

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Serum Lipemik

a. Definisi Serum Lipemik

Serum lipemik merupakan serum yang keruh, putih atau seperti susu karena hiperlipidemia (Masruroh, 2004) Kekeruhan lipemik dikarenakan juga oleh adanya partikel besar lipoprotein seperti kilomikron atau Very Low Density Lipoprotein (VLDL) (Piyophiprapong, Wontiraporn, dan Sribben, 2010).

Lipemia atau lipemik adalah kekeruhan pada serum atau plasma yang disebabkan oleh konsentrasi lipoprotein tinggi dan yang terlihat oleh mata. Sebuah wadah sampel cukup transparan merupakan persyaratan untuk mendeteksi lipemia (WHO, 2002).

Lipemik didefinisikan sebagai kekeruhan serum dimana kekeruhan tersebut dapat dilihat dengan mata telanjang. Biasanya terjadi pada kadar trigliserida diatas 300 mg/dl (3,4 mmol/l) (Roche, 2007).



Gambar 1. Serum Lipemik (Kaya, Cestin & Bestas, 2010)

b. Penyebab Serum Lipemik

Penyebab serum lipemik yang sering terjadi yaitu peningkatan kadar trigliserida atau hipertrigliserida (Roche, 2007). Kekeruhan pada serum dapat dikarenakan oleh akumulasi partikel lipoprotein. Tidak semua jenis lipoprotein menyebabkan terjadinya kekeruhan. Partikel terbesar yaitu kilomikron dengan ukuran 70 – 1000 nm adalah penyebab utama kekeruhan serum (Nikolac, 2013).

Lipoprotein merupakan lipid sukar larut dalam air, pengangkutannya dalam tubuh berbentuk kompleks dengan protein. Lipid plasma berasal dari makanan (eksogen) atau disintesis dalam tubuh (endogen). Lipoprotein tersusun atas inti yang sukar larut (non polar) yang terdiri atas ester kolesterol dan trigliserida serta bagian yang mudah larut (polar) yang terdiri dari protein, fosfolipid dan kolesterol bebas (Pusparini, 2006)

Pada lipemia yang berat, kandungan lemak dapat mencapai 10 mmol/L dan lapisan kilomikron akan menjadi seperti krim jika dibiarkan. Kekeruhan difus, tanpa lapisan seperti krim tidak disebabkan oleh kelebihan kilomikron akan tetapi disebabkan oleh kelebihan VLDL (*Very Low Density Lipoprotein*). Jika ada lipemia, sering juga ada peningkatan konsentrasi kolesterol serta fosfolipid (Baron, 2002).

Tabel 1. Klasifikasi Lipoprotein

Kelas Subgroup Lipoprotein	Komposisi Protein (%)	Kolesterol (%)	Trigliserida (%)	Fosfolipid (%)
Kilomikron Densitas sangat rendah (VLDL, pra-beta)	2	3	90	5
Densitas rendah (LDL, beta)	10	10	70	10
Densitas tinggi (HDL, alfa)	25	45	10	20
	50	20	Trace (jumlah sedikit)	30

Sumber : Kee, 2013

Serum lipemik juga dapat terjadi pada keadaan diabetes melitus, konsumsi alkohol, gagal ginjal kronis, hipotiroidisme, pankreatitis, hipertrigliserida, multiple myeloma, serosis bilier primer, Lupus Eritematosus (LE), obat-obatan seperti inhibitor protease (infeksi HIV), estrogen, kontrasepsi oral, dan lain-lain (Calmarza, dan Cordero, 2011).

c. Pendeteksian Serum Lipemik

1) Secara visual

Apabila konsentrasi trigliserid pada serum melebihi 300 mg/dl atau 3,4 mmol/L, serum lipemik bisa dideteksi secara visual. Pada sampel darah, deteksi secara visual sangat sulit dilakukan dan dapat dilakukan apabila konsentrasi trigliserid melebihi 1000 mg/dl atau 11,3 mmol/L. Deteksi visual lipemia dalam serum menghasilkan hasil yang sangat heterogen sehingga metode

ini tidak memadai untuk mendeteksi lipemia pada sampel (Nikolac, 2013).

2) Pengukuran Trigliserida

Pengukuran konsentrasi trigliserida dilakukan di sebagian laboratorium sebagai penilaian secara kasar terhadap derajat lipemia. Jumlah trigliserida berbeda kandungannya diantara sub kelas lipoprotein, pada partikel VLDL kira-kira 50% dan mencapai 85-90% pada kilomikron. Pengukuran konsentrasi trigliserida kebanyakan memakai reagen dengan metode enzimatik berdasarkan gliserol oksidasi dihidroksiaseton fosfat. Konsentrasi trigliserida sebanding dengan laju oksidasi gliserol (Nikolac, 2013).

3) Deteksi Otomatis dengan Indeks Lipemik

Indeks lipemik (L-indeks) berfungsi untuk memperkirakan kekeruhan sampel, bukan konsentrasi trigliserida. Hal ini karena indeks lipemik merupakan pengukuran hamburan cahaya yang mengacu pada ukuran partikel (Roche, 2007).

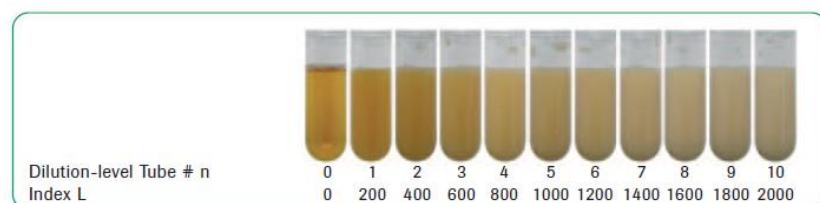
L-indeks dideteksi memakai alat otomatis yang berfungsi untuk menilai tingkat lipemik. Metode ini didasarkan pada pengenceran sampel menggunakan larutan salin atau buffer dan pengukuran spektrum dalam berbagai panjang gelombang (Nikolac, 2013).

Tabel 2. Indeks Lipemik

Tingkat Lipemik	Rentang L Indeks	Tes yang Terganggu
<i>None</i>	0-99	
<i>Slight</i>	100-799	Albumin, ALT, AST, bilirubin (total dan direk)
<i>Moderate</i>	800-1999	Amilase, bicarbonate, BUN, CK, kreatinin, fruktosamin, GGT, glukosa, LDH, magnesium, fosfor
<i>Severe</i>	2000+	Lipase, alkali fosfatase, kalsium, kolesterol, sodium, kalium, klorida

Sumber : Abaxis Veterinary Reference Laboratories, 2013

Deteksi otomatis memiliki keuntungan yaitu biaya rendah, kecepatan tinggi, peningkatan reproduktifitas dan waktu relatif singkat. Kekurangan deteksi otomatis yaitu terjadi hasil pemeriksaan positif palsu yang bukan disebabkan akumulasi lipid tetapi karena molekul lain seperti pada pasien asimtomatik. Selain itu kurangnya standarisasi pada pabrik dalam melaporkan nilai indeks lipemik. Beberapa menggunakan skala semi kuantitatif dan lainnya skala kualitatif. Hal ini menyebabkan indeks lipemik tidak dapat dibandingkan antar peralatan yang berbeda (Nikolac, 2013).



Gambar 2. Indeks Lipemik (Roche, 2007)

d. Mekanisme Gangguan Serum Lipemik

Serum lipemik dapat menyebabkan gangguan pada metode spektrofotometri, gangguan fisika kimia, sampel yang tidak homogen dan efek penggantian volume.

1) Gangguan metode spektrofotometer

Lipemik mengganggu dalam pengukuran fotometrik oleh hamburan cahaya dan penyerapan cahaya (Masrurroh, 2014). Kekeruhan lipemik bisa mengganggu pemeriksaan secara spektrofotometri, turbidimetri, maupun nephelometri karena menghamburkan cahaya dan penyerapan cahaya. Kekeruhan bisa mempengaruhi absorbansi spektrofotometer pada semua panjang gelombang sehingga menyebabkan kesalahan pada nilai analisa (Piyophirapong, Wontiraporn, dan Sribben, 2010).

Tingkat hamburan cahaya tergantung pada jumlah, ukuran, dan indeks bias partikel lipis (Roche, 2007). Sehingga hasil pemeriksaan bisa meningkat atau berkurang tergantung pada prosedur *blanking* yang digunakan (WHO, 2002).

Metode spektrofotometri adalah cara yang paling umum digunakan untuk pemeriksaan, tetapi sampel lipemik bisa mempengaruhi hasil tes. Partikel lipoprotein dalam sampel bisa menyerap cahaya. Jumlah cahaya yang diserap berbanding terbalik dengan panjang gelombang dan menurun 300-700 nm, sehingga tidak ada puncak serapan yang spesifik. Oleh karena itu,

metode yang menggunakan panjang gelombang yang rendah dapat lebih terpengaruh oleh lemak, karena absorpsi dibagian spektrum tinggi (Nikolac, 2013).

2) Gangguan fisika dan kimia

Lipoprotein bisa mengganggu proses pencampuran sampel dengan reagen seperti deteksi antibody (WHO, 2002). Lipoprotein bisa mengganggu reaksi antigen antibodi dengan memblokir tempat ikatan antibodi. Gangguan bisa menyebabkan meningkat palsu atau menurun palsu tergantung dari sifat reaksi (Nikolac, 2013). Selain itu juga dapat mengganggu dalam prosedur elektroforesis dan kromatografi karena adanya matrik-matrik lipoprotein (WHO, 2002).

3) Sampel yang tidak homogen

Darah harus disentrifuge dahulu sebelum akhirnya menjadi serum. Sesudah disentrifuge, partikel – partikel lipoprotein terdistribusi sesuai densitasnya, kilomikron dan VLDL mempunyai 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). Saat pengukuran hasil, sebagian besar alat analisa mengambil sampel pada bagian atas tabung, hal ini bisa

menghasilkan hasil pengukuran konsentrasi elektrolit dan metabolit lain yang larut air menjadi rendah palsu (Nikolac, 2013).

4) Efek penggantian volume

Lipoprotein bisa menurunkan konsentrasi jenis analit pada sampel, karena volume yang ditempati oleh lipoprotein dalam serum termasuk dalam perhitungan konsentrasi analit (WHO, 2002). Selain itu serum lipemik bisa meningkatkan fase nonaqueous sehingga akan terjadi kesalahan pada perpindahan volume dengan mengurangi air yang tersedia dalam volume sampel (Calmarza, dan Cordero, 2011).

e. Cara menghindari serum lipemik

Serum lipemik perlu dihindari dengan perlakuan sebagai berikut:

- 1) Pasien harus puasa 12 jam sebelum pengambilan darah.
- 2) Pasien dengan pemberian infus parenteral dari lipid harus dihentikan terlebih dahulu selama 8 jam sebelum pengambilan darah.

Apabila kedua perlakuan ini tidak memberikan serum yang jernih maka penyebab lain kekeruhan harus dicurigai (WHO, 2002).

f. Penanganan Serum Lipemik

Metode yang bisa dipakai untuk menghilangkan lemak pada serum adalah dengan sentrifugasi, ekstraksi lemak dengan pelarut organik dan presipitasi (WHO, 2002)

1) Sentrifugasi

Sentrifugasi dengan mikrosentrifuge dengan kecepatan 10.000 x g selama 10 menit efektif untuk menghilangkan lemak dalam serum (WHO, 2002).

2) Ekstraksi

Lemak bisa dihilangkan dengan cara diekstraksi memakai pelarut polar (Nikolac, 2013). Ekstraksi memakai fluorine chlorinated hydrocarbons sudah tidak direkomendasikan lagi karena alasan perlindungan lingkungan (WHO, 2002).

3) Presipitasi

Laboratorium masih menggunakan cara manual yaitu dengan memakai *polyethylene glycol* atau memakai siklodekstrin yang dapat mengikat lemak. Setelah disentrifuge, partikel lemak akan mengalami presipitasi pada dasar tabung dan serum akan menjadi jernih sehingga pengukuran absorban bisa dilakukan secara tepat (Nikolac, 2013). Ketika dilakukan penambahan bahan kimia perlu dipastikan tidak mengganggu hasil pemeriksaan (WHO, 2002).

a) *Polyethylene Glycol*

Polyethylene Glycol dipakai untuk mengendapkan lipoprotein pada sampel serum atau plasma (Contois dan Nguyen, 2013). Serum ditambahkan dengan *Polyethylene Glycol* 6000 konsentrasi 8% dengan perbandingan 1:1. Inkubasi selama 30 menit pada suhu 4°C dan disentrifuge selama 10 menit pada

suhu 4⁰C dengan kecepatan 1000 x g. Hasil pengukuran pada sampel jernih dihitung dengan faktor pengenceran 2. (WHO, 2002).

b) α -siklodekstrin

α -siklodekstrin dipakai untuk mengendapkan lipoprotein pada sampel serum atau plasma (Contois dan Nguyen, 2012). Sebanyak 200 gram α -siklodekstrin harus dilarutkan dalam 1 liter air dan disimpan dalam kulkas. Sebelum digunakan, larutan α -siklodekstrin harus sesuai dengan suhu ruangan. Campuran 1 bagian larutan α -siklodekstrin dengan dua bagian serum dan sentrifuge 1 menit pada 10.000 g. Supernatan yang jernih bisa digunakan untuk analisis. pengenceran harus dipertimbangkan ketika menghitung unsur dalam serum sampel asli (WHO, 2002).

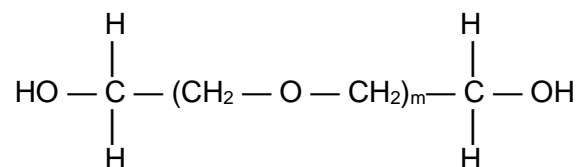
4) Pengenceran

Pengukuran bisa 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 (PEG) dengan nama kimia α -Hydro- ω -hydroxypoly(oxy-1,2-ethanediyl), adalah polimer cair atau padat dengan rumus molekul $\text{HOCH}_2(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_m\text{CH}_2\text{OH}$ dimana m adalah nomor rata-rata kelompok oxyethylene. Secara sederhana, rumus umum $\text{H}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_m\text{OH}$ sering digunakan, dimana n adalah nomor $m + 1$ pada rumus molekul sebelumnya. PEG umumnya merupakan material tidak toksik dan tidak menimbulkan iritasi (Rowe et al, 2009).



Gambar 3. Rumus Struktur *Polyethylene Glycol*
Sumber : Rowe et al, 2009

Polyethylene Glycol secara kimia stabil dalam udara dan larutan, meskipun tingkat bobot molekul kurang dari 2000 bersifat higroskopis. *Polyethylene Glycol* dan larutan *Polyethylene Glycol* dapat disterilkan dengan autoclaf, fiksasi atau radiasi sinar gamma. Penyimpanan *Polyethylene Glycol* dianjurkan di tempat kering dan tidak panas. Stainless steel, aluminium, gelas atau lined steel disarankan untuk penyimpanan bentuk cair (Rowe et al, 2009).

b. Mekanisme Presipitasi

Polyethylene Glycol adalah polimer dengan struktur $(-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-)_n$ yang disintesis secara normal dengan pembukaan cincin

polimerisasi etilen oksida. Untuk menggabungkan protein dengan PEG biasanya monomethoxy PEG ($\text{CH}_3(-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2)_n-\text{OH}$) pertama kali diaktifkan dengan cara sianurat klorida, 1,1-karbonildiimidazol, phenylchloroformate, atau succidinimidyl ester aktif sebelum penambahan protein. Agen pengaktif bertindak sebagai linker antara PEG dan protein, dan beberapa molekul PEG mungkin melekat satu molekul protein. Oleh karena itu konjugat protein PEG tergantung pada berat jenis PEG yang digunakan untuk konjugasi, jumlah molekul PEG per setiap molekul protein dan sifat ikatan antara protein dan linker. Protein yang melekat pada polimer secara substansial dipengaruhi oleh polimer itu sendiri (Mehvar, 2000).

Polyethylene Glycol merupakan sebuah polimer larut air yang tidak mendenaturasi namun mempunyai kemampuan mempresipitasikan protein dari larutan cair, yang mana dapat diketahui secara kualitatif dalam kondisi mekanisme volume berlebih. Peningkatan konsentrasi *Polyethylene Glycol* yang diperlukan untuk mempengaruhi reduksi dalam kelarutan menjadi khas untuk sepasang polimer protein tertentu dan menjadi tidak peka terhadap kondisi larutan, terutama tergantung pada ukuran protein dan polimer (Ingham, 1990).

Polyethylene Glycol tersedia dalam berbagai derajat polimerisasi, bisa dianggap sebagai pelarut organik polimer. Larutan polimer ini hingga 20% b/v tidak terlalu kental untuk menghindari

penggunaannya. Jenis yang paling umum digunakan untuk presipitasi protein yaitu PEG-2000, PEG-4000, dan PEG-6000. PEG dengan berat molekul yang lebih tinggi tidak dianjurkan karena viskositasnya tinggi dalam air. Kisaran fraksinasi yang berguna yaitu antara 8 - 20% b/v (Rosenberg, 1996).

c. Manfaat

Manfaat PEG sebagai agen presipitasi fraksi tertentu adalah sebagai zat kimia yang tidak berbahaya. Tidak seperti etanol dan agen pelarut organik lainnya, sebagai agen presipitasi, PEG memiliki kecenderungan kecil untuk mendenaturasi atau berinteraksi dengan protein meskipun berada dalam konsentrasi yang tinggi dan temperatur yang meningkat. Manfaat lain dari penggunaan PEG daripada etanol dan amonium sulfat adalah PEG membutuhkan waktu yang singkat untuk mempresipitaskan protein (Ingham, 1990).

3. Ureum

a. Pengertian

Ureum merupakan salah satu produk dari pemecahan protein dalam tubuh yang disintesis di hati dan 95% dibuang oleh ginjal dan sisanya 5% dalam feses. Secara normal kadar ureum dalam darah adalah 7-25 mg dalam 100 mililiter darah. Kadar ureum di luar negeri sering disebut sebagai Blood Urea Nitrogen (BUN) (Pantara, 2016).

b. Metabolisme

Reaksi kimia metabolisme ini sebagian besar terjadi di hati dan sedikit terjadi di ginjal. Hati menjadi pusat perubahan ammonia menjadi urea terkait fungsi hati sebagai tempat menetralkan racun. Urea bersifat racun sehingga dapat membahayakan tubuh apabila menumpuk di dalam tubuh. Meningkatnya urea dalam darah dapat menandakan adanya masalah pada ginjal Loho, Rambert & Wowor, 2016).

c. Kestabilan sampel untuk pemeriksaan ureum

Sampel yang digunakan untuk pemeriksaan ureum dapat berupa serum maupun plasma. Serum merupakan jenis sampel analitis sehingga dalam penyimpanannya terdapat tiga jenis temperatur penyimpanan, yaitu penyimpanan pada suhu ruang (20 – 25⁰C), pada suhu kulkas (2 – 8⁰C) dan suhu beku (-20⁰C). Hasil pemeriksaan kadar ureum dalam serum stabil selama 24 jam, jika disimpan pada suhu ruang (20 – 25⁰C), stabil selama 72 jam pada suhu kulkas (4 – 8⁰C) serta stabil selama 2-3 bulan jika disimpan pada suhu beku (-20⁰C) (Keputusan Menteri Kesehatan, 2010).

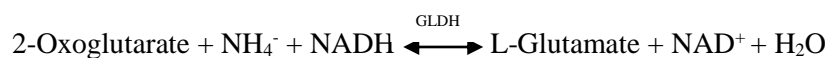
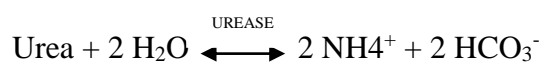
d. Metode Penetapan Kadar

Pemeriksaan ureum sangat membantu menegakkan diagnosis gagal ginjal akut.(Gowda et al, 2010). Pengukuran ureum serum dapat dipergunakan untuk mengevaluasi fungsi ginjal, status hidrasi, menilai keseimbangan nitrogen, menilai progresivitas penyakit ginjal, dan menilai hasil hemodialisis (Edmund, 2010).

Ureum dapat diukur dari bahan pemeriksaan plasma, serum, ataupun urin. Jika bahan plasma harus menghindari penggunaan antikoagulan *natrium citrate* dan *natrium fluoride*, hal ini disebabkan karena *citrate* dan *fluoride* menghambat urease. Ureum urin dapat dengan mudah terkontaminasi bakteri. Hal ini dapat diatasi dengan menyimpan sampel di dalam *refrigerator* sebelum diperiksa (Toussaint, 2012).

Beberapa metode telah dikembangkan untuk mengukur kadar ureum serum, yang sering dipilih/digunakan adalah metode enzimatik. Enzim urease menghidrolisis ureum dalam sampel menghasilkan ion ammonium yang kemudian diukur. Ada metode yang menggunakan dua enzim, yaitu enzim urease dan glutamate dehidrogenase. Jumlah *nicotinamide adenine dinucleotide* (NADH) yang berkurang akan diukur pada panjang gelombang 340 nm (Frank, 2010).

Reaksi pemeriksaan ureum



e. Tinjauan Klinis

Peningkatan ureum dalam darah disebut azotemia. Kondisi gagal ginjal yang ditandai dengan kadar ureum plasma sangat tinggi dikenal dengan istilah uremia. Keadaan ini dapat berbahaya dan memerlukan hemodialisis atau tranplantasi ginjal. Peningkatan ureum

dikelompokkan dalam tiga kelompok, yaitu pra-renal, renal, dan pasca-renal (Verdiansah, 2016).

Azotemia pra-renal adalah keadaan peningkatan kadar ureum yang disebabkan oleh penurunan aliran darah ke ginjal. Berkurangnya darah di ginjal membuat ureum makin sedikit difiltrasi. Beberapa faktor penyebabnya yaitu penyakit jantung kongestif, syok, perdarahan, dehidrasi, dan faktor lain yang menurunkan aliran darah ginjal. Peningkatan ureum darah juga terjadi pada keadaan demam, diet tinggi protein, terapi kortikosteroid, perdarahan gastrointestinal karena peningkatan katabolisme protein. Penurunan fungsi ginjal juga meningkatkan kadar urea plasma karena ekskresi urea dalam urin menurun. Hal ini dapat terjadi pada gagal ginjal akut atau pun kronis, glomerulonefritis, nekrosis tubuler, dan penyakit ginjal lainnya (Gaedeke, 2000). Azotemia pasca-renal ditemukan pada obstruksi aliran urin akibat batu ginjal, tumor vesika urinaria, hiperplasia prostat, dan juga pada infeksi traktus urinarius berat (Verdiansah, 2016).

Penurunan perbandingan ureum/kreatinin terjadi pada kondisi penurunan produksi ureum seperti asupan protein rendah, nekrosis tubuler, dan penyakit hati berat. Pada kehamilan juga terjadi penurunan kadar ureum karena adanya peningkatan sintesis protein (Edmund, 2010).

B. Landasan Teori

Sebagian besar dari semua keputusan medis berdasarkan pada hasil laboratorium sehingga laboratorium mempunyai peran penting dalam perawatan kesehatan. Tahap pra analitik adalah bagian utama yang menyumbang kesalahan laboratorium. Serum lipemik merupakan salah satu gangguan pra analitik yang bisa menyebabkan kesalahan pemeriksaan laboratorium. Serum lipemik merupakan serum yang keruh, putih atau seperti susu karena hiperlipidemia. Serum lipemik sering didapatkan di laboratorium klinik dan bisa menyebabkan gangguan pada hasil analisis beberapa parameter pemeriksaan laboratorium. Metode yang dapat digunakan untuk menjernihkan serum lipemik antara lain dengan cara sentrifugasi, pengenceran, ekstraksi dan presipitasi. *Polyethylene Glycol* (PEG) sebagai agen presipitasi fraksi tertentu merupakan zat kimia yang tidak berbahaya dan harganya relatif murah. Pemeriksaan ureum sangat membantu menegakkan diagnosis gagal ginjal akut. Pengukuran kadar ureum dapat dipergunakan untuk mengevaluasi fungsi ginjal, status hidrasi, menilai keseimbangan nitrogen, menilai progresivitas penyakit ginjal, dan menilai hasil hemodialisa.

C. Hipotesis Penelitian

Ada perbedaan kadar ureum serum lipemik yang diolah dengan *Polyethylene Glycol* 6000 8% dengan kadar ureum yang diolah dengan *High Speed* sentrifugasi 12.000 rpm.