

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Laboratorium Klinik

a. Pengertian Laboratorium Klinik

Laboratorium klinik adalah laboratorium kesehatan yang melaksanakan pelayanan pemeriksaan spesimen klinik untuk mendapatkan informasi terkait kesehatan perorangan terutama untuk menunjang upaya diagnosis penyakit, penyembuhan penyakit dan pemulihan kesehatan (Depkes, 2010b).

b. Tahap Pemeriksaan Laboratorium Klinik

1) Tahap pra analitik

Tahap pra analitik merupakan tahap persiapan awal, dimana tahap ini sangat menentukan kualitas sampel yang akan dihasilkan dan dapat mempengaruhi proses kerja berikutnya.

Menurut Permenkes (2013) tahap praanalitik meliputi :

a) Formulir permintaan pemeriksaan

Formulir permintaan pemeriksaan berisi identitas pasien secara jelas, mulai dari identitas pengirim (dokter, laboratorium, dll), nomor lab, tanggal pemeriksaan, dan permintaan pemeriksaan.

b) Persiapan pasien

Pasien harus dipersiapkan dengan baik sesuai dengan persyaratan pengambilan spesimen untuk setiap pemeriksaan laboratorium.

c) Pengambilan dan penerimaan spesimen

Pengambilan spesimen harus dilakukan secara benar dengan memperhatikan waktu, lokasi, volume, cara, peralatan, wadah, spesimen, pengawet atau antikoagulan yang sesuai dengan persyaratan pengambilan spesimen.

d) Penanganan spesimen

Pengolahan spesimen dilakukan sesuai persyaratan dengan memperhatikan kondisi penyimpanan yang tepat, penanganan spesimen untuk pemeriksaan khusus dan kondisi pengiriman spesimen yang sesuai.

e) Persiapan sampel untuk analisa

Sampel yang akan dianalisa harus memenuhi persyaratan, volume memenuhi dan identifikasi sampel harus jelas.

2) Tahap analitik

Tahap analitik merupakan tahap pengerjaan pengujian sampel sehingga diperoleh hasil pemeriksaan. Tahap analitik meliputi:

a) Persiapan reagen

- b) Pipetasi reagen atau sampel
 - c) Inkubasi
 - d) Pemeriksaan
 - e) Pembacaan hasil
- 3) Tahap pasca analitik

Tahap pasca analitik adalah usaha pengendalian faktor kesalahan pada data keluaran hasil pemeriksaan. Tahap pasca analitik meliputi:

- a) Cara pencatatan hasil
- b) Cara menegakkan diagnosis dari hasil pemeriksaan
- c) Cara pelaporan
- d) Keselamatan kerja

2. Darah

a. Pengertian Darah

Darah merupakan cairan tubuh yang berwarna merah. Warna merah ini merupakan protein pernafasan yang mengandung besi, dan merupakan tempat terikatnya molekul-molekul oksigen yang disebabkan oleh hemoglobin (Hiremath, Bannigidad and Geeta, 2010). Darah adalah jaringan hidup yang bersirkulasi mengelilingi tubuh untuk membawa nutrisi, oksigen, antibodi, panas, elektrolit dan vitamin tubuh dengan perantara jaringan arteri, vena, dan kapilaris (Watson, 2002). Dua komponen penting dalam jaringan darah adalah plasma dan sel darah. Darah

mengandung 55% plasma sedangkan 45% sisanya terdiri dari sel darah (Pearce, 2006).

b. Pembekuan Darah

Dalam keadaan normal darah bila diambil dengan *sput* yang kering lalu dimasukkan kedalam tabung, maka akan terbentuk bekuan darah yang berupa benda setengah padat yang berasal dari sel-sel darah (WHO, 2003). Pembekuan darah atau koagulasi merupakan proses kimiawi saat protein-protein plasma berinteraksi untuk mengubah fibrinogen menjadi fibrin (Sacher and McPherson, 2004). Rangkaian reaksi kimiawi kompleks yang melibatkan 12 faktor pembekuan terjadi dalam darah. Hasil akhirnya adalah aktivator protombin. Aktivator protombin mengkatalisis perubahan protrombin menjadi trombin, selanjutnya thrombin akan bekerja sebagai enzim untuk mengubah fibrinogen menjadi fibrin untuk membentuk bekuan (Pramudianti, 2011).

3. Serum

a. Pengertian Serum

Serum adalah cairan darah berwarna kuning jernih yang bebas dari sel dan tanpa fibrinogen (Adi, Jangga and Isma, 2019). Fibrinogen diubah menjadi fibrin dengan menghabiskan faktor V, VIII dan protombin selama proses pembekuan. Faktor pembekuan lain dan protein yang tidak ada hubungannya dengan hemostasis

tetap ada dalam serum dengan kadar yang sama seperti dalam plasma. Jika serum masih mengandung sisa fibrinogen, produk perombakan fibrinogen atau protombin yang tidak diubah kemungkinan proses pembekuan tidak normal (Subiyono, Martsiningsih and Gabrela, 2016).

Pemakaian serum sebagai pengganti plasma dalam berbagai pemeriksaan biokimia bertujuan untuk mencegah pencemaran spesimen oleh antikoagulan yang mungkin mempengaruhi tes. Serum telah menjadi sampel yang hampir secara universal digunakan untuk pemeriksaan kimiawi (Sacher and McPherson, 2004).

b. Pembuatan serum

Serum dibuat dengan cara memisahkan darah yang tidak ditambahkan antikoagulan menggunakan sentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 5 sampai 15 menit, dimana sebelumnya darah dibiarkan membeku selama 20 sampai 30 menit (Depkes, 2008). Sel-sel darah akan mengendap di dasar tabung, setelah diputar pada sentrifus. Endapan eritrosit yang terbentuk setelah sentrifugasi mempresentasikan perbandingan sel darah merah terhadap volume darah seluruhnya (Jiwintarum, Srigede and Asyhaer, 2020).

Sel darah dan faktor pembekuan harus dipisahkan dari sampel darah dengan pendiaman waktu yang cukup sampai

terbentuknya pembekuan. Darah yang didiamkan kurang dari 30 menit akan cenderung mempertahankan unsur seluler dan komponen yang akan mengganggu analisa, sedangkan darah yang didiamkan lebih dari 60 menit cenderung mengalami lisis dan melepaskan komponen seluler yang biasanya tidak ditemukan di dalam serum (Tuck *et al.*, 2009).

4. Sentrifugasi

Sentrifugasi merupakan salah satu metode dasar yang digunakan untuk memisahkan sel atau organel sub-seluler dan molekuler (Sunardi, 2004). Prinsip yang perlu diperhatikan untuk menghindari kerusakan alat dan spesimen yaitu tabung spesimen harus ditempatkan dengan posisi berlawanan didalam sentrifus untuk mencapai keseimbangan yang tepat (Kiswari, 2014). Tahap sentrifugasi hanya dilakukan sekali pada setiap spesimen yang diperoleh sebab sentrifugasi yang berulang dapat menyebabkan hemolisis dan terjadinya perubahan analit. Hal tersebut memicu timbulnya pengaruh terhadap hasil pemeriksaan (Riswanto, 2013).

5. Protein Total

Protein darah adalah protein yang ada di dalam darah tetapi tidak berhubungan secara fisik dengan sel darah, seperti albumin serum, globulin dan faktor koagulasi. Protein total merupakan plasma protein yang disintesa di sel parenkim, hati, sel plasma, kelenjar limfe, limpa dan sumsum tulang (Depkes, 2010b). Protein merupakan

golongan biomakromolekul, yakni molekul besar yang mempunyai fungsi biologis. Pada umumnya, biomakromolekul tersusun atas satuan-satuan yang jenisnya 2 macam atau lebih, tetapi masih tergolong dalam kelompok senyawa yang sama. Molekul protein tersusun dari senyawa yang lebih kecil, yakni asam amino. Ada 20 macam asam amino yang berbeda untuk menyusun protein apapun dan dari sumber manapun (Sadikin, 2001). Protein memiliki peranan spesifik untuk tubuh, antara lain sebagai pengatur metabolisme (hormon), biokatalisator (enzim), pertahanan tubuh (antibodi), pembawa sifat turunan, pengangkut oksigen dalam tubuh, dan sebagai sumber energi apabila karbohidrat dan lemak tidak mencukupi (Sumardjo, 2008).

Protein terdapat di dalam inti sel maupun di sitoplasma. Protein juga terdapat di dalam cairan darah pada makhluk bersel banyak. Protein yang larut dalam darah terbagi menjadi 2 kelompok besar, yakni albumin dan globulin. Pembagian ini didasarkan pada konsentrasi larutan garam pekat yang dibutuhkan untuk mengendapkannya. Albumin tidak dapat diendapkan dengan larutan amonium sulfat 50% jenuh, sedangkan globulin dapat diendapkan dengan larutan ammonium sulfat setengah jenuh (Sadikin, 2001). Berikut adalah penjelasan singkat mengenai albumin dan globulin :

a. Albumin

Albumin menyusun sekitar 60% dari total protein plasma dan merupakan protein utama dalam plasma manusia. Sekitar 40%

albumin terdapat dalam plasma, sedangkan 60% lainnya terdapat dalam ruang ekstraseluler. Sekitar 12 gram albumin dihasilkan hati setiap harinya dan merupakan 25% dari total sintesis protein hepatic dan separuh dari seluruh protein yang diekskresikan organ tersebut. Sintesa albumin dipengaruhi beberapa faktor, diantaranya nutrisi terutama asam amino, hormon dan adanya suatu penyakit. Penderita penyakit hati kronis, ginjal, dan kekurangan gizi seperti kwashiorkor dapat mengakibatkan gangguan sintesa albumin. Sintesa albumin juga dapat dihambat oleh alkohol (Murray, Granner and Rodwell, 2009).

b. Globulin

Globulin merupakan kelompok protein yang larut dalam larutan garam encer tetapi tidak larut dalam air. Globulin dalam darah terdiri dari α -globulin, β -globulin dan γ -globulin. Globulin memiliki fungsi mengangkut lemak, vitamin, hormon dan mineral. Globulin juga berguna dalam pembentukan fibrinogen, muscudin, crystallin dan antibodi (Djojodibroto, 2003). Globulin memiliki rentang nilai normal sebesar 2,8 – 3,2 g/dL. Kadar globulin yang tinggi mengindikasikan penyakit ginjal atau hati, penyakit autoimun, infeksi, kanker, atau inflamasi kronis. Kadar globulin yang rendah mengindikasikan disfungsi sistem imun, kurang gizi, penyakit hati atau ginjal, atau gangguan sirkulasi darah (Oz and Michael, 2009)

6. Pemeriksaan Kadar Protein Total

a. Kepentingan Klinis Pemeriksaan Protein Total

Penentuan konsentrasi protein total serum dan fraksi utamanya (albumin dan globulin) dapat digunakan sebagai alat diagnostik yang penting dalam biokimia klinis. Analisis metabolit darah apabila dihubungkan dengan monitoring kesehatan dan nutrisi dapat mengungkap adanya gangguan yang bersifat subklinis dan dapat membantu menemukan kausanya. Pemeriksaan protein total diperlukan untuk pemantauan resiko penyakit hati dan ginjal. Pemeriksaan protein total serum juga sering digunakan untuk menilai adanya hipoproteinemia atau hiperproteinemia dalam berbagai kasus (Suryanto, 2001). Nilai normal untuk kadar protein total serum adalah sebagai berikut:

Tabel 1. Nilai Normal Protein Total

Usia	Perempuan (g/dL)	Laki-laki (g/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	

Sumber : (DiaSys, 2020)

b. Metode pemeriksaan

1) Metode *Lowry*

Metode *Lowry* merupakan pengembangan dari metode Biuret. Prinsip metode ini adalah kompleks Cu(II) akan tereduksi menjadi Cu(I) dalam suasana alkalis. Ion Cu⁺

kemudian akan mereduksi reagen Folin-Ciocalteu dan kompleks phospholibdat-phosphotungstat, menghasilkan hetero-polymolybdenum blue akibat reaksi oksidasi gugus aromatik terkatalis oleh Cu, yang memberikan warna biru intensif yang dapat dideteksi secara kolorimetri (Sudarmanto,2008).

2) Metode *Bradford*

Metode *Bradford* adalah metode pemeriksaan kadar protein total dengan melibatkan pewarna Coomassie Brilliant Blue (CBB). Pewarna ini akan berikatan dengan protein pada sampel larutan dalam suasana asam. Absorbansi dapat diukur pada panjang gelombang 456-595 nm (Caprette, 2005).

3) Metode Biuret

Metode Biuret adalah metode yang biasa digunakan untuk menetapkan kadar protein dibidang kesehatan. Prinsip metode ini adalah dalam suasana basa ion cupri (Cu^{2+}) akan berinteraksi dengan ikatan peptida dan membentuk kompleks berwarna ungu (DiaSys, 2020). Kadar protein total dalam sampel sebanding dengan intensitas warna yang terjadi. Kadar protein total diukur dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm (Depkes, 2010a).

c. Persyaratan sampel pemeriksaan

Sampel pemeriksaan kadar protein total di laboratorium tidak boleh mengalami hemolisis, ikterik maupun lipemik karena keadaan sampel atau serum yang tidak ideal dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan. Serum hemolisis adalah serum yang terbentuk karena adanya pelepasan isi intaseluler eritrosit kedalam serum (Piyophiprapong, Wanida and Kosit, 2010). Hemolisis dapat diketahui secara visual maupun semiotomatis. Secara visual hemolisis dapat dilihat dengan adanya warna merah pada plasma atau serum, sedangkan secara semiotomatik, hemolisis dapat diukur dengan spektrofotometer. Apabila kadar hemoglobin bebas pada plasma melebihi 20 mg/dL maka sampel dikatakan hemolisis (Adiga and Yogish, 2016).

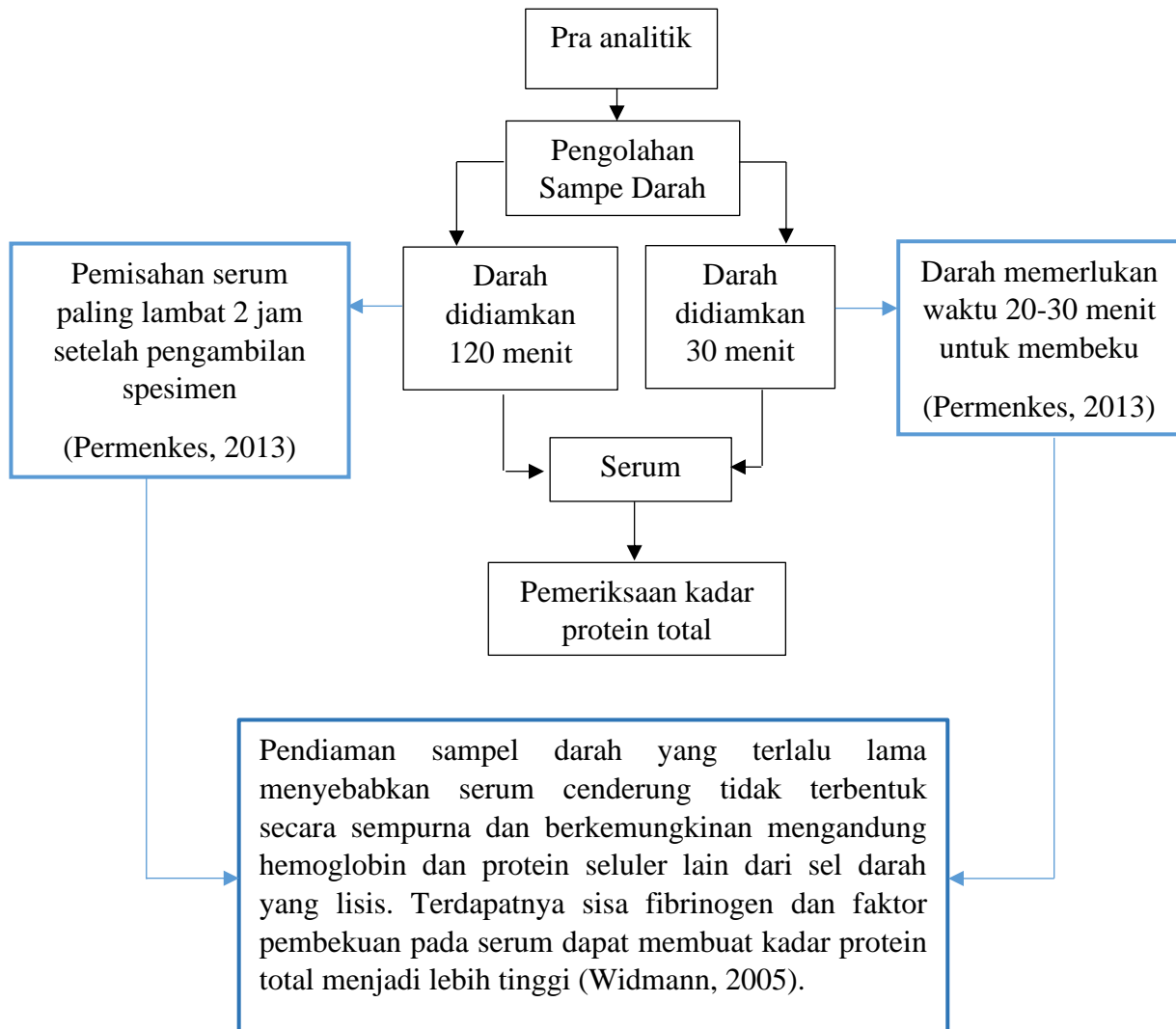
Serum ikterik adalah serum berwarna kuning coklat yang disebabkan karena adanya peningkatan konsentrasi bilirubin (Thomas, Mitchell and May, 2007). Serum ikterik dapat mengganggu pemeriksaan spektrofotometri pada panjang gelombang 340- 500 nm (Piyophiprapong, Wanida and Kosit, 2010). Serum lipemik adalah serum berwarna putih keruh yang disebabkan karena peningkatan konsentrasi trigliserid (Thomas, Mitchell and May, 2007). Lipemik dapat mengganggu pemeriksaan yang menggunakan fotometri jika sampel terdapat warna atau

kekeruhan, karena dapat menyebabkan hasil pemeriksaan tinggi palsu atau rendah palsu.

d. Faktor yang mempengaruhi kadar protein total

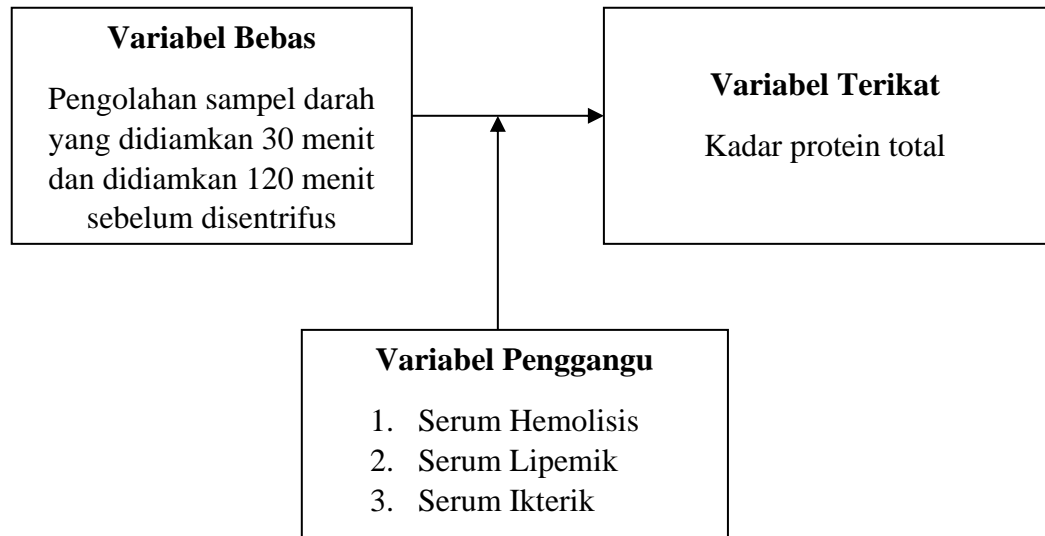
Kadar protein total dapat berubah tergantung pada kondisi tubuh yang patologis ataupun karena asupan makanan. Kadar protein total yang menurun dapat disebabkan karena seseorang dalam keadaan malnutrisi, kelaparan, penyakit hepar berat, kanker saluran gastrointestinal, gagal ginjal dan luka bakar berat. Peningkatan kadar protein total dapat terjadi karena seseorang mengalami dehidrasi, muntah, diare, multiple myeloma, sarkoidosis dan sindrom distres pernapasan (Kee, 2007). Peningkatan kadar protein total sangat jarang terjadi dan lebih sering terjadi dalam bentuk penurunan nilai konsentrasi (Sadikin, 2001).

B. Kerangka Teori



Gambar 1. Kerangka Teori

C. Hubungan Antar Variabel



Gambar 2. Hubungan Antar Variabel

D. Hipotesis Penelitian

Tidak ada perbedaan kadar protein total pada sampel darah yang didiamkan 30 menit dan didiamkan 120 menit sebelum disentrifus