

BAB II

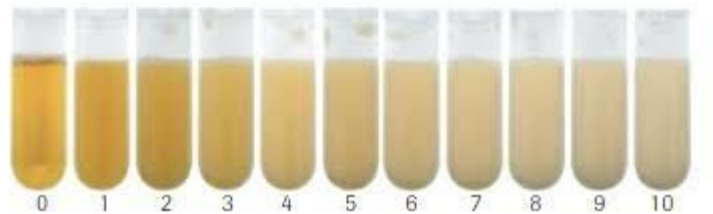
TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Serum Lipemik

a. Pengertian Serum Lipemik

Serum merupakan bagian darah yang tersisa setelah darah membeku (Gandasoebrata, 2013). Pengambilan serum di laboratorium dilakukan dengan pembekuan darah pada suhu kamar selama 20-30 menit, kemudian pemusingan darah yang telah membeku dengan kecepatan 3000 rpm selama 5-15 menit sampai cairan serum terpisah dari sel-sel darah yang mengendap di dasar tabung. Serum yang sudah terpisah dari bekuan darah kemudian dipindahkan dengan menggunakan pipet kedalam wadah lain yang tertutup rapat dan tidak mengkontaminasi serum (Depkes, 2004).



Gambar 1. Serum Lipemik
Sumber : Castro et al, 2018

Serum lipemik didefinisikan sebagai kekeruhan dalam sampel yang disebabkan oleh trigliserida tinggi, sebagian besar sebagai kilomikron dan lipoprotein densitas sangat rendah (VLDL), terlihat oleh mata dan dapat disebabkan oleh asupan lemak, metabolisme lipoprotein abnormal, infus lipid (parental) atau pemberian makanan (enteral), dan terapi heparin.

Penyebab kekeruhan dari serum lipemik adalah peningkatan akumulasi konsentrasi lipoprotein di dalam darah. Hanya beberapa partikel lipoprotein yang menyebabkan terjadinya kekeruhan pada serum diantaranya adalah partikel kilomikron yang berukuran 70-1000 nm, sedangkan partikel lipoprotein yang berukuran kecil seperti High Density Lipoprotein (HDL) dan Low Density Lipoprotein (LDL) tidak menyebabkan serum menjadi keruh (Nicolac, 2013). Kekeruhan yang merata pada serum mengartikan peningkatan kandungan VLDL (Very Low Density Lipoprotein). Terdapat beberapa jenis kekeruhan yang dijumpai menurut Sacher dan McPherson (2004) yaitu:

- (1) Kekeruhan uniform yang mengindikasikan peningkatan Very Low Density Lipoprotein (VLDL) tanpa kilomikron yang signifikan.
- (2) Krim dilapisan atas pada specimen serum yang mengindikasikan peningkatan kilomikron dan Very Low Density Lipoprotein (VLDL).
- (3) Krim yang mengapung pada sampel serum mengindikasikan peningkatan kilomikron tanpa kelebihan Very Low Density Lipoprotein (VLDL).

a. Penyebab dan Klasifikasi Serum Lipemik

Lipemik dapat disebabkan oleh makanan dengan kandungan lemak yang tinggi. Penyebab pra-analitik yang paling umum dari kasus lipemik adalah waktu pengambilan sampel yang tidak memadai setelah pasien mengonsumsi makanan tertentu yang mengandung lemak (Lippi, dkk, 2013). Penyebab utama lainnya adalah hipertrigliseridemia, baik

yang disebabkan dari gangguan primer (misalnya, hiperlipidemia Fredrickson tipe I, IV atau V) atau gangguan sekunder (misalnya, diabetes mellitus, alkoholisme, penyakit ginjal dan gangguan hati berlemak non alcohol) (Boisrame, dkk 2015, Fell 2015).

Nilai normal untuk kadar trigliserida terbagi dalam tiga tingkatan, yang dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1 Nilai Normal Trigliserida

Normal	< 150 mg/ dL
Hipertrigliserida ringan	150 – 499 mg/ dL
Hipertrigliserida sedang	500 – 886 mg/ dL
Hipertrigliserida tinggi	>866 mg/ dL

Sumber : Woods, 2010

Sedangkan, lipemik sendiri dibagi dalam tiga tingkat kelipemikan berdasarkan kadar trigliseridanya, yang dapat dilihat pada tabel.

Tabel 2 Tingkat Lipemik

Tingkat lipemik	Kadar Trigliserida (mg/dL)
Lipemik rendah	300 – 499
Lipemik sedang	500 – 799
Lipemik tinggi	800 – 1800

Sumber : Pambudi, 2017

b. Mekanisme Gangguan Serum Lipemik

Gangguan lipemik juga disebabkan oleh peningkatan hamburan cahaya dan penyerapan cahaya oleh lipid dalam metode spektrofotometri. Selain hamburan cahaya dan penyerapan cahaya gangguan lipemik juga disebabkan oleh gangguan fisika dan kimia, dapat menyebabkan sampel yang tidak homogeny dan terjadinya penggantian volume.

(1) Gangguan fisika dan kimia

Lipoprotein yang terakumulasi pada serum dapat mengganggu hasil analisis fisika dan interaksi kimia, terutama pada metode elektroforesis Serum lipemik juga dapat mengganggu secara non-spesifik pada pengujian imunologi. Lipoprotein dapat mengganggu reaksi antibody antigen dengan memblokir pengikatan antibody (Nikolac, 2013). Lipoprotein dapat mengganggu reaksi antigen antibody dengan memblokir tempat ikatan antibody. Gangguan dapat menyebabkan meningkat palsu atau menurun palsu tergantung dari sifat reaksi (Nikolac, 2013).

(2) Gangguan Metode Spektrofotometri

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 homogeny

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 dibagian 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) (Nikolac, 2013).

(4) Efek Perpindahan Volume

Mekanisme ini sangat mempengaruhi konsentrasi elektrolit. Sampel normal terdiri dari sekitar 92% air dan 8% lipid. Pada sampel lipemik, proporsi fase lipid meningkat hingga 25%. Analit yang tidak terdistribusi dalam fase lipid (seperti elektrolit) terdistribusi dibagian fase air yang hanya 75% dari sampel (Nikolac, 2014).

Lipoprotein menurunkan konsentrasi analit yang tampak dengan mengurangi volume air yang tersedia dari volume sampel, karena volume yang ditempati oleh lipoprotein dalam plasma atau serum termasuk dalam perhitungan konsentrasi analit (WHO, 2002).

c. Menghindari Serum Lipemik

Untuk menghindari gangguan lipoprotein, beberapa perlakuan diperlukan diantaranya:

- 1) Diharuskan berpuasa setidaknya 12 jam setelah mengonsumsi makanan atau minuman yang mengandung lemak sebelum dilakukan pengambilan sampel darah.

- 2) Pada pasien yang menerima infus parenteral lipid, diperlukan periode 8 jam penghentian pengobatan sebelum dilakukan pengambilan sampel darah (WHO, 2002).

d. Penanganan Serum Lipemik

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

1) Sentrifugasi

Ultrasentrifugasi ditetapkan sebagai gold standar yang direkomendasikan oleh WHO untuk menghilangkan lipemik pada serum. Namun metode ini dinilai mahal dan tidak setiap laboratorium memilikinya. *High speed* sentrifugasi menjadi alternatif dalam menghilangkan lipemik pada serum (Soleimani et al, 2020).

2) Ekstraksi

Metode ekstraksi dengan pelarut organik seperti eter dan kloroform untuk menghilangkan lipid pada serum manusia, namun penggunaan pelarut organik seperti eter dan kloroform sudah jarang dipakai karena bahan ini bersifat karsinogenik yang membahayakan teknisi laboratorium dan lingkungan (Castro et al, 2018).

3) Presipitasi

Presipitasi dilakukan untuk mengikat lipid yang ada pada serum dengan penambahan flokulan *Polyethylene glycol* atau *siklodekstrin*. Setelah disentrifugasi, partikel lemak akan mengalami presipitasi pada dasar tabung dan serum akan menjadi jernih sehingga pengukuran absorban dapat dilakukan secara tepat (Nikolac, 2013).

4) Pengenceran

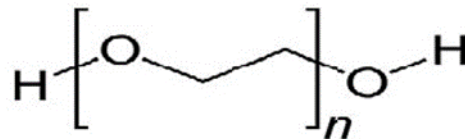
Pengukuran dapat dilakukan dengan pengenceran sampel. Pengenceran sampel hanya cukup untuk menghilangkan gangguan kekeruhan, tetapi tidak menjamin konsentrasi analit masih ada karena keterbatasan analitik pada metode yang digunakan (Nikolac, 2013).

2. *Polyethylene Glycol*

a. Pengertian

Polyethylene Glycol adalah suatu polimer tambahan dari etilen oksida dan air yang dinyatakan dengan rumus molekul $H(OCH_2CH_2)_nOH$. N adalah jumlah rata-rata gugus oksietilen. Bobot molekul rata-rata tidak kurang dari 95% dan tidak lebih dari 105,0% dari nilai nominal yang tertera pada etiket. Pemberian umumnya ditentukan dengan bilangan yang menunjukkan bobot molekul rata-rata. Bobot molekul rata-rata menambah kelarutan dalam air, tekanan uap, higroskopisitas, dan mengurangi kelarutan dalam pelarut organik. Bentuk cair umumnya jernih dan berkabut cairan kental, tidak

berwarna atau praktirs, putih, licin seperti plastik memiliki konsistensi, serpihan butiran atau serbuk, putih gading.



Gambar 2. Struktur *Polyethylene Glycol*
Sumber : Ditjen POM, 2014

Polyethylene glycol adalah polimer larut dalam air yang tidak mengalami denaturasi. Kemampuannya untuk mengendapkan protein pada larutan cair yang dipahami secara kualitatif dalam kondisi volume berlebih. Peningkatan konsentrasi PEG yang dibutuhkan untuk mempengaruhi pengurangan kelarutan tertentu adalah unik untuk pasangan protein-polimer tertentu, karena tidak sensitive terhadap kondisi larutan terutama bergantung pada ukuran protein dan polimer (Ingham, 2004) .

a. Mekanisme Presipitasi

Polyethylene Glycol dalam mengikat lemak ialah dengan cara bagian non polar (larut dalam lemak) pada *Polyethylen glycol* akan mengikat gugus non polar pada lemak, sehingga lemak dapat terikat oleh *Polyethylene Glycol*. Setelah mencapai kadar tertentu, permukaan akan konstan, dan dengan bantuan pemutar (sentrifugasi) maka lemak akan mengendap di

dasar tabung dan didapat serum yang jernih yang dapat digunakan untuk pemeriksaan. Kelarutan bentuk cair bercampur dengan air, bentuk padat mudah larut dalam air, larut dalam aseton, dalam etanol 95% dalam kloroform, dalam etilen glycol monoetil eter, dalam etil asetat dan dalam toluene, tidak larut dalam eter dan dalam heksan (Ditjen POM, 2014).

b. Manfaat *Polyethylene Glycol*

Manfaat *Polyethylene Glycol* sebagai agen presipitasi fraksi tertentu adalah sebagai zat kimia yang tidak berbahaya. Tidak seperti etanol dan agen pelarut organik lainnya, sebagai agen presipitasi, *Polyethylene Glycol* memiliki kecenderungan kecil untuk mendenaturasi atau berinteraksi dengan protein meskipun berada dalam konsentrasi yang tinggi dan temperature yang meningkat. Manfaat lain dari penggunaan PEG daripada etanol dan ammonium sulfat adalah PEG membutuhkan waktu yang singkat untuk mempresipitaskan protein (Ingham, 2004).

3. Glukosa

a. Pengertian Glukosa

Glukosa merupakan produk akhir metabolisme karbohidrat dan merupakan sumber energi utama untuk organisme hidup, yang dikontrol oleh insulin. Glukosa darah adalah gula yang terdapat dalam darah terbentuk dari karbohidrat dalam makanan dan disimpan sebagai glikogen di hati dan otot rangka. Insulin dan glukagon, dua hormon yang berasal dari pankreas, dapat mempengaruhi kadar glukosa darah. Insulin diperlukan untuk permeabilitas membran sel terhadap glukosa dan untuk transportasi glukosa ke dalam sel. Tanpa insulin, glukosa tidak dapat memasuki sel. Glukagon menstimulasi glikogenolisis (perubahan glikogen cadangan menjadi glukosa) dalam hati (Kee, 2008).

Kadar glukosa darah dibagi menjadi dua yaitu hiperglikemia dan hipoglikemia. Hiperglikemia bisa terjadi karena asupan karbohidrat dan glukosa yang berlebihan. Beberapa tanda dan gejala dari hiperglikemia yaitu peningkatan rasa haus, nyeri kepala, sulit konsentrasi, penglihatan kabur, peningkatan frekuensi berkemih, letih, lemah, penurunan berat badan. Sedangkan hipoglikemia juga bisa terjadi karena asupan karbohidrat dan glukosa kurang. Beberapa tanda dan gejala dari hipoglikemia yaitu gangguan kesadaran, gangguan penglihatan, gangguan daya ingat, berkeringat, tremor, palpitasi, takikardia, gelisah, pucat, kedinginan, gugup, rasa lapar (Mufti dkk, 2015).

b. Metabolisme Glukosa

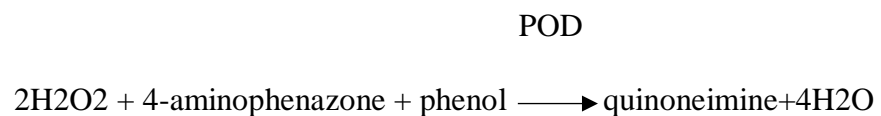
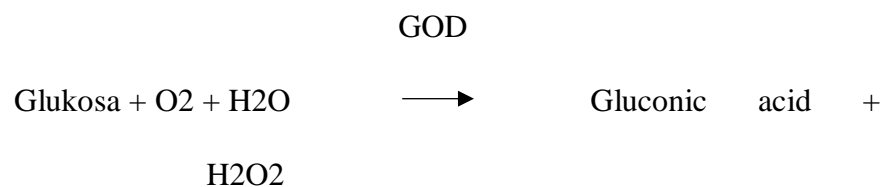
Metabolisme glukosa sebagian besar menghasilkan energi bagi tubuh. Glukosa yang berupa disakarida, dalam proses pencernaan di mukosa usus halus akan diuraikan menjadi monosakarida oleh enzim disakaridase, enzim-enzim maltase, sukrose, laktase yang bersifat spesifik untuk satu jenis disakarida. Dalam bentuk monosakarida, gula akan diserap oleh usus halus (Sacher, 2004). Glukosa dimetabolisme menjadi piruvat melalui jalur glikolisis, yang dapat terjadi secara anaerob, dengan produk akhir yaitu laktat. Jaringan aerobik metabolisme piruvat menjadi asetil-KoA, yang dapat memasuki siklus asam sitrat untuk oksidasi sempurna menjadi CO₂ dan H₂O, berhubungan dengan pembentukan ATP dalam proses fosforilasi oksidatif (Murray et al , 2006). Glukosa dan metabolisahnya juga berperan dalam beberapa proses lain, seperti konversi menjadi polimer glikogen dalam otot rangka dan hepar, jalur pentosa fosfat yang merupakan jalur alternatif dalam glikolisis untuk biosintesis molekul pereduksi (NADPH) dan sumber ribosa bagi sintesis asam nukleat, triosa fosfat membentuk gugus gliserol dari triasilgliserol, serta piruvat dan zat-zat antara dalam struktur asam sitrat yang menyediakan kerangka karbon untuk sintesis asam amino dan asetil-KoA sebagai prekursor asam lemak dan kolesterol (Murray et al , 2006).

c. Metode Pemeriksaan Glukosa

Metode pemeriksaan untuk pengukuran kadar glukosa menurut standar World Health Organization (WHO) adalah metode kolorimetrik enzimatik

GOD-PAP (Glukosa-Oxidase-Peroxidase Aminoantipyrine Phenol). Prinsip dari metode ini adalah Glukosa dengan enzim glukosa oksidase bereaksi membentuk enzim glukonat dan H_2O_2 . H_2O_2 yang terbentuk bereaksi dibawah katalis peroksidase fenol dan 4-aminoantipirin membentuk quinonemeine yang berwarna ungu atau merah muda. Warna berbanding lurus dengan kadar glukosa darah (Dialab, 2021).

Reaksi:



(Dialab, 2021).

Nilai rujukan kadar glukosa ditunjukkan pada tabel 3 :

Tabel 3. Nilai Rujukan Kadar Glukosa dalam Serum

Gula Darah Sewaktu	< 140 mg/dL
Gula Darah Puasa	70-110 mg/dL
Gula Darah 2 Jam Setelah Makan	< 140 mg/dL
TTGO	< 200 mg/dL

Sumber : Dialab, 2021.

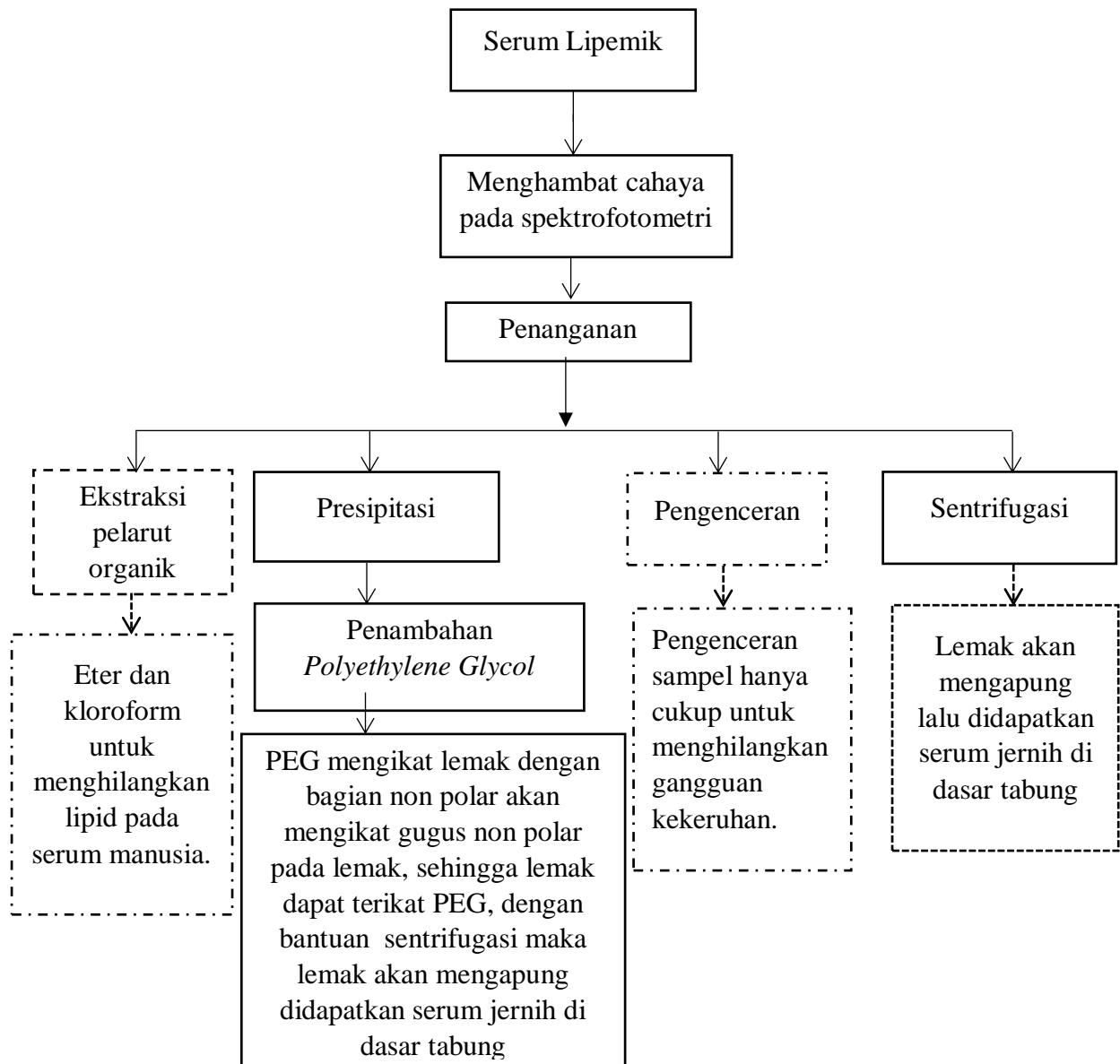
d. Faktor yang Mempengaruhi Kadar Glukosa

Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi kadar glukosa dalam darah, diantaranya adalah :

- 1) Obat diuretik dapat menyebabkan peningkatan kadar gula darah.
- 2) Trauma, stress dapat menyebabkan peningkatan kadar glukosa darah.
- 3) Penundaan pemeriksaan serum dapat menyebabkan penurunan glukosa darah.
- 4) Merokok dapat meningkatkan kadar glukosa darah serum.
- 5) Aktifitas yang berat sebelum uji laboratorium dilakukan dapat menurunkan kadar glukosa (Kee, 2008).

B. Kerangka Teori

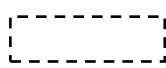
Kerangka teori penelitian ini ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Kerangka Teori

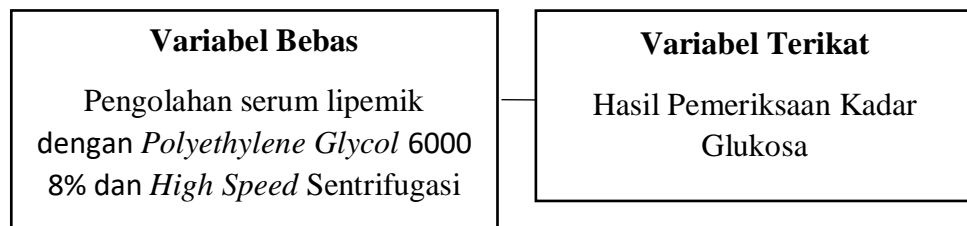
Keterangan :

: Diteliti

 : Tidak diteliti

C. Hubungan Antar Variabel

Hubungan antar variabel penelitian ini ditunjukkan pada Gambar 4.



Gambar 4. Hubungan Antar Variabel

D. Hipotesis

Ada penurunan hasil pemeriksaan kadar glukosa dalam serum lipemik sesudah diolah menggunakan *Polyethylene Glycol* 6000 8% dan *High Speed Sentrifugasi* dibandingkan sebelum pengolahan..