

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 yang baik untuk bahan pemeriksaan laboratorium adalah serum yang jernih, tidak hemolisis dan tidak keruh atau lipemik (Menkes, 2013). 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).

Konsidi 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 reaksi antigen-antibodi dengan cara mengeblok antibodi (WHO, 2002).

Lipoprotein dapat mengganggu proses pencampuran sampel dengan reagen seperti deteksi nanibodi (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 eletroforesis 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 (Piyophirapong dkk., 2010).

3) Sampel yang tidak homogen

Darah harus disentrifuge terlebih dahulu sebelum menjadi serum. Setelah disentrifuge, 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).

5) Cara menghindari serum lipemik

Serum lipemik perlu dihindari dengan perlakuan sebagai berikut :

- a) Pasien harus puasa 12 jam sebelum pengambilan darah.
- b) 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).

d. 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

Prosedur yang direkomendasikan untuk mengatasi sampel lipemik adalah dengan sentrifugasi menggunakan ultrasentrifugasi yang efektif untuk menghilangkan lemak dan mempertimbangkan pengukuran pada banyak analit. Namun karena harganya yang tinggi, peralatan ini tidak tersedia di banyak laboratorium. Ultrasentrifugasi mempunyai kecepatan 100.000-200.000x g. Menurut WHO (2002), sentrifugasi dengan mikrosentrifugasi dengan kecepatan

10.000 x g selama 10 menit efektif untuk menghilangkan lemak dalam serum.

2) Ekstraksi

Lemak dapat dihilangkan dengan cara diekstraksi menggunakan pelarut polar (Nicolac, 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 (Nicolac, 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) Alfa-siklodekstrin

Digunakan untuk mengendapkan lipoprotein pada sampel serum atau plasma (Contois dan Nguyen, 2012). Sebanyak 200 gram alfa-siklodekstrin harus dilarutkan dalam 1 liter air dan disimpan dalam kulkas. Sebelum digunakan, larutan alfa-siklodekstrin harus sesuai dengan suhu ruangan. Campuran 1 bagian larutan alfa-siklodekstrin dengan dua bagian serum dan sentrifuge 1 menit 10.000 g. Supernatan yang jernih dapat digunakan untuk analisis, pengenceran harus dipertimbangkan ketika menghitung unsur dalam serum sampel asli. Penelitian telah menggunakan bahwa hasil dari 20 unsur serum tidak dipengaruhi dengan pengendapan lipoprotein menggunakan alfa-siklodekstrin (WHO, 2002).

4) Pengenceran

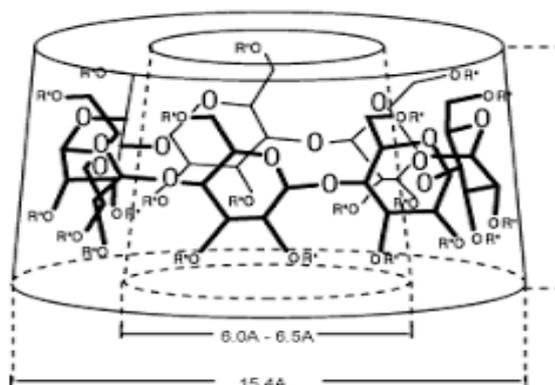
Pengukuran dapat dilakukan dengan pengenceran sampel. Pengenceran sampel hanya cukup untuk menghilangkan gangguan kekeruhan, tetapi tidak menjamin

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 (Camiiller 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 sikloheksaamilase yang diproduksi oleh *Bacillus macerans*. Beta-siklodekstrin dengan penggunaan sikloheptataamilase yang diperoleh dari *Bacillus megaterium*. Sedangkan gama-siklodekstrin menggunakan siklooktaamilase 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).

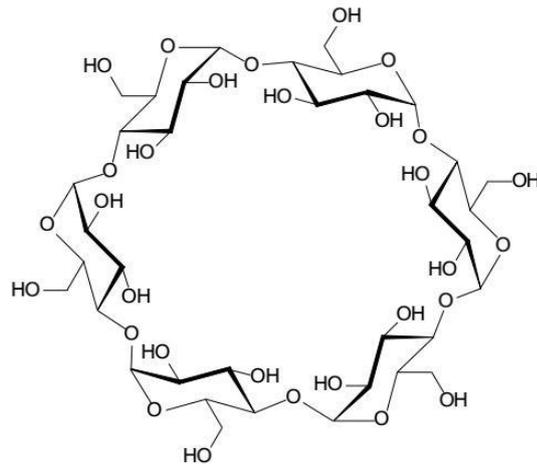
Siklodekstrin juga mempunyai kemampuan berinteraksi dengan bermacam-macam senyawa ionik dan molekular membentuk suatu senyawa kompleks inklusi siklodekstrin. Oleh karena kemampuan yang dimilikinya, siklodekstrin dapat

dimanfaatkan sebagai bahan peng-inklusi sehingga siklodekstrin dapat dimanfaatkan dalam berbagai jenis industri seperti industri pangan, farmasi, pertanian dan kimia analisa (Pszezola, 1988).

d. Alfa-Siklodekstrin

Alfa-siklodekstrin mempunyai sinonim *Cyclohexamylose*, *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 alfasiklodekstrin larut dalam air (WHO, 2002). Struktur kimia alfa-siklodekstrin ditunjukkan pada gambar 2.



Gambar 2. Struktur Alfa Siklodekstrin

Sumber : Bartolacci, 2011

3. Pemeriksaan Kadar Kalsium Serum

a. Pengertian Kalsium

Kalsium merupakan mineral yang paling banyak terdapat dalam tubuh. Sekitar 99% total kalsium terdapat dalam tubuh ditemukan dalam jaringan keras yaitu tulang dan gigi terutama dalam bentuk hidroksipati, hanya sebagian kecil dalam plasma cairan ekstrasvaskuler (Almatsir, 2001). Selain itu kalsium mengeluarkan efek sedatif pada sel-sel saraf dan mempunyai fungsi intraseluler penting, termasuk pembentukan potensial aksi jantung dan kontraksi otot (Christensen dan Kenney, 2009).

Mineral ini juga dibutuhkan dalam proses pembentukan dan perawatan jaringan rangka tubuh serta kegiatan penting lain, misalnya meningkatkan penyerapan vitamin B12, mempengaruhi rangsangan sistem saraf dan kontraksi otot, berperan dalam proses

pembekuan darah dan membantu mengatur permeabilitas sel (Sumardjo, 2009).

Rentang rujukan untuk kalsium adalah 9 sampai 11 mg/dl (4,5 sampai 5,5 mEq/L) (Sacher dan Mc Pherson, 2004). Kadar kalsium dalam darah mencerminkan kalsium total yang ada dalam tubuh. Kalsium total ini terdistribusi dalam tiga fraksi utama yaitu fraksi yang terikat ke protein, bebas (elemental, tidak terikat, atau terionisasi) dan membentuk kompleks. Fraksi yang terikat ke protein membentuk 40-48% dari Ca^{2+} serum total. Tujuh puluh lima sampai 85% Ca^{2+} terikat ke albumin dan 15-25% ke globulin. Ca^{2+} bebas atau tidak terikat membentuk 45-50% dari Ca^{2+} total. Sekitar 8% dari Ca^{2+} total membentuk kompleks di dalam plasma terutama dengan bikarbonat, sitrat, laktat atau sulfat (Marks, dkk., 1996).

b. Metode Pemeriksaan

Pemeriksaan kalsium dilakukan dengan metode fotometri menggunakan *arsenazo* III. Kalsium dengan *arsenazo* III pada pH netral akan membentuk kompleks berwarna biru yang intensitas warnanya sebanding dengan konsentrasi dari kalsium. Gangguan yang disebabkan oleh magnesium dieliminasi dengan penambahan *8-hydroxyquinoline-5-sulfonic acid* (Diasys, 2008).

c. Masalah Klinis yang Mempengaruhi Kadar Kalsium

Kelainan kalsium serum biasanya disebabkan oleh penyakit paratiroid, penyakit metabolisme tulang, dan gangguan metabolisme vitamin D (Sacher dan McPherson, 2004).

1) Peningkatan Kadar Kalsium

Hiperkalsemia (kadar kalsium darah yang tinggi) merupakan masalah yang sering dijumpai pada beberapa keganasan dengan dan atau tanpa keterlibatan tulang, pada mieloma multipel (lesi - lesi litik di tulang), dan pada penyakit granulomatosa sarkoidosis. Hiperkalsemia dapat menimbulkan perubahan-perubahan mencolok pada keadaan mental pasien yang menyebabkan kebingungan dan ketidakmampuan berkomunikasi. Hiperkalsemia kadang dijumpai pada hipertiroidisme (Sacher dan McPherson, 2004).

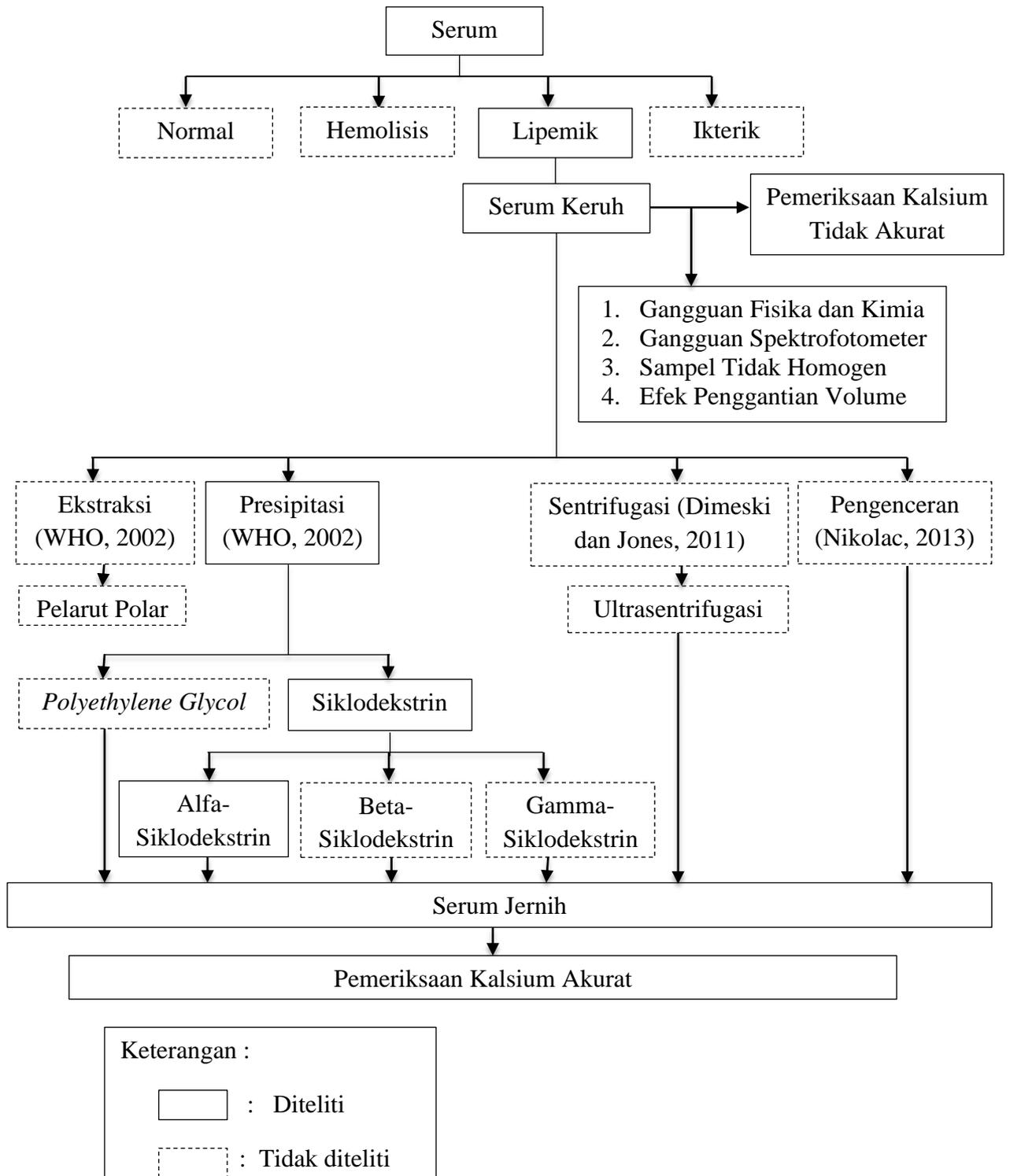
2) Penurunan Kadar Kalsium

Hipokalsemia, seperti yang terukur dilaboratorium, dapat terjadi akibat penurunan kadar albumin. Pada keadaan ini, fraksi kalsium yang terikat berkurang secara independen dari fraksi terionisasi, yang harus tetap normal. Hipokalsemia sejati sering timbul sebagai kedaruratan medis serius pada pankreatitis akibat sekuestrasi kalsium terionisasi jaringan yang rusak dan cairan disekitarnya (Sacher dan Mc Pherson, 2004).

Hipokalsemia menyebabkan iritabilitas saraf, yang sering bermanifestasi sebagai tetani (spasme otot dan kedutan, terutama di otot-otot tangan dan wajah). Bentuk hipokalsemia yang parah ini memerlukan koreksi segera dengan infus kalsium intravena. Pasien yang mengidap penyakit ginjal kronis biasanya harus mendapat suplemen kalsium dalam makanannya (Sacher dan Mc Pherson, 2004).

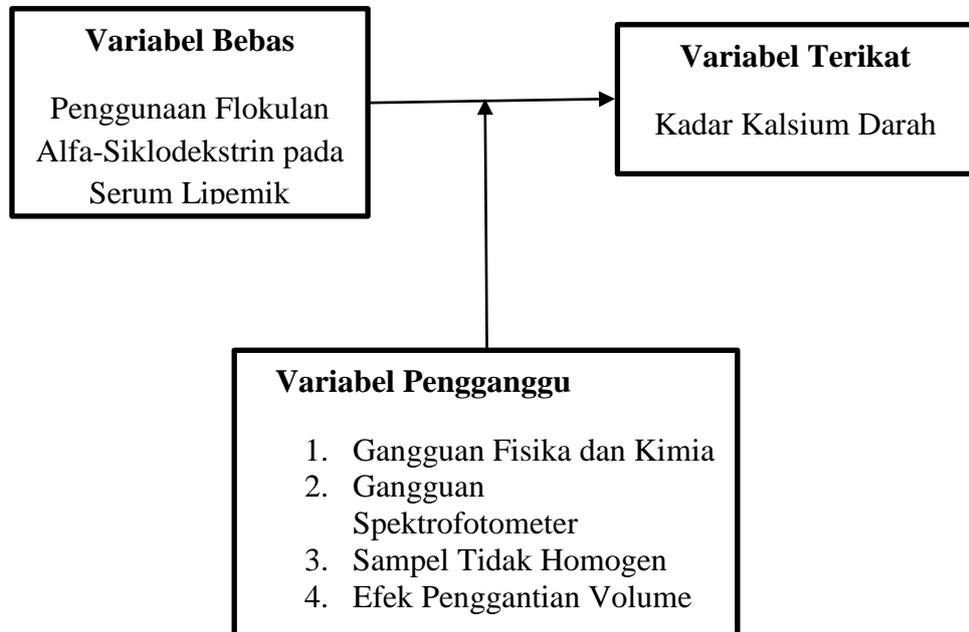
Pengangkatan kelenjar paratiroid secara bedah (misalnya pada tiroidektomi total) juga menyebabkan hipokalsemia seumur hidup yang memerlukan terapi penggantian secara terus menerus. Hipokalsemia fungsional disertai penurunan kalsium terionisasi, tetapi kalsium total normal juga dapat terjadi setelah tranfusi masif karena besarnya jumlah sitrat dalam produk-produk darah yang berikatan dengan kalsium bebas dalam tubuh pasien (Sacher dan Mc Pherson, 2004).

B. Kerangka Teori



Gambar 3. Kerangka Teori

C. Kerangka Konsep



Gambar 4. Kerangka Konsep

D. Hipotesis

Ada perbedaan kadar kalsium pada serum lipemik dengan dan tanpa penambahan alfa-siklodekstrin.