

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Serum Lipemik

a. Pengertian Serum Lipemik

Serum lipemik adalah serum yang keruh, putih atau seperti susu karena hiperlipidemia, penyebab paling umum dari kekeruhan adalah peningkatan konsentrasi trigliserida (Masruroh, 2013). Kekeruhan yang terdapat dalam sampel lipemik disebabkan oleh penumpukan partikel lipoprotein. Kilomikron merupakan partikel paling besar dengan ukuran sampel 70-1000 nm yang memiliki potensi paling besar dalam menyebabkan kekeruhan sampel. Sedangkan penumpukan partikel kecil seperti, lipoprotein densitas tinggi (HDL) dengan ukuran 6-12,5 nm, lipoprotein densitas rendah (LDL) dengan ukuran 20-26 nm dan lipoprotein densitas sangat rendah (VLDL) large dengan ukuran 60-200 nm, VLDL medium dengan ukuran 35-60 nm, dan VLDL small dengan ukuran 27-35 nm memiliki potensi kecil dalam menyebabkan kekeruhan dan bukan penyebab utama serum menjadi lipemik (Nikolac, 2014).

b. Penyebab Serum Lipemik

1) Puasa yang tidak adekuat sebelum pengambilan sampel

Makanan termasuk glukosa, lipid, dan kalsium dapat mempengaruhi hasil tes. Karena setelah makan lebih dari 90% trigliserida yang bersirkulasi berasal dari usus dan disekresikan oleh kilomikron (Kurniawan dkk, 2013). Sehingga pengambilan sampel setelah makan dapat mengakibatkan kesalahan preanalitik, yaitu menyebabkan serum lipemik. Rekomendasi Italia menetapkan bahwa pasien harus berpuasa setidaknya selama 8 jam, sedangkan Australia merekomendasikan pasien berpuasa selama 10 hingga 16 jam sebelum analisis lipid (Nikolac, 2014).

2) Hipertrigliserida

Hipertrigliseridemia adalah peningkatan kadar trigliserida plasma puasa dengan atau tanpa gangguan kadar lipoprotein lain. Menurut penyebabnya hipertrigliseridemia dibagi menjadi dua, yaitu hipertrigliseridemia primer dan hipertrigliseridemia sekunder (Kurniawan dkk, 2013).

a) Hipertrigliserida primer

Hipertrigliserida primer disebabkan oleh cacat genetik yang sehingga mengganggu metabolisme trigliserida. Keadaan ini dapat dijumpai pada hiperlipidemia Fredrickson tipe I, IV, dan V.

Hiperlipidemia Fredrickson terjadi akibat peningkatan kilomikron dan VLDL, kemudian terakumulasi pada darah dan organ lain. Akumulasi trigliserida dalam darah dapat dilihat pada serum pasien yang tampak putih seperti susu, “*milky appearence*”, dan dalam istilah laboratoriumnya disebut sebagai sampel lipemik (Munawirah dkk, 2019).

b) Hipertrigliseridemia sekunder

Masalah metabolisme lipid dan protein yang dikenal sebagai hipertrigliseridemia sekunder disebabkan oleh penyakit lain. Diabetes melitus tipe 2, obesitas, konsumsi alkohol, sindroma metabolik, dan konsumsi obat-obatan tertentu seperti obat diuretik, beta bloker, dan estrogen dalam jangka panjang adalah penyebab paling sering dari hipertrigliseridemia sekunder (Mujiati, 2022).

c. Mekanisme Gangguan Serum Lipemik

Lipemia dapat mengganggu hasil biokimia melalui beberapa mekanisme, termasuk *Non-Homogenitas* sampel, efek perpindahan volume, dan interferensi dengan prosedur spektrofotometri (Soleimani dkk, 2020).

1) Gangguan metode spektrofotometer

Menurut Piyophirapong dkk Hampir semua pengukuran yang menggunakan spektrofotometri terganggu dengan

keadaan lipemik ini. Kekeruhan yang terdapat pada serum lipemik berpengaruh terhadap penyerapan (*absorbs*) spektrofotometer pada semua panjang gelombang, sehingga dapat menyebabkan ketidakakuratan pada nilai analisa.

2) Heterogenitas sampel

Darah disentrifugasi terlebih dahulu untuk mendapatkan serum atau plasma. Setelah sentrifugasi partikel dalam serum akan digolongkan berdasar densitasnya, kilomikron dan partikel VLDL memiliki densitas rendah karena itu akan terdapat dibagian atas serum dan membentuk lapisan yang berbeda. Partikel dalam serum dibedakan antar lapisan tergantung pada 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 mengambil sampel untuk pengujian, sebagian besar alat analisa mengambil sampel pada bagian atas tabung, hal ini dapat menjadikan hasil pengukuran konsentrasi elektrolit dan metabolit lain yang larut air menjadi rendah palsu (Nikolac, 2014).

3) Efek pergantian volume

Serum normal terdiri dari 2 bagian, yaitu 92% air dan 8% lipid. Sedangkan pada serum lipemik, kadar lipid dalam serum mengalami peningkatan hingga mencapai 25%. Serum dengan

konsentrasi lipid yang tinggi dapat menyebabkan penurunan konsentrasi elektrolit dikarenakan sifat lipid yang dapat menggantikan air pada serum, sehingga volume air berkurang. Hal ini menyebabkan ketidakakuratan pada beberapa hasil pemeriksaan elektrolit (Nicolac, 2014).

d. Cara Menghindari Serum Lipemik

Untuk menghindari terjadinya serum lipemik, maka dapat diperhatikan beberapa hal berikut :

- 1) Pengambilan sampel harus dilakukan setelah pasien berpuasa 8-10 jam. karena beberapa parameter pemeriksa kimia klinik dipengaruhi oleh asupan makanan. Jika kondisi ini tidak terpenuhi maka akan berpotensi serum menjadi lipemik (Sacher, 2004 dalam Sugiarti, 2021).
- 2) Tidak minum alkohol selama 24 jam.
- 3) Melakukan diet berlemak.
- 4) Penghentian obat.
- 5) Pada pasien yang menerima infus parenteral lipid, periode 8 jam penghentian pengobatan diperlukan untuk menghindari gangguan kekeruhan (Hagemann, 1994 dalam Kurniawati, 2022).

e. Penanganan Serum Lipemik

Dalam kebanyakan kasus sampel lipemia dapat menyebabkan hasil pemeriksaan tidak akurat, terdapat beberapa cara untuk menangani serum lipemik, yaitu:

1) Ultracentrifuge (*Gold Standar*)

Ultrasentrifugasi adalah metode yang paling efektif dan direkomendasikan untuk menghilangkan lipemia menurut dokumen CLSI C56-A (Saracevic, 2014). Penanganan serum lipemik dengan ultrasentrifugasi dilakukan pada kecepatan 199.000 xg (202.980 rpm) selama 15 menit. Meskipun efektif, metode ini jarang diterapkan karena membutuhkan alat tambahan yang cukup mahal bagi laboratorium kecil dan laboratorium satelit (Cynthia M. Roberts and S.W. Cotton, 2013).

2) Sentrifugasi berkecepatan tinggi

Dalam penelitian Castro (2018) sentrifugasi kecepatan tinggi dengan kekuatan 10.000 x g (10.200 rpm) hampir sama efektifnya dengan ultrasentrifugasi dalam pengurangan lipid. Namun, sentrifugal yang menghasilkan gaya lebih rendah hanya akan efisien dalam membersihkan sampel jika lipemia disebabkan oleh akumulasi partikel yang lebih besar, kilomikron. Jika lipemia disebabkan oleh akumulasi partikel VLDL, prosesnya kurang efektif dan sentrifugasi harus diulang

beberapa kali untuk mendapatkan sampel yang jernih (Nikolac, 2014).

3) Ekstraksi lipid (menggunakan pelarut polar)

Metode lain yang dapat dilakukan adalah metode ekstraksi dengan pelarut organik seperti eter dan kloroform, kloroform secara efektif dapat menghilangkan lipid pada serum manusia, namun penggunaan pelarut organik seperti kloroform dan eter sudah jarang dipakai karena bahan ini bersifat karsinogenik yang membahayakan teknis laboratorium dan lingkungan (Castro, *et al.* 2000).

4) Pengenceran sampel

Pengenceran serum adalah metode yang mudah dan rutin untuk menghilangkan gangguan. Pengenceran serum lipemik dapat menggunakan *distilled water* (Soleimani dkk, 2020) atau menggunakan saline (Andrade dkk, 2016). Namun pengenceran hanya bisa menghapuskan kekeruhan dalam sampel lipemik, dan tidak dapat dipastikan konsentrasi analit tetap berada dalam batas analitik metode yang diujikan (2 atau 3 kali lipat) (Nikolac, 2014).

Natrium Klorida (NaCl) 0,9% merupakan larutan normal saline yang bersifat isotonis. Larutan isotonis adalah larutan yang mempunyai komposisi yang sama dengan cairan tubuh. NaCl dalam setiap liternya mempunyai komposisi natrium

klorida 9,0 gram dengan osmolaritas 308 m/L setara dengan ion-ion Na^+ 154 meq/L dan Cl 154 neq/L (Manggalik, 2017).

Normal saline aman digunakan untuk kondisi apapun. Natrium klorida mempunyai Na dan Cl yang sama seperti plasma. Natrium klorida tersedia dalam beberapa konsentrasi, yang paling sering digunakan Natrium Klorida 0,9%. Normal saline atau larutan NaCl 0,9% memiliki tingkat tekanan osmotik yang tinggi sehingga dapat digunakan untuk mengencerkan, pengganti aquades saat pengecatan, untuk larutan infuse, untuk pengencer dan pengawetan suatu zat (Dharmawan, N.S 2002 dalam Amtiran, 2019). Natrium klorida tersedia dalam beragam konsentrasi, yang paling sering digunakan ialah konsentrasi 0,9% (Adhil, 2009 dalam Manggalik, 2017). Oleh karena itu NaCl 0,9% juga bisa digunakan sebagai larutan pengencer untuk penanganan serum lipemik.

5) Serum Blank

Sampel yang lipemik dapat memberikan peningkatan palsu saat dilakukan pengukuran, sehingga perlu dilakukan penanganan serum lipemik menggunakan metode serum blank. Tujuan metode serum blank adalah untuk menghindari efek warna yang ada pada sampel yang akan diukur seperti sampel bilirubin, sampel hemolisis, dan sampel lipemik. Serum blank adalah metode yang mudah dan rutin untuk menghilangkan

gangguan kekruhan (Soleimani dkk, 2020). Menurut Anderson dkk (2005) dalam penelitiannya mendukung metode serum blank dalam meminimalkan gangguan lipemik. Karena metode serum blank tidak ada penambahan bahan kimia seperti dalam agen pembersih lipid (Rajput dkk, 2019). Penelitian lain juga dilakukan oleh Klein dan James (1978) yang menyatakan bahwa jika serum yang akan diukur keruh, maka dapat menggunakan serum blank dengan mencampurkan serum dengan larutan blanko reagen kemudian kekeruhan dapat diukur untuk mendapatkan faktor koreksi.

2. Trigliserida

Trigliserida merupakan salah satu jenis lemak yang diangkut dalam darah dan disimpan pada jaringan lemak tubuh. Trigliserida merupakan asam lemak yang ditemukan dengan aliran darah dengan kadar normal biasanya tidak melebihi 150 mg/dL. Pada keadaan tertentu seperti diabetes melitus, hiperlipidemia, kegemukan dan penyakit bawaan lain, kadar trigliserida yang meningkat dapat lebih dari 200 mg/dL yang disebut Hipertrigliseridemia. Hipertrigliseridemia ini dapat mencapai 500 mg/dL, 1000 mg/dL, bahkan kadang-kadang mencapai 2000 mg/dL (Firman, 2009).

Disebutkan dalam penelitian Nikolac (2013) Serum lipemik dapat dideteksi secara visual apabila konsentrasi trigliserida pada serum

melebihi 300 mg/dl atau 3,4 mmol/L. Pada sampel darah, deteksi secara visual sangat sulit dilakukan dan dapat dilakukan apabila konsentrasi trigliserida melebihi 1000 mg/dl atau 11,3 mmol/L. Pengukuran konsentrasi trigliserida dilakukan di sebagian laboratorium sebagai penilaian secara kasar terhadap derajat lipemia. Tingkat lipemik berdasar trigliserida dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 1. Tingkat Lipemik Berdasar Kadar Trigliserida

Trigliserida	Kadar Trigliserida	Tingkat Lipemik
Ringan	300-499 mg/dL	Rendah
Sedang	500-799 mg/dL	Sedang
Berat	800-1800 mg/dL	Berat

Sumber : Nikolac, 2013

3. Ureum

a. Pengertian

Ureum merupakan produk akhir dari metabolisme asam amino dalam tubuh (Loho., dkk, 2016). Konsentrasi ureum umumnya dinyatakan sebagai kandungan nitrogen molekul, yaitu *blood urea nitrogen* (BUN). Namun di beberapa negara, konsentrasi ureum dinyatakan sebagai berat urea total. Pada orang sehat yang makanannya banyak mengandung protein, kadar ureum biasanya berada di atas rentang nilai normal. Kadar ureum rendah biasanya tidak dianggap abnormal karena menggambarkan rendahnya protein dalam makanan yang dikonsumsi atau ekspansi volume plasma (Wulandari, 2012).

b. Metabolisme

Ureum merupakan produk akhir dari metabolisme asam amino dalam tubuh. Dalam katabolisme protein di pecah menjadi asam amino dan deaminasi ammonia. Ammonia dalam proses ini di disintesis menjadi urea melalui siklus urea. Siklus urea (siklus *ornithine*) adalah reaksi pengubahan ammonia (NH_3) menjadi urea ($\text{CO}(\text{NH}_2)_2$). Reaksi kimia ini sebagian besar terjadi di ginjal. Organ Hati menjadi pusat pengubahan ammonia menjadi urea terkait fungsi hati sebagai tempat menetralkan racun. Urea bersifat racun sehingga dapat membahayakan tubuh apabila menumpuk didalam tubuh (Loho., Rambert., dan Wowor, 2016). Kemudian secara normal ureum akan dikeluarkan dari dalam pembuluh darah melalui penyaringan ginjal sehingga peningkatan kadar ureum dapat menunjukkan terjadinya kegagalan fungsi ginjal (Aritonang dkk, 2021).

c. Kestabilan sampel untuk pemeriksaan ureum

Sampel yang digunakan untuk pemeriksaan ureum dapat berupa serum maupun plasma. Namun yang sering digunakan adalah serum. Metode penyimpanan sampel yang tepat adalah prosedur yang tidak akan mempengaruhi stabilitas parameter yang ditentukan secara signifikan. Menurut Peraturan Menteri Kesehatan (2015) stabilitas serum untuk pemeriksaan ureum yakni pada suhu kamar dapat bertahan selama 24 jam, jika pada suhu 4-

8°C dapat bertahan selama 72 jam, pada suhu 20-25°C dapat bertahan selama 72 jam, dan pada penyimpanan suhu -20°C dapat bertahan selama 1 tahun.

d. Metode penetapan kadar

Metode yang digunakan untuk mengukur kadar ureum dalam darah sangat beragam, namun yang paling sering digunakan adalah metode enzimatik. Prinsip dari metode pemeriksaan yakni Enzim urease menghidrolisis ureum dalam sampel, kemudian dihasilkan ion ammonium yang kemudian diukur. Selanjutnya ammonium digunakan oleh enzim *glutamate dehydrogenase* (GLDH) untuk menurunkan dan mengoksidasi *nicotinamide-adenine dinucleotide* (NADH). NADH diukur dengan spektrofotometer menggunakan panjang gelombang 340 nm (Verdiansah, 2016). Nilai Rujukan untuk pemeriksaan kadar ureum yaitu :

Tabel 2. Nilai Rujukan

Spesimen	Nilai Rujukan
Plasma atau Serum	6-20 mg/dl
Urin 24 jam	12-20 g/hari

Sumber : Verdiansah, 2016

4. Akurasi Pemeriksaan

Pengujian akurasi adalah pengujian yang dilakukan untuk mengetahui apakah metode analisis yang digunakan mampu menghasilkan nilai perolehan kembali (*recovery*) yang baik. Nilai perolehan kembali yang didapatkan akan menunjukkan derajat

kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya atau standar yang telah ditetapkan (Ravisankar et al, 2015; ICH, 2005).

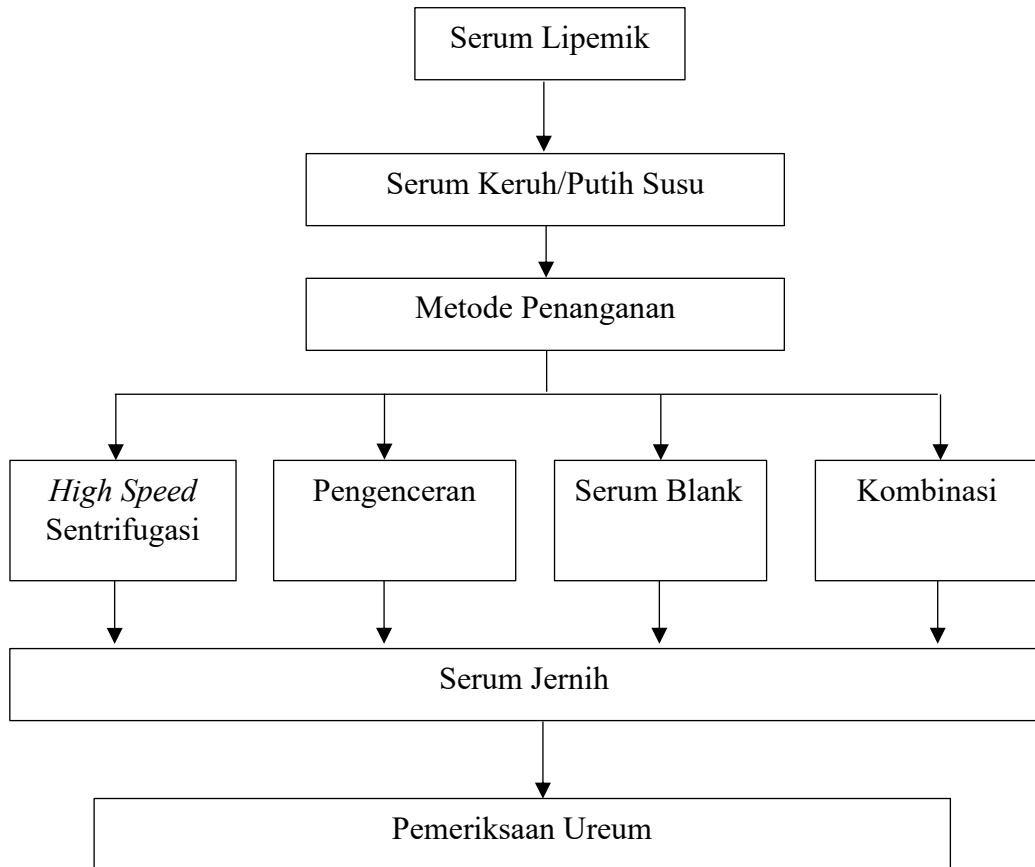
Terdapat tiga metode yang dapat dilakukan dalam penentuan akurasi, diantaranya adalah dengan metode perbandingan, metode simulasi, dan metode penambahan baku (Ravisankar et al, 2015 dalam Ramadhan, Saqila. A., dan Ida Musfiroh). Metode perbandingan dilakukan dengan mengukur kadar analit dalam sampel dan kemudian membandingkan hasil perolehannya dengan standar pembanding yang telah diketahui kadarnya secara pasti. Pembanding yang digunakan haruslah memiliki karakteristik yang sama dengan sampel (Araujo, 2009 dalam Ramadhan, Saqila. A., dan Ida Musfiroh). Metode simulasi disebut juga dengan metode *spiked placebo recovery*. Metode ini dilakukan dengan mengukur kadar analit dalam larutan *placebo* yang sebelumnya telah ditambahkan larutan standar dengan konsentrasi tertentu, kemudian hasil analisis tersebut dibandingkan dengan konsentrasi standar sebenarnya (Umapathi et al, 2012 dalam Ramadhan, Saqila. A., dan Ida Musfiroh). Metode yang terakhir adalah metode penambahan baku atau *standard addition method*. Metode ini dilakukan dengan menambahkan sejumlah larutan standar ke dalam sampel, lalu selisih dari konsentrasi sampel sesudah dan sebelum ditambahkan larutan standar dibandingkan dengan kadar sebenarnya (Araujo, 2009 dalam Ramadhan, Saqila. A., dan Ida Musfiroh).

Dalam penentuan akurasi metode analisis, pengukuran sampel dilakukan dalam minimal tiga konsentrasi yang berbeda. Perbedaan antara hasil pengukuran dengan nilai target menggunakan bahan kontrol (standar baku) disebut sebagai bias (%B), semakin kecil nilai bias maka semakin akurat pemeriksaan tersebut (Sukorini, 2010). Pergeseran hasil pemeriksaan dari hasil sebenarnya menunjukkan kesalahan sistematik (Depkes, 2008).

Menurut James Westgard (2019) spesifikasi nilai ketetapan yang digunakan untuk ketidakakuratan pada pemeriksaan kimia klinik ureum yaitu 5,57% tidak melebihi batas maksimum yaitu $\pm 9\%$. Sehingga untuk rentang bias yang dapat diterima adalah -3,43% sampai 14,57% yang berarti akurasi dari suatu metode pemeriksaan ureum yaitu pada rentang 91% sampai 109%. Rumus untuk menentukan %Akurasi adalah :

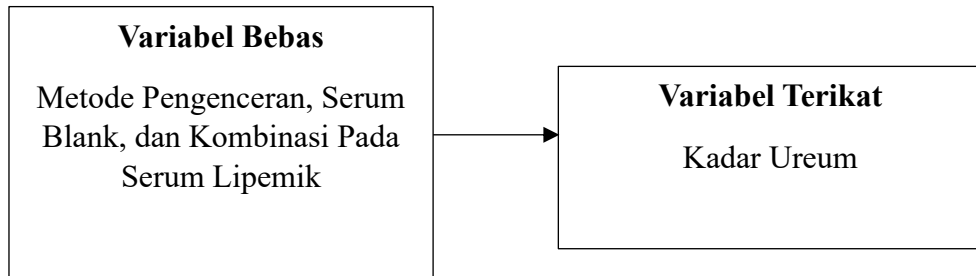
$$\% \text{Akurasi (Recovery)} = \frac{\text{kadar metode alternatif}}{\text{kadar tanpa perlakuan}} \times 100\%$$

B. Kerangka Teori



Gambar 1. Kerangka Teori

C. Hubungan Antar Variabel



Gambar 2. Hubungan Antar Variabel

D. Pertanyaan Penelitian

Bagaimana prediksi akurasi metode pengolahan serum lipemik terhadap pemeriksaan kadar ureum?