

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Pemantapan Mutu Internal

Pemantapan mutu internal adalah kegiatan pencegahan dan pengawasan yang dilaksanakan oleh setiap laboratorium klinik secara terus-menerus, menggunakan serum kontrol agar diperoleh hasil pemeriksaan yang tepat. Kegiatan ini mencakup tiga tahapan proses, yaitu pra-analitik, analitik dan pasca analitik. Beberapa kegiatan pemantapan mutu internal antara lain : persiapan penderita, pengambilan dan penanganan spesimen, kalibrasi peralatan, uji kualitas air, uji kualitas reagen, uji ketelitian dan ketepatan, pencatatan dan pelaporan hasil (Siregar, dkk., 2018).

a. Tahap Pra Analitik

Tahap pra analitik meliputi : Persiapan pasien, Faktor pada pasien yang dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan, Persiapan pengumpulan spesimen, peralatan, wadah, pengawet, pengambilan spesimen, waktu, lokasi, pemberian identitas, pengolahan, penyimpanna dan pengiriman spesimen.

b. Tahap Analitik

Pemantapan mutu tahap analitik adalah usaha untuk menghasilkan data analisis yang akurat, reliabel dan valid. Dilakukan usaha supaya tidak terjadi kesalahan program analisis, usaha pengendalian dan meminimalisir faktor penyebab kesalahan, usaha pengendalian dan

meminimalisir faktor intervensi pada saat dilakukan analisis sampel. Cek ulang tahap pra analitik, termasuk melakukan dan menjaga hasil kalibrasi instrumen, menjaga kondisi reagen kalibrasi, metode pemeriksaan. Cek ulang identitas pasien, permintaan pemeriksaan parameter, kelayakan sampel. Bila sudah benar dan sudah layak dilakukan operasional analisis sampel.

c. Tahap Pasca Analitik

Pemantapan mutu tahap pasca analitik adalah usaha pengendalian dan usaha meminimalisir faktor kesalahan pada data keluaran hasil pemeriksaa. Dilakukan cek ulang Antara hasil analisis dengan tahap pra analitik dan tahap analitik. Pertama pada kelengkapan identitas pasien, nomor batch/log, parameter pemeriksaan apakah sudah sama dengan yang tertulis pada formulir pemeriksaan. Pada hasil cek kembali, evaluasi, interpretasi serta verifikasi hasil analisis. Perluah dilakukan pengulangan, penulisan catatan/komentar? Apabila sudah layak dan dapat dipertanggung jawabkan, kedua langkah tersebut sudah dilakukan dan dinyatakan benar, barulah dilakukan validasi hasil analisis, dan hasil dikeluarkan, dikirim ke konsumen.

2. Serum

a. Pengertian Serum

Serum merupakan bagian cair darah yang tidak terdapat faktor-faktor pembekuan darah dan sel-sel darah. Protein yang tidak terkait dengan hemostasis dan protein-protein koagulasi lainnya akan tetap

berada pada serum yang kadarnya sama dengan kadar pada plasma. Dalam keadaan normal, apabila darah diambil dengan spuit, kemudian dimasukkan ke dalam tabung, maka bekuan darah terbentuk berupa benda setengah padat yang berasal dari sel-sel darah. Cairan yang berada di sekitar benda setengah padat tersebut disebut serum. Apabila proses koagulasi berlangsung abnormal, serum akan mengandung sisa fibrinogen dan produk pemecahan fibrinogen atau protrombin yang belum dikonvensi (Sacher dan McPerson, 2012). Serum abnormal terdapat fibrinogen, protombin, faktor VIII, V dan XIII sedangkan serum normal terdapat faktor XII, XI, IX, X, dan VII (Kosasih, 2008).

Penggunaan serum sebagai pengganti plasma dapat mencegah pencemaran spesimen oleh antikoagulan yang dapat mempengaruhi tes. Serum telah menjadi sampel yang hampir secara universal digunakan untuk pemeriksaan kimiawi (Sacher, dkk., 2004).

Tabel 1. Perbedaan Serum dan Plasma

Ciri	Plasma	Serum
Warna	Agak kuning dan jernih	Agak kuning dan jernih
Kekentalan	>Kental dari air	>kental dari air
Antikoagulan	Perlu	Tidak perlu
Fibrinogen	Masih ada	Tidak ada
Serat fibrin	Tidak ada	Ada gumpalan
Pemisahan sampel	Pemusingan	Penggumpalan spontan
Gel terkumpul dalam	Endapan	Gumpalan
Suspensi kembali sel	Dapat	Tidak

Sumber : Sadikin, 2002

b. Jenis-jenis serum

1) Serum lipemik

Serum lipemik adalah serum yang berwarna putih keruh yang disebabkan oleh adanya partikel besar lipoprotein seperti trigliserida (Ghaedi, dkk., 2016).

2) Serum ikterik

Serum ikterik adalah serum yang berwarna kuning coklat yang disebabkan karena peningkatan konsentrasi bilirubin (Ghaedi, dkk., 2016).

3) Serum hemolisis

Serum hemolisis adalah serum yang berwarna kemerahan yang disebabkan karena lepasnya hemoglobin dari eritrosit yang rusak (Ghaedi, dkk., 2016).

3. Penyimpanan Serum untuk Pemeriksaan Kadar Kolesterol Total

Menurut Pedoman Pemeriksaan Kimia Klinik nomor 1792/MENKES/SK/XII/2010 ada beberapa faktor yang dapat mempengaruhi stabilitas sampel seperti kontaminan oleh bakteri dan bahan kimia, terkena paparan sinar matahari, pengaruh suhu dan metabolisme dari sel-sel hidup seperti sel darah. Sehingga terdapat beberapa cara penyimpanan untuk sampel darah yaitu disimpan dalam bentuk serum di dalam lemari es dengan suhu 2-8°C, dengan begitu stabilitas serum akan bertahan selama 5-7 hari, stabilitas serum yang disimpan pada suhu 20-25°C

akan bertahan selama 2 hari dan pada suhu -20°C akan bertahan selama 3 bulan.

4. Karakteristik Kolesterol Total

Kolesterol ($\text{C}_{27}\text{H}_{45}\text{OH}$) adalah alkohol steroid, semacam lemak yang berasal dari lemak hewani, minyak, empedu, susu, kuning telur, yang sebagian besar disintesis oleh hati dan sebagian kecil diserap dari diet. Keberadaan dalam pembuluh darah pada kadar tinggi akan cenderung membuat endapan, kristal atau lempengan yang akan mempersempit dan menyumbat pembuluh darah (Sutedjo, 2007).

Kolesterol merupakan derivat lipid yang tergolong steroid atau sterol yang selalu berikatan dengan asam lemak lain dalam bentuk ester. Kolesterol dalam tubuh berasal dari makanan (eksogen) dan disintesis oleh tubuh (endogen). Kolesterol eksogen hanya terdapat pada hewan seperti otak, usus, dan ginjal sedangkan kolesterol endogen disintesis dari asetil KoA (intermediet glikolisis). Kolesterol mempunyai fungsi utama dalam tubuh yaitu, pembentukan membran sel, sintesis hormon - hormon steroid dan sintesis asam empedu (Zulbadar Panil, 2008).

Kolesterol merupakan senyawa lemak kompleks yang dihasilkan oleh tubuh yang mempunyai fungsi antara lain membuat hormon seks, adrenal, membentuk dinding sel dan lain-lain. Karena begitu pentingnya kolesterol sehingga tubuh membuatnya sendiri di dalam hati. Kolesterol dieksresikan keluar dari dalam tubuh melalui getah lambung yaitu dengan cara mempertahankan kolesterol dalam bentuk larutan lewat penggabungan

dengan garam - garam empedu. Apabila kolesterol mengalami pengendapan dari larutan tersebut, maka endapan ini akan berbentuk padat yang dikenal sebagai batu empedu (Soeharto I, 2001).

Pemeriksaan kadar kolesterol adalah uji untuk mengetahui adanya kelainan metabolisme lipid yang ditandai dengan peningkatan maupun penurunan fraksi lipid. Sampel pemeriksaan yang umumnya digunakan dalam pemeriksaan kolesterol adalah serum dari darah vena. Serum merupakan cairan darah berwarna kuning jernih yang bebas dari sel dan tanpa fibrinogen. Pembuatan serum merupakan proses pra analitik dalam pemeriksaan kadar kolesterol. (Tiwi, 2013). Jumlah kolesterol yang terlalu banyak akan menimbulkan masalah pada tubuh, dalam istilah medis dikenal dengan nama *hiperkolesterolemia* kondisi ini yang menggambarkan istilah penyakit kolesterol.

Prinsip pemeriksaan kolesterol yaitu kolesterol ester diurai menjadi kolesterol dan asam lemak menggunakan enzim kolesterol esterase. Kolesterol yang terbentuk kemudian diubah menjadi Cholesterol-3-one dan hidrogen peroksida oleh enzim kolesterol oksidase. Hidrogen peroksida yang terbentuk beserta fenol dan 4-aminoantipirin oleh peroksidase diubah menjadi zat yang berwarna merah. Intensitas warna yang terbentuk sebanding dengan konsentrasi kolesterol total dan dibaca pada panjang gelombang λ 500 nm (Permenkes, 2010).

Kolesterol total adalah jumlah kolesterol yang dibawa dalam semua partikel pembawa kolesterol dalam darah, termasuk *High Density*

Lipoprotein (HDL), Low Density Lipoprotein (LDL), dan Very Low Density Lipoprotein (VLDL)

5. Metabolisme Kolesterol

Proses metabolisme kolesterol, hampir seluruh kolesterol dan fosfolipid akan diabsorpsi di saluran gastrointestinal dan masuk ke dalam kilomikron yang dibentuk di dalam mukosa usus. Kilomikron sebagian besar dibentuk oleh trigliserida dengan sebagian lain dibentuk oleh fosfolipid (9%), kolesterol (3%), dan apoprotein B (1%). Setelah kilomikron mengeluarkan trigliseridanya di jaringan adiposa, kilomikron sisanya akan menyerahkan kolesterol ke hati (Guyton dan Hall, 2012).

Delapan puluh persen kolesterol dihasilkan dari dalam tubuh (pembentukan oleh hati) dan 20 persen sisanya dari luar tubuh (makanan yang dikonsumsi). Kolesterol adalah produk khas hasil metabolisme hewan dan produk olahannya seperti kuning telur, daging, hati, otak, susu, keju, mentega, dan lainlain. Kolesterol yang berasal dari makanan jarang dalam bentuk kolesterol bebas, biasanya berbentuk kolesterol dengan asam lemak atau sering disebut ester kolesterol. Kolesterol hanya terdapat pada sel-sel hewan dan manusia, tidak terdapat pada sel tumbuh-tumbuhan.

Metabolisme kolesterol dapat berupa sistem endogen yang terdiri dari very-low-density lipoprotein (VLDL), high-density lipoprotein (HDL), low-density lipoprotein (LDL), dan intermediatedensity lipoprotein (IDL), yang mengangkut trigliserida dan kolesterol ke seluruh tubuh. VLDL terbentuk di hati dan mengangkut trigliserida yang terbentuk dari asam

lemak dan karbohidrat di hati ke jaringan ekstraseluler. VLDL akan berubah menjadi menjadi IDL ketika sebagian besar trigliserida telah dikeluarkan oleh lipoprotein lipase. IDL akan melepaskan fosfolipid dan bersama dengan kerja enzim plasma lesitin kolesterol asiltransferase akan mengambil ester kolesterol yang terbentuk dari kolesterol di HDL. Kemudian sebagian dari IDL diserap oleh hati. IDL sisanya kemudian melepaskan lebih banyak trigliserida dan protein dan menjadi LDL. LDL akan diambil melalui endositosis dengan perantara reseptor yang mengenali komponen APO100 di hati dan di jaringan ekstra hati (Guyton dan Hall, 2012)

Sintesis kolesterol terdiri atas beberapa tahap dan acetyl CoA merupakan sumber atom karbon, sintesis kolesterol dimulai dengan pembentukan mevalonat dari acetyl CoA. Dua molekul acetyl CoA berkondensasi membentuk acetoacetyl CoA yang dikatalisasi oleh enzim thiolase. Kemudian acetoacetyl CoA berkondensasi dengan molekul acetyl CoA membentuk β hydroxyl β methyl glutaryl-CoA (HMG-CoA) yang kemudian dikonversi menjadi mevalonat yang dikatalisasi oleh enzim HMG-CoA reductase. HMG CoA merupakan perantara penting dalam biosintesis kolesterol. Dari mevalonat dibentuk isoprenoid dengan cara decarboxylasi (membuang CO₂). Kemudian enam unit isoprenoid berkondensasi membentuk skualan dan dari skualan dibentuk induk steroid lanosterol dan setelah beberapa langkah termasuk pembuangan 3 gugus methyl dibentuk kolesterol (Murray, dkk., 2000).

6. Macam-macam Kolesterol

- a. Kilomikron : Lipoprotein yang memiliki berat molekul terbesar dan mengandung Apo-B48. Kandungannya sebagian besar terdiri dari trigliserida 80-95% untuk dibawa ke jaringan lemak dan jaringan otot rangka. Kilomikron juga mengandung kolesterol 2-7% untuk dibawa ke hati. Kemudian setelah 8-10 jam sejak makan terakhir, kilomikron tidak ditemukan lagi di dalam plasma.
- b. Kolesterol HDL (*High Density Lipoprotein*) adalah lipoprotein yang mengandung Apo-A1 dan Apo-AII, dengan kandungan trigliserida sebesar 5-10% dan kolesterol sebesar 15-25%. HDL sering dikenal dengan kolesterol baik dan menguntungkan (*good cholesterol*) bagi tubuh, karena HDL berfungsi mengangkut kolesterol dari pembuluh darah kembali ke hati untuk dibuang sehingga mencegah penebalan dinding pembuluh darah atau mencegah terjadinya proses aterosklerosis. Setelah disekresikan ke dalam darah, HDL mengalami perubahan akibat berinteraksi dengan kilomikron dan VLDL. Dengan kedua lipid ini, HDL saling bertukar protein dan lemak. HDL yang menyerap kolesterol dari permukaan sel dan dari lipoprotein lain dan mengubahnya menjadi ester kolesterol. Ester kolesterol ini akhirnya dikembalikan ke hati (Wardani, 2011)
- c. Kolesterol LDL (*Low Density Lipoprotein*) adalah lipoprotein yang merupakan kombinasi lemak dan protein yang membentuk lipid yang diangkut dalam darah. Lipoprotein pengangkut kolesterol terbanyak 40-

50% untuk disebarkan ke seluruh endotel jaringan perifer dan pembuluh nadi. Kolesterol LDL disebut jahat karena mengangkut hasil metabolisme kolesterol dari hati ke jaringan ekstrahepatika (testis, ovarium, kelenjar adrenal). Semakin tinggi kadar LDL semakin besar resiko untuk penyakit arteri koroner (Permenkes, 2010)

- d. Kolesterol VLDL (Very Low Density Lipoprotein) memiliki kandungan trigliserida sebesar 50-80% dan kandungan kolesterol sebesar 5-15%. Setelah dibentuk dihati, triasilgliserol kemudian dikemas bersama dengan kolesterol dari depot simpanan kolesterol, fosfolipid, dan apoB-100 menjadi VLDL yang kemudian disekresikan ke dalam darah

7. Nilai Kadar Kolesterol Total

Kadar kolesterol total dan HDL dapat menggambarkan kondisi umum kadar kolesterol pada tubuh. Kadar kolesterol total darah sebaiknya adalah < 200 mg/dL, bila ≥ 200 mg/dL berarti risiko untuk terjadinya penyakit jantung meningkat. Kadar kolesterol yang kurang dari 200 mg/dL masih bisa ditoleransi. Jumlah kadar kolesterol 200-239 mg/dL sudah masuk pada ambang batas tinggi. Jika jumlahnya mencapai 240 mg/dL atau lebih termasuk tingkat kolesterol tinggi. Data Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2007 menyebutkan bahwa kelompok usia 45-54 tahun beresiko tinggi terkena penyakit serangan jantung atau stroke.

Tabel 2. Nilai Normal Kadar Kolesterol

Kriteria	Dewasa	Bayi	Anak usia 2-19 tahun
Normal	< 200 mg/dL,	90-130 mg/dL	130-170 mg/dL
Resiko sedang	200-240 mg/dL		171-184 mg/dL
Resiko tinggi	> 240 mg/dL		> 185 mg/dL

8. Faktor yang Mempengaruhi Kadar Kolesterol

Peningkatan kadar kolesterol dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain pola makan yang tinggi kolesterol yang setiap hari dikonsumsi, asupan tinggi kolesterol, merokok dan kurangnya aktivitas olah raga (Iman, 2004).

a. Faktor genetik

Faktor genetik cukup mempengaruhi tingginya kadar kolesterol dalam darah dimana tubuh memproduksi kolesterol mencapai 80%. Seseorang yang memproduksi kolesterol dalam jumlah banyak akan mengalami hiperkolesterol. Salah satu faktor yang belum dapat dipastikan secara mutlak berhubungan dengan PJK (penyakit jantung koroner). Keturunan merupakan sepertiga dari seluruh faktor resiko yang menyebabkan perbedaan kadar kolesterol dan dua pertiganya disebabkan oleh faktor-faktor lain.

b. Faktor gaya hidup dan pola makan

Asupan kolesterol tidak boleh dikonsumsi secara berlebihan secara terus menerus karena akan mengakibatkan penimbunan lemak tubuh yang bisa mengganggu sensitivitas insulin dalam tubuh jika tidak diimbangi dengan aktivitas fisik dan olah raga yang teratur. Kadar

kolesterol darah juga perlu dijaga melalui pola hidup yang sehat dan mengatur pola makan yang baik maka akan terjadi peningkatan kadar kolesterol darah yang disebut hiperkolesterolemia.

c. Faktor usia

Usia yang semakin meningkat juga salah satu faktor penyebab kolesterol tinggi yang diakibatkan menurunnya daya kinerja organ tubuh. Berdasarkan jenis kelamin, pria sampai usai sekitar 50 tahun memiliki resiko 2-3 kali lebih besar dibandingkan dengan wanita untuk mengalami arteriosklerosis oleh kolesterol. Wanita sebelum menopause mempunyai kadar kolesterol rendah dibandingkan dengan pria pada usia yang sama.

d. Aktivitas fisik

Banyak orang yang mengetahui bahwa kurangnya aktivitas dapat menyebabkan dampak serius terhadap kesehatan. Kurangnya aktivitas fisik dapat meningkatkan kadar LDL dan menurunkan kadar HDL.

9. Fungsi Kolesterol

Kolesterol merupakan senyawa lemak kompleks yang dihasilkan oleh tubuh dengan bermacam-macam fungsi, antara lain untuk membuat hormon seks, hormon korteks adrenal, vitamin D, dan untuk membuat garam empedu yang membantu usus untuk menyerap lemak. Kolesterol bebas merupakan komponen integral dari membran sel dan berfungsi sebagai prekursor untuk hormon steroid seperti estrogen, testosteron, aldosteron, dan asam empedu. Kolesterol diperlukan untuk membangun dan mempertahankan membran sel. Fungsi kolesterol dalam membran sel yakni

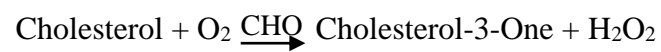
memodulasi fluiditas membran selama rentang suhu fisiologis. Gugus hidroksil pada kolesterol berinteraksi dengan gugus kutub membran fosfolipid dan spingolipid, sedangkan rantai steroid dan hidrokarbon tertanam dalam membran. Interaksi yang terjadi melalui rantai asam lemak fosfolipid, kolesterol akan meningkatkan bentuk membran.

10. Metode pemeriksaan kolesterol

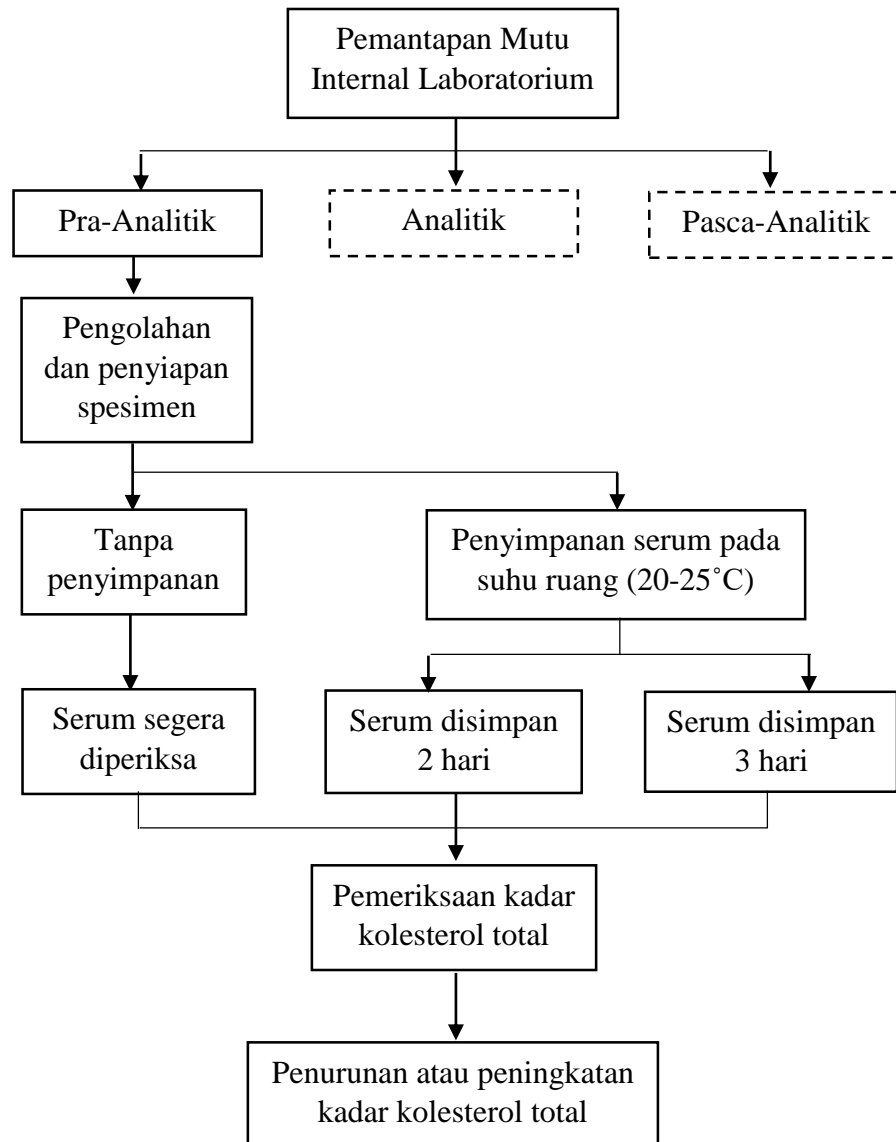
- a. Metode Lieberman – Burchard : Prinsip metode Lieberman – Burchard adalah kolesterol dengan asetat anhidrat dan asam sulfat pekat pada temperatur kamar membentuk senyawa yang berwarna coklat-hijau tua dengan cara ini ekstraksi dan deproteinasi dapat dihindari. Sumber kesalahan dapat terjadi karena reaksinya sangat sensitif terhadap kelembaban, penggunaan pipet dan alat gelas yang bersih dan kering. Serum yang mengandung bilirubin akan memberikan nilai yang lebih besar, 1 mg/100 ml bilirubin menghasilkan kenaikan nilai kolesterol sebesar 5-6 mg/100 ml serum. Jangan menggunakan serum yang sudah sangat terhemolisis (Zulbadar Panil, 2008)
- b. Metode modifikasi dari reaksi Zank dan modifikasi dari Klengseryl : Prinsip metode ini Alkohol yang digunakan untuk mengendapkan protein dan membebaskan alkohol dari esternya. Reaksi warna yang timbul dengan mereaksikan kolesterol dengan ferichlorida warna yang timbul ditentukan secara fotometri
- c. Metode CHOD-PAP (*Cholesterol Oxidase Diaminase Peroksidase Aminoantipyrin*) prinsip kolesterol ditentukan setelah hidrolisa enzimatik

dan oksidasi. Indikator *quinoneimine* terbentuk dari *hydrogen peroxidase* dan 4-aminotipyrin dengan adanya *phenol* dan *peroxidase*. Metode pemeriksaan pada penelitian ini menggunakan CHOD-PAP dengan (DiaSys, 2016).

Prinsip reaksi pemeriksaan kadar kolesterol metode CHOD-PAP yaitu sebagai berikut :



B. Kerangka Teori



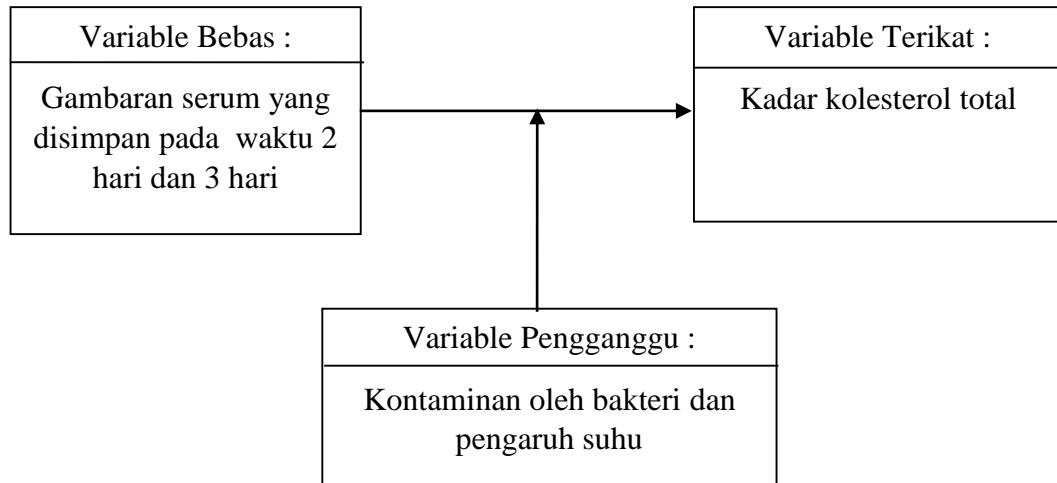
Keterangan :

Yang diteliti : _____

Yang tidak diteliti : - - - - -

Gambar 1. Kerangka Teori

C. Hubungan Antar Variabel



Gambar 2. Hubungan Antar Variabel

D. Hipotesis Penelitian

Ada perbedaan kadar kolesterol total pada serum segera diperiksa dan disimpan selama 2 hari, 3 hari pada suhu ruang (20-25°C).