

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Flebotomi

Flebotomi adalah proses pengambilan darah dari sirkulasi melalui tusukan atau sayatan dapat melalui vena, arteri maupun kapiler dengan teknik yang tepat untuk mempertahankan komposisi analitnya (Nugraha, 2017; Patologi Klinik Kedokteran UNS, 2012). Pembuluh darah vena yang dapat dilakukan penusukan di *fossa antecubital* diantaranya (1) vena *mediana cubital*, terletak dekat dengan permukaan kulit dan cukup besar, sehingga dapat terlihat dengan baik (2) vena *cephalica*, memiliki ukuran yang besar namun tidak terlihat dengan baik dan lebih sakit saat ditusuk dibandingkan dengan vena *mediana cubital* (3) vena *basilica*, terletak dekat dengan arteri *brachialis* dan saraf *mediana* sehingga penusukan harus dilakukan secara hati-hati. Pembuluh darah vena yang dapat dilakukan penusukan apabila vena pada *fossa antecubital* tidak dapat diambil yaitu (1) pembuluh darah vena di pergelangan tangan, (2) pembuluh darah vena di punggung tangan, (3) pembuluh darah vena pada kaki atau pergelangan kaki (4) pembuluh darah di kepala (Nugraha, 2017; Patologi Klinik Kedokteran UNS, 2012).

2. Tourniquet

Tourniquet adalah alat yang digunakan untuk menekan dan mengontrol aliran di vena dalam jangka pendek (Nugraha, 2017).

Tourniquet dan manset tekanan darah (*sphygmomanometer*) sering diterapkan untuk melebarkan vena perifer (Xiong, 2019). Pemasangan *tourniquet* sebelum pengambilan darah, membuat vena terlihat melebar sehingga memudahkan dalam menentukan lokasi penusukan (Nugraha, 2017). *Tourniquet* dipasang pada lengan atas kira-kira 4-5 cm di atas *fossa antecubital* (Patologi Klinik Kedokteran UNS, 2012). Tekanan yang dianjurkan untuk pemasangan *tourniquet* adalah 60 mmHg karena penurunan aliran balik vena tampak lebih besar daripada tekanan 40 mmHg dan pada tekanan 80 mmHg dapat menimbulkan rasa sakit daripada tekanan 60 mmHg. Durasi pemasangan *tourniquet* sebaiknya 30 detik sampai dengan 1 menit (Sasaki dkk., 2012). Pemasangan *tourniquet* yang melebihi 1 menit akan terjadi stasis vena lokal dan hemokonsentrasi yang mengakibatkan peningkatan konsentrasi berbagai analit darah di tempat tusukan sehingga berpotensi mempengaruhi interpretasi hasil laboratorium (Lima-Oliveira dkk., 2011). Pemasangan *sphygmomanometer* selama 2 menit pada responden dengan viskositas darah yang tinggi menyebabkan nilai laju endap darah semakin menurun, namun tidak terlalu berpengaruh pada responden dengan viskositas darah yang rendah (Na'imah, 2018).

3. Hemokonsentrasi

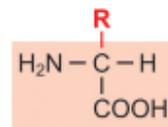
Hemokonsentrasi adalah suatu keadaan dimana beberapa plasma dan komponen darah yang berukuran kecil melewati dinding

kapiler ke dalam jaringan, sehingga terjadi penurunan kandungan cairan darah dengan peningkatan komponen molekul besar dalam darah berbasis protein seperti sel darah merah. Hal ini dapat terjadi pada stasis vena lokal yang diakibatkan pemasangan *tourniquet* terlalu lama (McCall, 2020). Pemasangan *tourniquet* memungkinkan tekanan diterapkan pada lengan sehingga darah vena yang kembali ke jantung dapat diperlambat, sebagai akibatnya, dinding pembuluh darah menjadi tersumbat sementara dan pembuluh darah melebar karena pengumpulan darah (Pawliszyn, 2012). Tekanan vena dapat meningkat dalam dua pengaturan yaitu, ketika volume darah meningkat dan ketika ada obstruksi pada ujung vena. Perubahan tekanan vena menyebabkan perubahan paralel pada tekanan hidrolik kapiler. Tekanan kapiler memaksa cairan dari kapiler ke interstitium di mana tekanan ujung arteri lebih tinggi dari ujung vena. (Lent-Schochet, 2021). perembesan plasma ke luar dari pembuluh darah menyebabkan plasma yang berfungsi sebagai pelarut darah menjadi rendah dan terjadi peningkatan viskositas darah (Na'imah, 2018). Analit yang mengalami peningkatan abnormal termasuk albumin, amonia, kalsium, kolesterol, faktor koagulasi, enzim, besi, kalium, dan protein total (McCall, 2020).

4. Protein

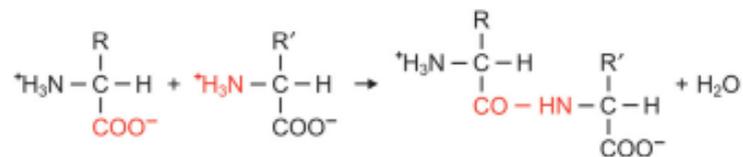
Protein adalah molekul berukuran besar (makromolekul), polimer unit struktural yang disebut asam amino. Sebanyak 20 asam

amino yang berbeda ada dalam protein dan ratusan hingga ribuan asam amino terikat satu sama lain dalam rantai panjang untuk membentuk protein. Asam amino adalah senyawa yang memiliki asam atau karboksil ($-\text{COOH}$), dan basa atau amina ($-\text{NH}_2$), yang keduanya terikat pada α karbon (αC) dari asam organik. Asam amino berpartisipasi dalam serangkaian reaksi kimia yang mungkin melibatkan amina atau gugus karboksil yang terikat pada α karbon, atau rantai samping yang spesifik untuk setiap asam amino. Ikatan kovalen antara gugus karboksil dari satu asam amino dan gugus α amina dari yang lain disebut ikatan peptida (Blanco dan Blanco, 2017).



Gambar 1. Struktur Asam Amino

Sumber: Blanco dan Blanco, 2017.



Gambar 2. Struktur Protein (Ikatan Peptida)

Sumber: Blanco dan Blanco, 2017.

Protein merupakan komponen padat yang paling melimpah di dalam plasma (Blanco dan Blanco, 2017). Komponen protein utama dalam plasma sering dianggap sebagai protein plasma. Protein plasma

terdiri atas fraksi albumin, globulin dan fibrinogen. Fraksi globulin dibagi lagi menjadi banyak komponen. Satu klasifikasi membaginya menjadi globulin α_1 , α_2 , β_1 , β_2 dan γ , serta fibrinogen. Massa molekul dan konfigurasi keseluruhan protein-protein tersebut sangat bervariasi (Ganong, 2008).

Protein plasma terdistribusi secara bervariasi antara ruang intravaskular dan ruang ekstrasvaskular yang lebih besar. Protein besar lebih mungkin untuk dipertahankan dalam ruang intravaskular, sedangkan protein dan peptida kecil didistribusikan lebih merata antara ruang intravaskular dan ekstrasvaskular (Burtis dan Bruns, 2014).

Kapiler merupakan pembuluh darah berukuran kecil sebagai penghubung antara arteri dan vena. Dinding sel pembuluh ini bersifat permeabel sehingga cairan tubuh dan zat-zat terlarut dapat keluar masuk melalui dindingnya (Patologi Klinik Kedokteran UNS, 2012). Lebar celah pori-pori kapiler 6 sampai 7 nanometer, kira-kira 20 kali diameter molekul air. Meskipun demikian, diameter molekul protein plasma sedikit lebih besar daripada lebar pori-pori itu, sehingga dinding kapiler relatif impermeable terhadap protein di dalam plasma (Ganong, 2008).

Protein total merupakan suatu protein plasma yang tersusun atas albumin, globulin, dan beberapa protein lain dalam jumlah yang lebih sedikit (Senja dkk., 2020).

5. Pemeriksaan Protein Total

Pemeriksaan kadar protein total dalam dalam darah dapat ditetapkan dengan metode biuret. Dalam kondisi basa, ion Cu^{2+} kompleks dengan peptida ikatan dalam protein. Pengikatan menggeser spektrum absorpsi ion Cu^{2+} ke panjang gelombang yang lebih pendek, menyebabkan perubahan warna dari biru menjadi ungu yang disebut reaksi biuret (Boghozian dkk., 2021). Perubahan absorbansi dari penambahan protein diukur secara spektrofotometri pada panjang gelombang sekitar 540 nm. Reagen biuret juga biasanya mengandung garam tartrat untuk menjaga kelarutan ion Cu^{2+} dan iodida sebagai antioksidan. Perubahan absorbansi yang dihasilkan kurang lebih sama atau masing-masing ikatan peptida dalam suatu rantai polipeptida, kecuali ikatan mengandung prolin. Oleh karena itu, absorbansi sebanding dengan jumlah ikatan peptida dan jumlah protein yang ada dalam sistem reaksi, kecuali kandungan yang tidak biasa prolin hadir. Berbagai senyawa kecil, asam amino, pipeptida, dan setiap peptida tanpa prolin bereaksi sampai tingkat tertentu dengan reagen biuret. Hanya komponen peptida dari glikoprotein bereaksi. Metode biuret memiliki sensitivitas sedang dan berguna untuk larutan dengan konsentrasi protein tinggi seperti serum atau plasma (Burtis dan Bruns, 2014).

Total protein dalam serum stabil selama 25 hari pada suhu 17°C dengan perubahan $<1\%$ dari nilai awal (Hirigo, 2020). Pada suhu

kamar serum tidak dapat disimpan lebih dari 48 jam, mempertimbangkan bias yang dapat diterima (1,36%) (Pawlik-Sobecka dkk., 2020).

6. Faktor yang Mempengaruhi Kadar Protein Total

Faktor yang dapat mempengaruhi kadar protein total, diantaranya persiapan pasien, pengambilan spesimen dan teknis saat pemeriksaan kadar protein total.

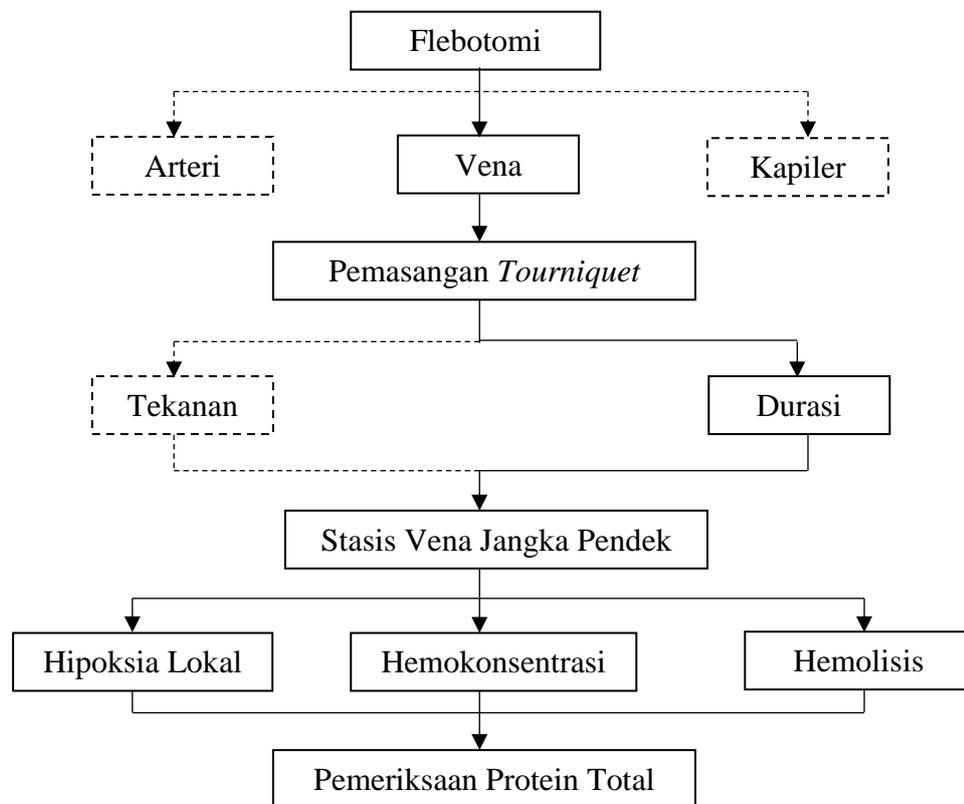
Pemasangan *tourniquet* terlalu lama dapat terjadi hemokonsentrasi bersama dengan peningkatan sel dan komponen protein dalam vena, sementara cairan masuk ke dalam ruang ekstrasvaskuler (Burtis dan Bruns, 2014). Selain hemokonsentrasi, terlalu lama saat memasang *tourniquet* dapat terjadi hemolisis yang dapat menghasilkan peningkatan palsu kadar protein total (Azman dkk., 2019).

Pemeriksaan protein total dapat menggunakan plasma atau serum. Serum lebih diutamakan karena albumin dan globulin adalah protein utama yang membentuk sebagian besar serum serta sekitar 5% konsentrasi protein total lebih rendah karena hilangnya fibrinogen selama pembekuan plasma untuk membentuk serum (Burtis dan Bruns, 2014).

Serum lipemik dapat mempengaruhi pemeriksaan protein total. Lipemia dapat mengganggu pengujian apa pun yang menggunakan transmisi cahaya sebagai bagian dari skema deteksi dan menyebabkan

peningkatan penyerapan cahaya (Soleimani dkk., 2020). Pada sampel ikterik, bilirubin dinyatakan sebagai interferensi negatif pada beberapa uji biuret dan dengan demikian dapat berkontribusi pada pseudohipoproteinemia (Gupta dan Stockham, 2014).

B. Kerangka Teori



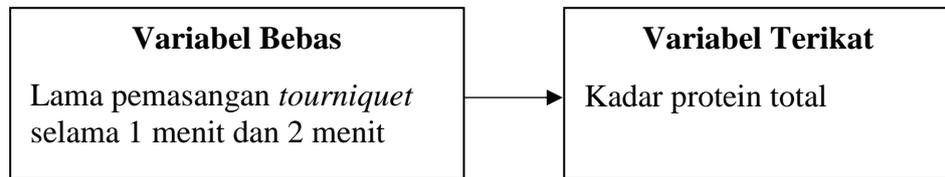
Keterangan:

Yang diteliti : _____

Yang tidak diteliti : - - - - -

Gambar 3. Kerangka Teori

C. Hubungan Antar Variabel



Gambar 4. Hubungan Antar Variabel

D. Hipotesis

Pemasangan *tourniquet* 1 menit dan 2 menit pada pemeriksaan kadar protein total memberikan hasil yang berbeda.