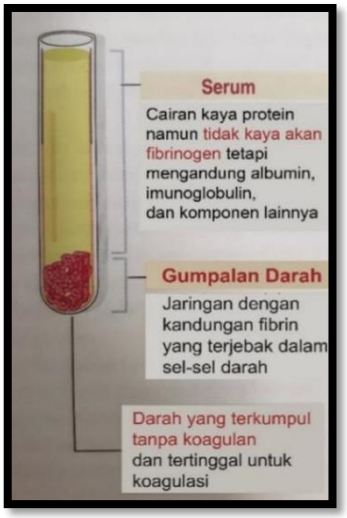
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Pengertian Serum Lipemik

Serum merupakan supernatan yang diperoleh setelah darah dibiarkan membeku selama 30-45 menit. Selama proses pembekuan, darah fibrinogen diubah menjadi fibrin (Baynes dan Dominiczak, 2014). Serum disebut juga plasma tanpa antikoagulan. Perbedaan serum dan plasma adalah plasma mengandung fibrinogen sedangkan serum tidak mengandung fibrinogen namun mengandung albumin, immunoglobulin dan komponen lainnya (Kierszenbaum dan Tres, 2012). Serum darah ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Serum Darah
Sumber : Kierszenbaum dan Tres, 2012.

Serum lipemik merupakan serum yang berwarna putih keruh atau seperti susu yang disebabkan adanya partikel besar lipoprotein seperti

trigliserida. Molekul lipid tersebut mengganggu metode uji pemeriksaan (Lieseke dan Zeibig, 2017). Serum normal berwarna kuning-kuningan dan mempunyai sifat antigenik. Serum yang berwarna keruh mengacu pada kekeruhan dari kadar lemak disebut serum lipemik (Ramali dan Pamoentjak, 2005). Serum lipemik yang baru dipisahkan tampak seperti susu, ditunjukkan pada Gambar 2.

Gambar 2. Serum Lipemik
Sumber : Dokumen Pribadi,2022.

Kekeruhan disebabkan peningkatan kadar trigiserida, umumnya peningkatan konsentrasi trigliserida yang bersirkulasi diatas sekitar 5 mmol/l menyebabkan opalesen. Pada lipemia hebat, kandungan lemak bisa diatas sekitar 10 mmol/l dan lapisan kilomikron seperti krim. Terdapat beberapa jenis kekeruhan yang dijumpai yaitu :

a. Kekeruhan difus, tanpa lapisan seperti krim, menunjukan kelebihan VLDL bukan kilomikron.
b. Peningkatan konsentrasi kolesterol dan fosfolipid plasma.

Penggolongan tingkat kelipemikan berdasarkan kadar trigliserida ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Tingkat Kekeruhan Serum Lipemik Berdasarkan Kadar Trigliserida

Warna dan Kekeruhan	Kadar Trigliserida (mg/dL)	Tingkat Lipemik
Putih Susu	300-499	Ringan
Putih Susu dan Keruh	500-799	Sedang
Putih Susu dan Sangat Keruh	800-1800	Berat

Sumber: Nikolac, 2013

2. Penyebab Serum Lipemik

Serum lipemik adalah kekeruhan pada serumyang disebabkan oleh akumulasi partikel lipoprotein. Karena ukuran lipoprotein bervariasi, tidak semua kelas berkontribusi sama terhadap kekeruhan. Partikel terbesar, kilomikron, dengan ukuran sampel 70-1000 nm, memiliki potensi terbesar dalam menyebabkan kekeruhan sampel. Akumulasi partikel kecil, *High Density Lipoprotein* (HDL), *Low Density Lipoprotein* (LDL) dan *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL) kecil tidak menghasilkan sampel lipemik (Nikolac, 2013).

Asupan makanan seperti glukosa, lipid dan kalsium dapat mempengaruhi hasil tes,sehingga pengambilan sampel setelah makan dapat menjadi penyebab kesalahan praanalitik untuk serum lipemik. Negara Italia merekomendasikan bahwa pasien diharuksan berpuasa minimal 8 jam, sedangkan Australia membutuhkan 10-16 jam sebelum pemeriksaan lipid. Pada pasien rumah sakit, lipemik disebabkan oleh pengambilan sampel terlalu cepat setelah pemberian emulsi lipid parenteral (Nikolac, 2013).

3. Mekanisme Gangguan Serum Lipemik

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

a. Gangguan fisika dan kimia

Akumulasi lipoprotein dalam serum dapat mengganggu analit yang diukur melalui interaksi fisika dan kimia, terutama pada metode elektroforesis. Serum lipemik dapat mengganggu secara non-spesifik dalam berbagai imunologi. Lipoprotein dapat mengganggu reaksi antigen-antibodi dengan memblokir tempat pengikatan pada antibodi. Ini dapat terjadi bahkan ketika antibodi terikat pada permukaan padat, tergantung pada sifat reaksi (Nikolac,2013). Lipoprotein dapat menganggu proses pencampuran sampel dengan reagen seperti deteksi antibodi (WHO, 2002). Selain itu dapat mengganggu dalam prosedur eletroforesis dan kromatografi karena adanya matrik-matrik lipoprotein (WHO, 2002).

b. Gangguan metode spektrofotometri

Kekeruhan lipemik mengganggu pemeriksaan secara spektrofotometri, turbidimetri maupun nephelometri karena mengahamburkan cahaya dan penyerapan cahaya (Piyophirapong dkk., 2010). Hasil nyata dapat ditingkatkan

atau dikurangi tergantung pada prosedur pengosongan. Pada kekeruhan tinggi, pengukuran tidak mungkin dilakukan karena batas linieritas metode (WHO, 2002). Kekeruhan dapat mempengaruhi absorbansi spektrofotometer pada semua panjang gelombang sehingga menyebabkan kesalahan pada nilai analisa (Piyophirapong dkk., 2010).

c. Sampel yang tidak homogen

Untuk mendapatkan serum untuk pengukuran analit, darah perlu disentrifugasi. Setelah sentrifugasi, partikel terdistribusi menurut densitasnya: kilomikron dan partikel VLDL (*Very Low Density Lipoprotein*) memiliki densitas rendah dan oleh karena itu akan ditempatkan di bagian atas tabung, membentuk lapisan yang berbeda. Unsur dalam serum mendistribusikan antar lapisan tergantung pada polaritasnya. Analit hidrofobik didistribusikan dalam fase lipid sedangkan analit yang larut dalam fase air (molekul kecil dan elektrolit) tidak akan ada di bagian atas tabung (lapisan lemak). Ketika mengambil sampel untuk pengukuran, sebagian besar alat analisa mengambil sampel dari bagian atas tabung, hal ini dapat mengakibatkan penurunan konsentrasi elektrolit dan metabolit lain yang larut air menjadi rendah palsu.

d. Efek pengganti volume

Lipoprotein menurunkan konsentrasi nyata analit dengan mengurangi air yang tersedia dari volume sampel, karena volume yang ditempati oleh lipoprotein dalam plasma atau serum termasuk dalam perhitungan konsentrasi analit. Hal ini menjelaskan alasan konsentrasi natrium dan potasium yang lebih rendah ketika diukur dalam serum lipemik, ketika plasma atau serum diukur dengan flame photometry atau dengan pengukur tidak langsung menggunakan elektroda ion-sensitif, berbeda degan potensimetri yang diukur secara langsung (Kuhi dan Tamm, 2001), yaitu karena pengenceran yang tinggi sebelum diperiksa (Nikolac, 2013). Ketika lipoprotein tidak didistribusikan secara homogen dalam sampel serum atau plasma, konsentrasi analit yang terlarut dalam fase air lebih sedikit (lapisan atas) daripada di fase bawah sampel (WHO, 2002).

4. Cara Menghindari Serum Lipemik

Serum lipemik perlu dihindari dengan perlakuan sebagai berikut :

a. Pasien harus berpuasa setidaknya 12 jam sebelum sampel darah diambil.

b. Pada pasien yang menerima infus parenteral lipid, periode 8 jam penghentian pengobatan diperlukan untuk menghidari gangguan kekeruhan (Hagemann, 1994).

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

5. Penanganan Serum Lipemik

Beberapa metode direkomendasikan untuk menghilangkan lipid dari serum atau plasma, seperti sentrifugasi, untuk menghasilkan sampel infranatant yang jernih. Metode lain termasuk ekstraksi lipid dengan pelarut organik atau hidrokarbon terklorinasi flour dan pengendapan lipoprotein kaya trigliserida oleh polianion dan siklodekstrin (Siest dkk., 2000).

a. Sentrifugasi

Prosedur yang direkomendasikan untuk menangani sampel lipemik adalah sentrifugasi menggunakan ultrasentrifugasi yang secara efektif menghilangkan lipid dan memungkinkan pengukuran sejumlah besar analit. Namun, karena biayanya yang tinggi, peralatan ini tidak tersedia di sejumlah besar laboratorium (Sari dkk.,2019). Ultrasentrifugasi dapat memperoleh kekuatan hingga 100.000-2.000.000 x g. Sentrifugasi dengan kecepatan tinggi dengan kekuatan 10.000 x g dapat hampir seefisien ultracentrifuge dalam menghilangkan lapisan lipid (Castro dkk., 2018). Namun, sentrifugal yang

menghasilkan gaya yang 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. Setelah sentrifugasi, lapisan lipid di bagian atas tabung dihilangkan dan pengukuran dilakukan dalam infranatan. Oleh karena itu pendekatan ini tidak dapat diterima untuk pengukuran hormon, obat-obatan dan zat hidrofobik lainnya, karena mereka akan didistribusikan di lapisan lipid, dan pengukuran dalam infranatant akan menyebabkan hasil penurunan yang salah (Nikolac, 2013).

b. Ekstraksi

Lipid dapat diekstraksi menggunakan pelarut polar (Nikolac, 2013). Ekstraksi menggunakan *flourine chlorinated hydrocarbons* sudah tidak direkomendasikan lagi karena perlindungan lingkungan (WHO, 2002).

c. Presipitasi

Laboratorium masih menggunakan cara manual dengan *Polyethylen Glycol* atau siklodekstrin (Sharma dkk.,1990) untuk mengikat lemak. Setelah sentrifugasi, partikel lemak ini mengalami presipitasi di bagian dasar tabung, dan pengukuran absorban dapat dilakukan secara tepat menggunakan supernatan

bening (Nikolac, 2013). Ketika dilakukan penambahan bahan kimia perlu dipastikan tidak menganggu hasil pemeriksaan (WHO, 2002).

1) *Polyethylene glycol*

   Polyethylene glycol digunakan untuk mengendapkan lipoprotein pada sampel serum atau plasma (Contois dan Nguyen, 2012). Serum ditambahkan *Polyethylne glycol* 6000 konsentrasi 8% dengan perbandingan 1:1. Diinkubasi selama 30 menit pada suhu 4ºC dengan kecepatan 1000 x g. Hasil pengukuran pada sampel jernih dihitung dengan faktor pengenceran 2 (WHO,2002).

2) Siklodekstrin

   Siklodekstrin merupakan metode flokulasi lipoprotein pada sampel serum atau plasma yang mudah dilakukan dilaboratorium karena tidak membutuhkan peralatan yang mahal dan tidak membutuhkan waktu yang lama (Contois dan Nguyen, 2012). Siklodekstrin ialah senyawa alami yang tidak berbahaya dan efektif untuk mengatasi gangguan partikel lipid dalam serum lipemik.

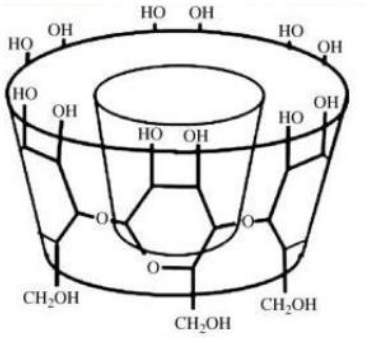
d. Pengenceran Sampel

Pengukuran dapat dilakukan dengan pengenceran sampel. Pengencaran hanya cukup untuk menghilangkan gangguan kekeruhan, tetapi tidak terlalu banyak untuk memastikan bahwa konsentrasi analit tetap dalam batas analitik pada metode yang diuji (Nikolac, 2013).

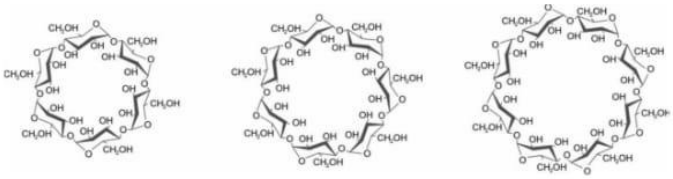
6. Siklodekstrin

a. Pengertian Siklodekstrin

Siklodekstrin dikenal sebagai *Cycloamyloses, Cyclomaltoses dan Shardinger* (Valle, 2003). Siklodektrin merupakan oligosakarida non-pereduksi produk modifikasi pati dengan struktur kimia berbentuk cincin, dan terbentuk melalui proses siklisasi oleh aktivitas CGTase (*Cyclodextrin glycosil transferase*) (Szejtli, l988; Schmid, l989; Tankova, 1998). Berdasarkan jumlah glukosa yang menyusunnya, siklodekstrin dibedakan atas α- siklodekstrin (6 unit glukosa), β-siklodekstrin (7 unit glukosa) dan γ-siklodekstrin (8 unit glukosa) (Szejtli, l988; Tankova, 1998). Struktur siklodekstrin berbentuk donat seperti ditunjukkan pada Gambar 3 dan 4.



Gambar 3. Struktur alfa-siklodekstrin
Sumber : Duchene, 2011



Gambar 4. Struktur Kimia α- siklodekstrin ,β-siklodekstrin dan γ-siklodekstrin
Sumber : Veiga dkk., 2006

Siklodekstrin murni dihasilkan dari degradasi *starch* oleh *cycloglycosyl transferase amylases* (CGTases) yang diproduksi oleh variasi bacili, di antaranya *Bacillus macerans* dan *Bacillus circulans* (Duchene, 2011). Alfa-siklodektrin dihasilkan dengan penggunaan enzim sikloheksaamilase yang diproduksi oleh *Bacillus macerans.* Beta-siklodekstrin dengan penggunaan sikloheptataamilase yang diperoleh dari *Bacillus megaterium*. Sedangkan Gamma-siklodektrin menggunakan siklooktaamilase. Sifat-sifat siklodekstrin ditunjukaan pada tabel 2.

Tabel 2. Sifat-Sifat Siklodekstrin

Sifat	Siklodekstrin		
	Alfa	Beta	Gama
Jumlah dari unit *glucopyraose*	6	7	8
Rumus molekul	$C_{36}H_{60}O_{30}$	$C_{42}H_{70}O_{35}$	$C_{48}H_{80}O_{40}$
Berat molekul (g/mol)	972	1135	1297
Kelarutan dalam air pada 25ºC (%W/V)	14,5	1,85	23,2
Diameter luar (A)	14,6	15,4	17,5
Diameter dalam (A)	4,7-5,3	6,0-6,5	7,5-8,3
Berat dari torus (A)	7,9	7,9	7,9
Volume ruang (A3)	174	262	427

Sumber : Valle, 2003

b. Mekanisme Pembentukan Kompleks

Siklodekstrin membentuk kompleks inklusi dengan molekul lain baik dalam keadaan padat maupun dalam larutan (Diaz dkk., 2003). Inklusi siklodekstrin merupakan kejadian molekul stoikiometri dimana biasanya hanya satu molekul tamu yang berinteraksi dan berikatan dengan rongga molekul siklodekstrin. Dalam kompleks ini molekul tamu diikat dalam rongga molekul siklodekstrin. Molekul air digantikan oleh molekul hidrofobik dalam larutan sehingga dihasilkan penurunan regangan cincin siklodekstrin dalam energi yang lebih rendah dan lebih stabil (Valle, 2003).

Molekul tamu yang diikat dalam siklodekstrin bersifat tidak tepat tetapi sifat ikatannya dinamis. Kekuatan pengikatan tergantung pada ukuran siklodekstrin dengan ukuran molekul yang diikat, serta interaksi termodinamika antara berbagai komponen

yang berbeda dari sistem (siklodekstrin, tamu dan pelarut) (Valle, 2003).

c. Manfaat Siklodekstrin

Siklodekstrin memiliki kemampuan berinteraksi dengan bermacam-macam senyawa ionik dan molekular membentuk suatu senyawa kompleks inklusi siklodekstrin. Oleh karena kemampuan yang dimilikinya, siklodekstrin dapat dimanfaatkan sebagai bahan peng-inklusi (Pszezola, 1988).

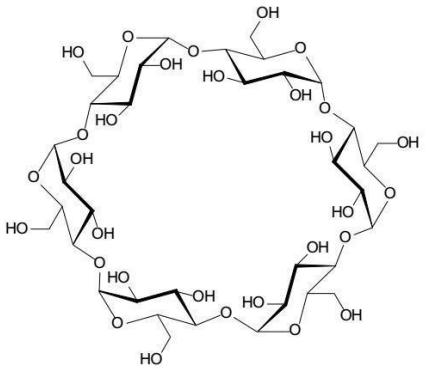
Siklodekstrin dapat menstabilkan zat yang sensitif terhadap oksigen dan cahaya, memodifikasi kereaktifan reaksi kimia molekul yang terikat, memfiksasi zat yang mudah menguap, mengubah zat yang bersifat cair menjadi bubuk atau tepung dan melindungi zat dari degradasi akibat mikroorganisme (Valle, 2003).

d. Alfa-Siklodekstrin

Alfa-siklodekstrin memiliki sinonim *Cyclohexaamylose, Cyclomalthohexaose, α-Schardinger* dekstrin (WHO, 2005). Alfa-siklodekstrin adalah sakarida siklik non pereduksi yang terdiri dari 6 unit glukosa dihubungkan 1-4 *α-glycosidic* yang dihasilkan oleh siklodekstrin *glucopyranosyltransferase* (CGTase, EC 2.4.1.19) pada hidrolisis sirup pati pH netral (6,0-7,0) dan suhu (35-40º C) (WHO, 2002).

Penjernihan alfa-siklodekstrin dapat dilakukan dengan presipitasi dari kompleks alfa-siklodekstrin dengan 1-decanol dan

dilarutkan dalam air. Rumus kimia dari alfa-siklodekstrin adalah $C_{36}H_{60}O_{30}$ dan berat molekul 972,402. Sifat alfa-siklodekstrin adalah berbentuk bubuk, berwarna putih, tidak berbau dengan titik leleh 278° C. Strukur anular dari alfa-siklodekstrin membentuk rongga hidrofobik yang memungkinkan pembentukan kompleks inklusi dengan berbagai molekul organik non-polar dengan ukuran sesuai. Sifat hidrofobik dari permukaan luar struktur siklik membuat alfa siklodekstrin larut dalam air (WHO, 2002). Struktur kimia alfa-siklodekstrin ditunjukkan pada gambar 5.



Gambar 5. Struktur alfa-siklodekstrin
Sumber : Veiga dkk., 2006

7. Kreatinin

a. Pengertian Kreatinin

Kreatinin merupakan hasil perombakan kreatin senyawa berisi nitrogen yang ada dalam otot. Enzim kreatin fosfokinase (CPK/*Creatine Phosphokinase*) merupakan fosforilasi kreatin menjadi suatu senyawa fosfat kaya energi yang ikut serta dalam reaksi-reaksi yang memerlukan energi (Widmann, 2005). Kreatinin

diekresikan oleh ginjal melalui kombinasi filtrasi dan sekresi, konsentrasinya relatif konstan dalam plasma dari hari ke hari, kadar yang lebih besar dari nilai normal menandakan adanya gangguan fungsi ginjal (Corwin, 2000).

Peningkatan dua kali lipat kadar kreatinin serum mengidentifikasikan adanya hasil penurunan fungsi ginjal sebesar 50%, demikian juga peningkatan kadar kreatinin tiga kali lipat menandakan penurunan fungsi ginjal sebesar 75% (Soeparman dan Sarwono, 2001). Pemeriksaan kadar kreatinin merupakan bagian dari pemeriksaan laboratorium untuk menegakkan diagnosa adanya gangguan fungsi ginjal (Yuliyanti dkk.,2018).

Kreatinin merupakan salah satu pemeriksaan kimia darah yang bertujuan untuk mengetahui fungsi ginjal. Kreatinin serum dianggap lebih sensitif dan merupakan indikator khusus pada pemeriksaan fungsi ginjal. Kreatinin serum sangat berguna untuk mengevaluasi fungsi glomerulus. Nilai normal pemeriksaan kreatinin adalah 0,6 sampai 1,3 mg/dL untuk laki-laki dan 0,5 sampai 1,0 mg/dL untuk perempuan. Nilai yang sangat kecil tersebut sangat berpotensi menimbulkan interpretasi yang salah apabila cara yang dilakukan dalam pemeriksaan salah.

b. Metode Pemeriksaan Kreatinin

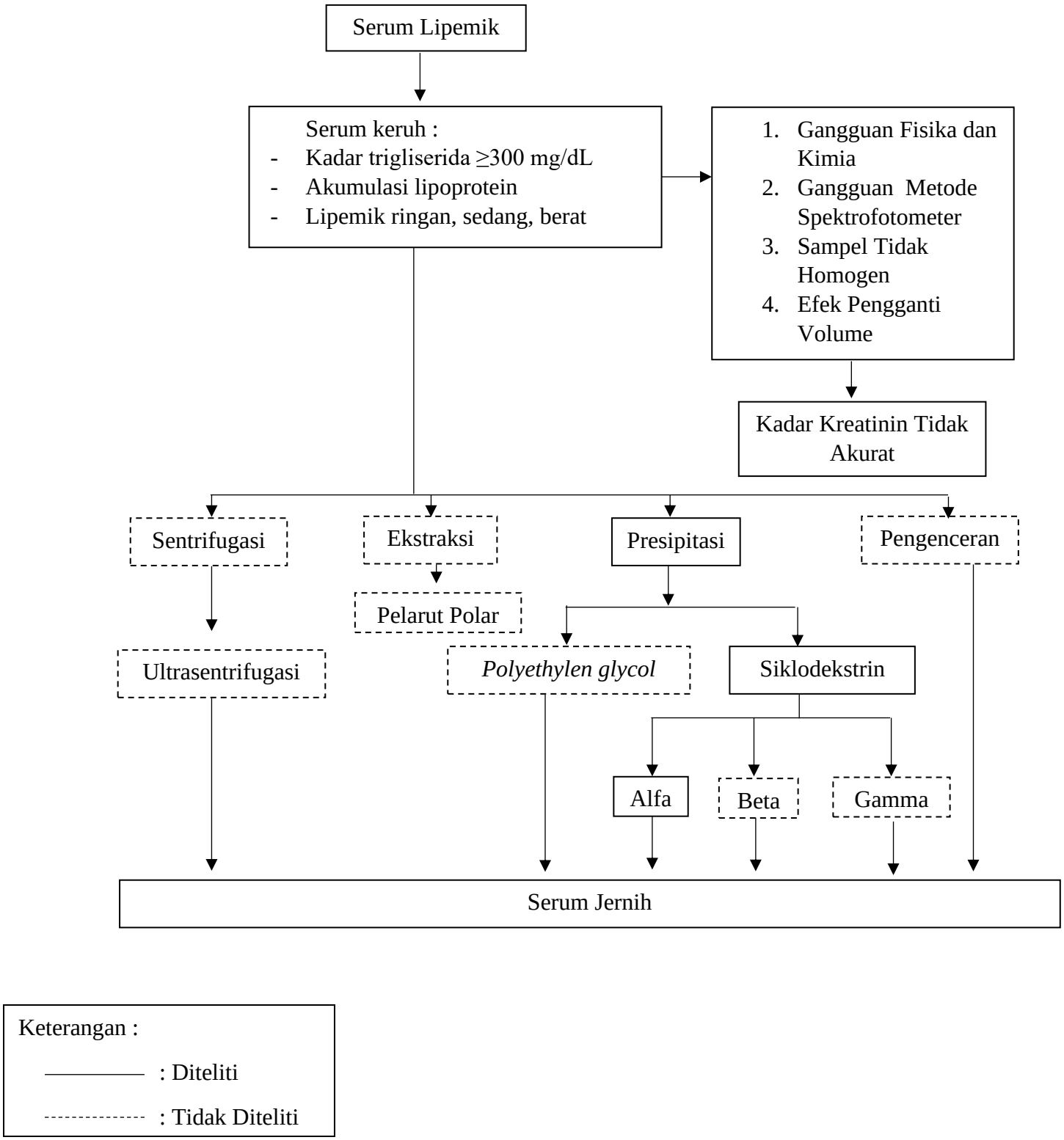
Uji kinetik tanpa deproteinisasi menurut metode Jaffe. Kreatinin membentuk kompleks berwarna oranye-merah dalam

larutan basa pikrat. Perbedaan absorbansi pada waktu yang tetap selama konversi sebanding dengan konsentrasi kreatinin dalam sampel (Dyasis, 2021).

c. Faktor Yang Mempengaruhi Kadar Kreatinin

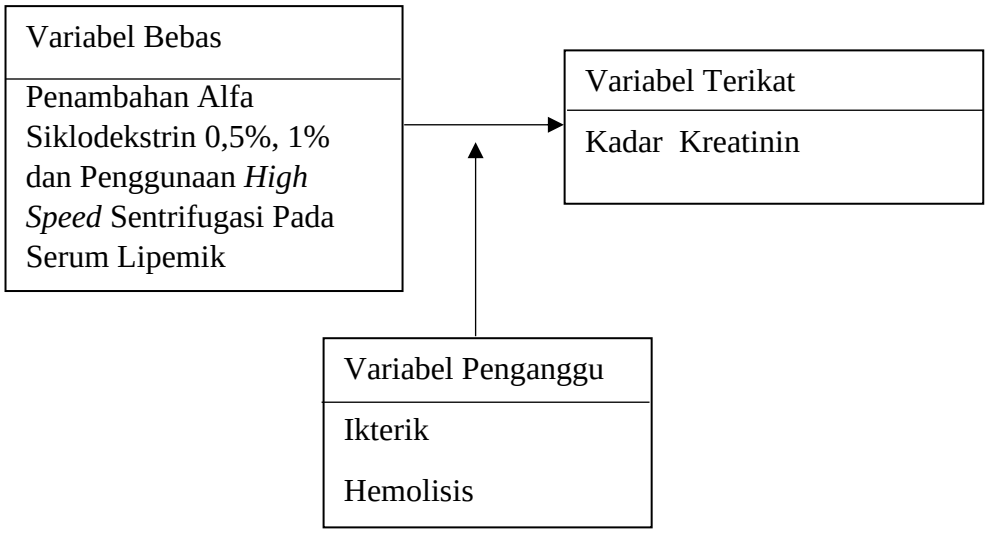
Beberapa faktor yang mempengaruhi kadar kreatinin dalam darah yaitu perubahan massa otot; diet kaya daging meningkatkan kadar kreatinin sampai beberapa jam setelah makan; obat-obatan seperti sefalosporin, aldacton, aspirin dan co-trimexazole dapat mengganggu sekresi kreatinin sehingga meningkatkan kadar kreatinin dalam darah; kenaikan sekresi tubulus dan dekstruksi kreatinin internal; usia dan jenis kelamin, usia yang tua memiliki kadar kreatinin lebih tinggi daripada orang muda serta laki-laki memiliki kadar kreatinin yang lebih tinggi daripada wanita (Sukandar,2006), riwayat penyakit pasien dapat mempengaruhi pemeriksaan kadar kreatinin seperti gagal ginjal, batu ginjal, infeksi ginjal, *rhabdomyolisis*, diabetes, hipertensi dan dehidrasi. Selain penyakit, dapat juga dikarenakan oleh kualitas serum yang tidak disimpan dengan baik seperti perubahan suhu saat pengiriman sampel.

B. Kerangka Teori



Gambar 6. Kerangka Teori

C. Kerangka Konsep



Gambar 7. Kerangka Konsep

D. Hipotesis

Ada pengaruh penambahan variasi alfa-siklodekstrin dalam serum lipemik terhadap hasil pemeriksaan kadar kreatinin.