari asam amino yang diambil dari makanan. Albumin merupakan fraksi protein terbanyak (kira-kira 2/3 dari protein total). Albumin memiliki rentang nilai normal yang besar yaitu 3,5-5,3 g/dl sehingga penurunan ringan tidak terlalu terlihat (Sulaiman dkk., 2012).

Fungsi albumin adalah mengatur tekanan onkotik, yaitu tekanan yang menjaga air agar tetap berada dalam plasma. Kemudian fungsi lainnya adalah mengangkut nutrisi, hormon, asam lemak, dan zat metabolit dari tubu. Apabila terdapat gangguan fungsi sintesis sel hati maka kadar albumin serum akan menurun (hipoalbumin) terutama apabila terjadi lesi sel hati yang luas dan kronik. Penyebab lain hipoalbumin diantaranya terdapat kebocoran protein total di tempat lain seperti ginjal, pada kasus gagal ginjal, usus akibat malabsorpsi protein, dan kebocoran melalui kulit pada kasus luka bakar yang luas. Hipoalbumin juga

dapat disebabkan intake kurang, peradangan atau infeksi (Rosida, 2016).

2) Globulin

Globulin adalah kelompok protein yang tidak larut dalam larutan garam encer. Globulin terdiri atas beberapa kelompok protein lagi. Globulin berfungsi sebagai pengangkut lemak, vitamin, hormon, dan mineral. Selain itu globulin juga berguna untuk membentuk fibrinogen, muscudin, crystallin dan antibodi (Djojodibroto, 2003).

Nilai rujukan untuk globulin normal adalah 2,8-3,2 g/dl. Peningkatan konsentrasi protein total dan globulin diikuti dengan penurunan konsentrasi albumin. Kadar globulin meningkat pada infeksi kronis, penyakit hati (sirosis bilier, ikterus obstruktif), *rheumatoid arthritis*, leukemia, lupis, dan disfungsi ginjal. Kadar globulin dapat menurun pada kasus anemia hemolitik akut (Healthoracle, 2014).

b. Pemeriksaan kadar protein total

Pengukuran konsentrasi protein total dari serum merupakan pemeriksaan laboratorium yang sangat penting dan ikut memberikan gambaran tentang keadaan kesehatan umum seseorang (Sadikin, 2001). Pemeriksaan ini digunakan untuk pemantauan risiko penyakit hati dan ginjal. Sampel yang digunakan pada pemeriksaan protein total, albumin dan globulin biasanya adalah serum darah.

Salah satu metode pemeriksaan ini adalah metode biuret yang menggunakan pengukuran serapan cahaya dengan prinsip ion cupri (Cu^{2+}) berinteraksi dengan ikatan peptida akan membentuk kompleks warna ungu dalam suasana basa (Diasys, 2012). Intensitas warna yang terjadi sebanding dengan kadar protein total dalam sampel dan diukur dengan menggunakan fotometer (Kemenkes, 2010). Nilai normal untuk protein total terdapat pada Tabel 2.

Tabel 2. Nilai Normal Protein Total

Usia	Perempuan (gr/dl)	Laki-laki (gr/dl)
1-30 hari	4,2 – 6,2	4,1 – 6,3
1 – 6 bulan	4,4 – 6,6	4,7 – 6,7
6 bulan – 1 tahun	5,6 – 7,9	5,5 – 7,0
1 – 18 tahun	5,7 – 8,0	5,7 – 8,0
Dewasa	6,6 – 8,8	6,6 – 8,8

Sumber : Diasys, 2012.

c. Faktor yang mempegaruhi kadar protein total

Kadar protein total memang bisa merubah tergantung pada kondisi tubuh yang patologis sampai pada asupan makanan (Kee, 2007). Perubahan ini biasanya terjadi dalam bentuk penurunan nilai konsentrasi dan sangat jarang terjadi yang berupa kenaikan. Perubahan tersebut selalu terjadi sebagai perwujudan suatu kelainan fisiologis di dalam tubuh (Sadikin, 2001)

Penurunan kadar protein total dapat terjadi pada seseorang dengan keadaan malnutrisi, kelaparan, penyakit hepar berat, kanker saluran gastrointestinal, gagal ginjal dan luka bakar berat (Kee, 2007).

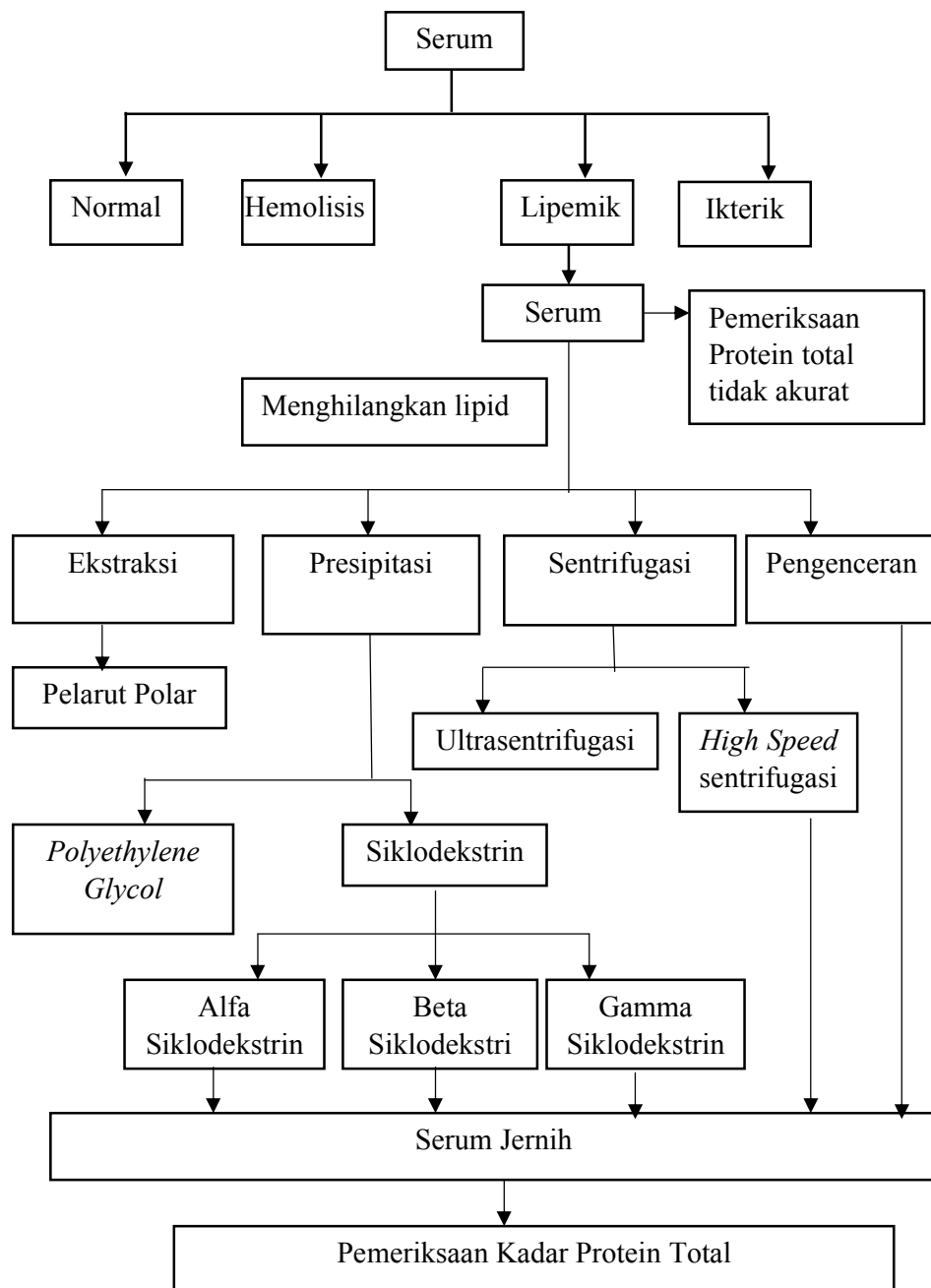
Peningkatan kadar protein total bisa dikarenakan dehidrasi, muntah, diare, multiple myeloma, sarkoidosis dan sindrom distres pernapasan (Kee, 2007).

d. Faktor yang mempengaruhi pemeriksaan kadar protein total

Pada pemeriksaan kadar protein total di laboratorium terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi pemeriksaan. Salah satunya adalah kondisi serum yang tidak ideal seperti lipemik, ikterik dan hemolisis. Serum ikterik adalah serum yang disebabkan karena peningkatan konsentrasi bilirubin (Thomas dkk., 2007). Serum hemolisis adalah serum yang terjadi karena adanya pelepasan isi intraseluler eritrosit kedalam plasma atau serum (Piyophipong, 2010).

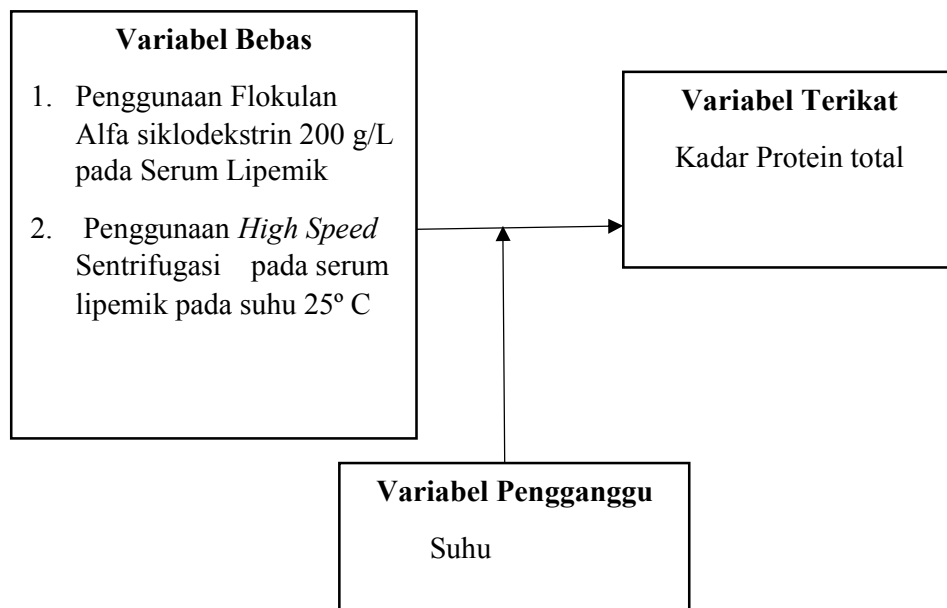
Serum lipemik mengganggu pemeriksaan yang menggunakan fotometri. Apabila suatu sampel terdapat warna atau kekeruhan, akan mempengaruhi pembacaan hasil dan berakibat nilai absorban yang diperoleh tidak menggambarkan konsentrasi sampel yang diperiksa dan menyebabkan hasil pemeriksaan tinggi palsu atau rendah palsu (Thomas dkk., 2007).

B. Kerangka Teori



Gambar 3. Kerangka Teori

C. Kerangka Konsep



Gambar 4. Kerangka Konsep

D. Hipotesis

Ada kesesuaian yang tinggi kadar protein total pada serum lipemik yang diolah dengan penambahan flokulan Alfa Siklodekstrin dan *High Speed* sentrifugasi.