

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Serum Lipemik

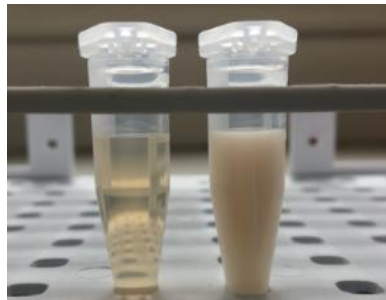
a. Pengertian Serum Lipemik

Serum adalah cairan kekuningan yang terpisah sewaktu darah membeku (Lestari, 2017). Serum merupakan bagian darah cair yang bebas dari sel darah dan fibrinogen karena protein dalam darah menjadi jaringan fibrin dan menumpuk bersama sel darah (Nurhidayanti, dkk., 2023). Serum diperoleh dengan membiarkan darah membeku pada suhu ruang selama 20-30 menit kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 5-15 menit. Serum akan terbentuk dan terpisah dari sel merah. Serum yang baik harus memenuhi syarat yaitu tidak terlihat merah dan keruh (lipemik) (Listyaningrum, 2022).

Serum lipemik merupakan serum yang keruh, berwarna putih seperti susu dikarenakan hiperlipidemia (peningkatan kadar lipid atau lemak di dalam darah) (Maulana, dkk. 2017). Lipemik adalah kekeruhan pada serum yang disebabkan karena akumulasi partikel lipoprotein (Nikolac, 2014). Serum lipemik yang baru dipisahkan terlihat seperti susu. Pada serum yang didinginkan, kadar kilomikron yang berlebihan akan mengapung di bagian atas sehingga tampak seperti lapisan krim. Kekeruhan merata pada serum yang

didinginkan menandakan adanya peningkatan kandungan VLDL (*Very Low Density Lipoprotein*). Terdapat beberapa pola kekeruhan serum yang berbeda, yaitu menurut (Larasati, 2022) sebagai berikut:

- 1) Kekeruhan *uniform* yaitu kekeruhan karena peningkatan VLDL tanpa kilomikron yang signifikan.
- 2) Kekeruhan “krim” di bagian atas suatu serum yang keruh menunjukkan adanya peningkatan kilomikron dan VLDL.
- 3) Kekeruhan “krim” di bagian atas suatu serum yang jernih menunjukkan adanya peningkatan kilomikron tanpa kelebihan VLDL.



Gambar 1. Serum Normal dan Serum Lipemik

Sumber: Tikhomirov, dkk., 2021

Terdapat beberapa tingkat kekeruhan berdasarkan kadar trigliserida dalam serum seperti 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	800-1.800	Berat

Sumber: Pambudi, 2017.

b. Penyebab Serum Lipemik

Lipemik disebabkan karena adanya akumulasi partikel lipoprotein (Nikolac, 2014). Lipoprotein terdiri dari partikel-partikel dengan ukuran yang berbeda. Lipoprotein berukuran paling besar adalah kilomikron yang diikuti oleh VLDL (*Very Low Density Lipoprotein*), LDL (*Low Density Lipoprotein*) dan HDL (*High Density Lipoprotein*) (Listyaningrum, 2022). Kondisi lipemik disebabkan oleh partikel lipoprotein berukuran besar seperti kilomikron atau VLDL dengan komponen utama lipid adalah trigliserida (Listyaningrum, 2022). Namun, Kumpulan partikel yang lebih kecil seperti LDL dan HDL dianggap tidak menyebabkan terjadinya lipemik (Sugiarti dan Sulistianingsih, 2021).

Pada tahap pra-analitik, penyebab utama serum lipemik adalah waktu pengambilan darah yang tidak memadai setelah pasien makan (Nikolac, 2014). Lipemik umumnya disebabkan karena konsumsi makanan dengan kandungan lemak yang tinggi (Larasati, 2022). Beberapa laboratorium mengedukasi pasien bahwa harus berpuasa

sebelum dilakukan pengambilan darah untuk pemeriksaan yang hasilnya dipengaruhi oleh asupan makanan (Nikolac, 2014).

Keadaan patologis pasien juga berpengaruh pada kekeruhan sampel karena adanya peningkatan kadar trigliserida. Beberapa kondisi yang berpengaruh antara lain diabetes melitus, hipotiroidisme, pankreatitis, pengobatan tertentu seperti inhibitor protease pada infeksi HIV, esterogen, penggunaan kontrasepsi serta penyalahgunaan alkohol (Castro, dkk., 2018).

c. Mekanisme Gangguan Lipemik

1) Gangguan Fisik dan Kimia

Akumulasi lipoprotein di dalam sampel berpengaruh pada analit yang diuji melalui mekanisme fisik dan kimia, seperti prosedur dengan prinsip elektroforesis dan kromatografi akibat adanya matriks lipoprotein (Larasati, 2022). Serum lipemik juga dapat mengganggu berbagai uji kekebalan non-spesifik. Lipoprotein juga berpotensi mengganggu reaksi imun (antigen-antibodi) dengan cara menutup tempat pengikatan antibodi. Gangguan tersebut dapat menyebabkan hasil meningkat palsu atau menurun palsu tergantung pada sifat reaksinya (Nikolac, 2014).

2) Gangguan dalam Metode Spektrofotometri

Serum lipemik mengganggu pemeriksaan dengan metode spektrofotometri, turbidimetrik atau nefelometrik

melalui hamburan atau penyerapan cahaya. Partikel kilomikron yang memiliki kepadatan paling kecil menyebabkan lapisan krim mengambang. Kekeruhan berpengaruh terhadap absorbansi cahaya dalam spektrofotometri di semua panjang gelombang sehingga menyebabkan nilai analisis tidak akurat (Amalia, 2022).

3) Ketidakhomogenan Sampel

Serum yang telah disentrifugasi, partikel-partikel lipoprotein terbagi menurut kepadatannya. Kilomikron dan VLDL yang kepadatannya rendah membentuk lapisan jelas di bagian atas tabung. Menurut polaritas plasma, konstituennya terbagi di antara lapisannya. Analit hidrofobik tersebar di fase lipid sehingga analit-analit yang larut dalam fase air (molekul kecil dan elektrolit) tidak akan ada di bagian atas tabung. Saat pemeriksaan, sebagian alat mengambil sampel di bagian atas untuk mencegah jarum masuk terlalu dalam di tabung. Hal tersebut berpotensi menurunkan konsentrasi elektrolit dan metabolit secara tidak akurat (Nikolac, 2014).

4) Efek Perpindahan Volume

Serum lipemik dapat menurunkan konsentrasi analit karena volume yang ditempati lipoprotein dalam serum masuk dalam perhitungan konsentrasi analit (Guder, 2015).

Plasma normal mengandung 92% air dan 8% lipid. Namun, pada sampel lipemik kadar lipidnya meningkat hingga 25%. Elektrolit yang tidak masuk ke dalam fase lipid kemudian masuk ke dalam fase air yang tinggal 75% dari sampel (Nikolac, 2014). Ketika serum lipemik diukur dengan fotometri langsung atau pengukuran tidak langsung menggunakan elektroda peka ion, kadar analit menjadi lebih rendah, berbeda dengan pengukuran potensiometri langsung (Guder, 2015). Hal ini dikarenakan adanya pengenceran yang tinggi sebelum analisis (Nikolac, 2014).

d. Cara Menghindari Serum Lipemik

Untuk menghindari terbentuknya serum lipemik, dapat dilakukan seperti berikut.

- 1) Pasien diharuskan berpuasa setidaknya 12 jam setelah konsumsi lipid hingga sebelum pengambilan spesimen darah.
- 2) Dilakukan pemberhentian pengobatan pada pasien penerima infus lipid parenteral untuk menghindari gangguan lipoprotein penyebab kekeruhan.

Apabila Tindakan tersebut telah dilakukan dan tetap didapatkan serum lipemik, penyebab kekeruhan lainnya perlu dicurigai (Larasati, 2022).

e. Penanganan Serum Lipemik

Penanganan serum lipemik dapat dilakukan dengan beberapa metode :

1) Sentrifugasi

Penanganan serum lipemik yang menjadi *gold standart* adalah sentrifugasi menggunakan *high speed* sentrifugasi atau ultrasentrifugasi. Ultrasentrifugasi dilakukan pada pemutaran dengan kecepatan 100.000 rpm hingga 2.000.000 rpm. Tetapi, pada kecepatan tersebut hanya akan berpengaruh apabila kekeruhan disebabkan oleh akumulasi lipoprotein dengan densitas tinggi yaitu kilomikron. Jika serum lipemik disebabkan oleh akumulasi VLDL maka *high speed* sentrifugasi dianggap kurang efektif (Nikolac, 2014). Tidak semua laboratorium memiliki alat ultrasentrifugasi karena biayanya yang tinggi (Castro, dkk. 2018).

2) Ekstraksi

Metode lain yang dapat digunakan dalam penanganan serum lipemik yaitu penggunaan pelarut polar. Namun, produk Lipoclear yang banyak diperjualbelikan untuk ekstraksi serum lipemik tidak dapat digunakan pada seluruh parameter pemeriksaan meskipun dianggap efisien dan tanpa peralatan khusus untuk penanganan serum lipemik (Nikolac, 2014). Ekstraksi menggunakan hidrokarbon terklorinasi flour sekarang tidak lagi direkomendasikan dikarenakan alasan perlindungan lingkungan (Larasati, 2022).

3) Presipitasi

Metode penanganan serum lipemik yang lain yaitu menggunakan cara presipitasi dengan Polietilen glikol dan Siklodekstrin. Pencampuran dengan bahan tersebut mengikat lipid pada serum. Serum disentrifugasi untuk mengendapkan partikel lipoprotein di bawah tabung sehingga didapatkan supernatant yang jernih (Nikolac, 2014).

Pada penelitian yang dilakukan Sujono (2016), serum lipemik yang ditambahkan flokulan Gamma-Siklodekstrin menjadi lebih jernih dibandingkan sebelum ditambahkan flokulan Gamma-Siklodekstrin sehingga dapat dijadikan sebagai alternatif dalam mengurangi kekeruhan pada serum. Bagi laboratorium satelit, metode ini cukup sederhana, efisien, dan efektif dari segi waktu, peralatan, dan biaya dibandingkan dengan metode lain. Reagen Gamma-Siklodekstrin aman dan stabil dalam larutan selama cukup lama.

4) Pengenceran

Metode menghilangkan lipid tidak diterima untuk pemeriksaan parameter analit yang tersebar di lapisan lipid. Oleh karena itu, pengukuran dapat dilakukan dengan pengenceran sampel lipemik pasien. Sampel dapat diencerkan hanya cukup untuk mengurangi gangguan kekeruhan pada serum. Namun, metode ini tidak dapat memastikan bahwa konsentrasi analit dalam

serum tetap berada dalam batas analisis (2 atau 3 kali uji) (Nikolac, 2014).

2. Flokulasi

Flokulasi adalah proses penggumpalan bahan terlarut, koloid dan tidak dapat mengendap dalam air. Flokulan merupakan suatu bahan yang digunakan untuk mendekatkan jarak antar partikel agar membentuk agregat yang cukup besar (flok) sehingga pengendapan terjadi lebih cepat (Turnip, 2020). Partikel dikumpulkan menjadi endapan mikro pada tahap pertama reaksi, dan kemudian endapan mikro dikumpulkan menjadi gumpalan makro yang mengendap dengan cepat (Djasmasari, dkk. 2022).

Flokulasi merupakan unit destabilisasi suspensi penambahan bahan flokulan sehingga diperoleh agregasi partikel atau biasa disebut flok. Sifat permukaan sel, konsentrasi sel, pH lingkungan, kekuatan ionik, jenis, dan dosis flokulan, serta pengadukan mempengaruhi parameter keberhasilan flokulasi. Sifat flokulasi murah, tidak beracun, efektif pada dosis rendah, dan terbarukan dan berkelanjutan (Turnip, 2020).

3. Siklodekstrin

a. Pengertian Siklodekstrin

Siklodekstrin juga dikenal sebagai *Cyloamylose*, *Cyclomaltose* dan *Schardinger dextrin* (Listyaningrum, 2022). Siklodekstrin merupakan produk dari degradasi enzimatis pati dan kelompok oligosakarida siklik dari unit D-glukopiranososa yang

terikat aktif secara optik melalui ikatan α -(1-4). Nomor unit monomer ditunjukkan dengan huruf Yunani: α - untuk 6 (α -CD atau sikloheksaamilosa), β - untuk 7 (β -CD atau sikloheptaamilosa), γ untuk 8 (γ -CD atau siklooktaamilosa), dan seterusnya (Gentili, 2019). Perbedaan ketiga kelompok siklodekstrin dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 2. Perbedaan Siklodekstrin

Sifat	α -CD	β -CD	γ -CD
Jumlah unit glukopiranososa	6	7	8
Berat molekul (g/mol)	972	1135	1297
Kelarutan dalam air pada suhu 25°C (% w/v)	14,5	1,85	23,2
Diameter luar (Å)	14,6	15,4	17,5
Diameter rongga (Å)	4,7-5,3	6,0-6,5	7,5-8,3
Tinggi molekul (Å)	7,9	7,9	7,9
Volume rongga (Å ³)	174	262	427

Sumber: Lestari, 2022

Siklodekstri merupakan molekul cincin yang kehilangan rotasi bebas pada ikatan unit *glucopyranose*. Hal tersebut dapat menyebabkan bentuk siklodekstrin tidak silinder, melainkan toroidal atau kerucut. Gugus hidroksil primer berada ditempat yang sempit, sedangkan gugus hidroksil sekunder berada ditempat yang lebar (Nadya, 2014).

Banyak penelitian telah dilakukan untuk mengetahui apakah siklodekstrin dapat digunakan untuk tujuan ekstraksi karena kemampuan untuk membentuk kompleks inklusi dan non-inklusi. Selain itu, larutan berair dari siklodekstrin alami telah digunakan sebagai pelarut untuk mengekstraksi analit yang diinginkan dan menghilangkan analit yang mengganggu (Gentili, 2019).

b. Mekanisme Pembentukan Kompleks Inklusi

Dalam pembentukan kompleks ini diawali dengan molekul *guest* dan molekul siklodekstrin yang mendekat, kemudian akan terjadi pemecahan struktur air dalam rongga siklodekstrin dan dilanjutkan dengan pengeluaran beberapa molekul dari rongga. Pemecahan struktur air didalam molekul obat yang masuk ke rongga siklodekstrin akan memindahkan molekul air kedalam larutan. Proses ini akan terjadi interaksi antara gugus fungsi molekul obat dengan gugus dalam rongga siklodekstrin dan menjadi pembentukan ikatan hydrogen antara molekul *guest* dan siklodekstrin. Kemudian akan dilanjutkan dengan rekontruksi struktur air disekeliling molekul obat yang tidak tertutup siklodekstrin (Nadya, 2014).

c. Manfaat Siklodekstrin

Siklodekstrin bermanfaat untuk mempermudah pembuatan obat dalam bentuk tablet. Siklodekstrin juga dapat meningkatkan stabilitas obat agar lebih tahan terhadap hidrolisis, oksidasi, panas dan garam logam. Selain itu siklodekstrin berfungsi untuk menstabilkan rasa makanan yang sudah disimpan dalam waktu lama (Fatmawati, 2014).

d. Gamma-Siklodekstrin

Nama lain dari Gamma-Siklodekstrin adalah gamma-CD, *Cyclooctaamylose* dan *Cyclomaltooctaose*. Gamma-Siklodekstrin merupakan sakarida siklik non-pereduksi yang memiliki 8 unit *D-glucopyranosyl* yang terikat oleh α -(1-4). Jenis siklodekstrin ini

diproduksi melalui proses *Cyclomaltodextrin glucanotransferase* (CGTase, EC 2.4.1.19) pada pati yang dihidrolisis yang kemudian dilakukan pemurnian. Terdapat beberapa cara pemurnian Gamma-Siklodekstrin diantaranya presipitasi kompleks Gamma-Siklodekstrin dengan senyawa makrosiklis dilanjutkan dengan ekstraksi dengan n-dekana dan penguapan pelarut; kristalisasi cairan induk menggunakan metode kromatografi dengan pertukaran ion dan filtrasi gel; pemisahan membran dengan ultrafiltrasi serta reverse osmosis.

Rumus kimia dari Gamma-Siklodekstrin yaitu $(C_6H_{10}O_5)_8$ dengan nomor C.A.S. 17465-86-0. Gamma-Siklodekstrin memiliki berat molekul 1297. Sifat Gamma-Siklodekstrin yaitu berbentuk padatan kristal berwarna hampir putih, tidak berbau, larut bebas dalam air serta paling sedikit larut dalam etanol (Food and Agriculture Organisation, 2011). Gamma-Siklodekstrin merupakan jenis siklodekstrin yang paling aman (tidak beracun) dibandingkan dengan Alfa-Siklodekstrin dan Beta-Siklodekstrin alami. Gamma-Siklodekstrin digunakan lebih banyak di banyak industri, terutama dalam industri makanan dan farmasi dibandingkan dengan α -siklodekstrin dan β -siklodekstrin. Hal ini dikarenakan Gamma-Siklodekstrin memiliki ukuran rongga internal yang lebih besar, kelarutan dalam air, dan bioavailabilitas yang lebih baik (Huling dkk, 2024).

4. Pemeriksaan Kolesterol

a. Pengertian Kolesterol

Kolesterol adalah lemak yang beredar di dalam darah seperti lilin dan diproduksi oleh hati yang diperlukan tubuh. Kolesterol termasuk golongan lipid yang tidak terhidrolisis dan merupakan sterol utama dalam tubuh manusia. Kolesterol merupakan unsur utama dalam lipoprotein plasma dan membrane plasma (Lestari dkk, 2020).

Kolesterol adalah zat alamiah berupa lemak yang terdapat di aliran darah atau tubuh yang dibutuhkan untuk pembentukan dinding sel dan sebagai bahan baku beberapa hormon, namun jika dikonsumsi dalam jumlah berlebihan dapat menyebabkan peningkatan kadar kolesterol dalam darah yaitu hiperkolesteromia (Hastuty, 2018).

Kolesterol adalah senyawa lemak kompleks yang 80% dihasilkan didalam tubuh (hati) dan 20% diluar tubuh (zat makanan). Cholesterol merupakan zat yang dibutuhkan oleh tubuh untuk membentuk dinding sel-sel dalam tubuh (Kurniadi dan Nurrahmi, 2014).

b. Manfaat Kolesterol

Kolesterol mempunyai beberapa fungsi pada tubuh, yaitu kolesterol adalah komponen dari semua dinding sel yang mengandung lesitin dan zat lain. Kolesterol dalam hati digunakan sebagai bahan membentuk empedu. Asam ini bersama dikeluarkan menuju usus kecil serta berfungsi untuk menyiapkan zat lemak agar mudah diserap oleh dinding usus (Musfirah, 2017).

c. Jenis-jenis Kolesterol

Kolesterol yang diproduksi dalam tubuh terdiri atas :

1. Kolesterol LDL (*Low Density Lipoprotein*)

Kolesterol LDL sering disebut sebagai kolesterol jahat karena sering mengangkut kolesterol paling banyak dalam darah. Tingginya kadar LDL menyebabkan pengendapan kolesterol dalam arteri. Kolesterol yang berlebihan dalam darah akan mudah melekat pada dinding pembuluh darah (Diko R. dan Indasah, 2021).

2. Kolesterol HDL (*High Density Lipoprotein*)

Kolesterol HDL disebut kolesterol baik karena mengangkut kolesterol lebih sedikit dari kolesterol LDL. HDL dapat membersihkan kelebihan kolesterol dari dinding pembuluh darah dengan memangkut Kembali ke hati. Kolesterol HDL mempunyai kandungan lemak lebih sedikit

dan mempunyai kepadatan tinggi (Diko R. dan Indasah, 2021).

3. Trigliserida

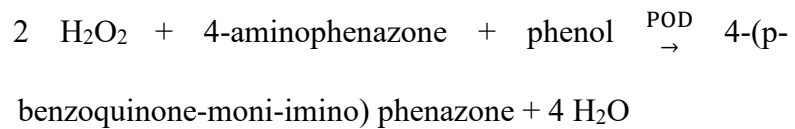
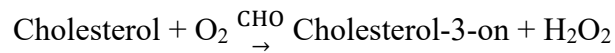
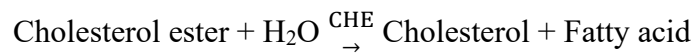
Trigliserida merupakan satu jenis lemak dalam darah dan berbagai organ dalam tubuh. Meningkatnya kadar trigliserida pada darah dapat menyebabkan kadar kolesterol meningkat. Faktor yang mempengaruhi kadar trigliserida yaitu kegemukan, mengkonsumsi alkohol dan makanan berlemak. Peningkatan trigliserida dapat menyebabkan risiko terjadinya penyakit jantung dan stroke (Diko R. dan Indasah, 2021).

d. Metode Pemeriksaan Kolesterol

1. Metode CHOD-PAP (*Cholesterol Oxidase Diaminase Peroksidase Aminoantipyrin*)

Kolesterol ester dipecah menjadi kolesterol dan asam lemak bebas oleh enzim kolesterol esterase. Kolesterol yang terbentuk diubah menjadi kolesten-4-one-3 dan hidrogen peroksida oleh enzim kolesterol oksidase. Hidrogen peroksida yang dibentuk oleh kolesterol peroksidase beserta fenol dan 4-aminoantipirin dapat membentuk quinoneimine yang berwarna merah muda (Anipah dkk, 2023).

Prinsip reaksi pemeriksaan kadar kolesterol metode CHOD-PAP menurut (Listyaningrum, 2022) adalah :



2. Metode POCT (*Point Of Care Testing*)

POCT adalah pemeriksaan laboratorium yang sederhana menggunakan sampel darah dengan jumlah sedikit dan dapat dilakukan diluar laboratorium yang hasilnya keluar lebih cepat. Kelebihan metode POCT adalah reagen yang terjangkau, sampel yang digunakan sedikit dan hasil dapat diketahui lebih cepat. Kekurangan metode POCT adalah akurasi dan presisi masih kurang baik, jenis pemeriksaan terbatas dan proses *quality control* belum baik (Gusmayani dkk, 2021).

e. Nilai normal kadar kolesterol

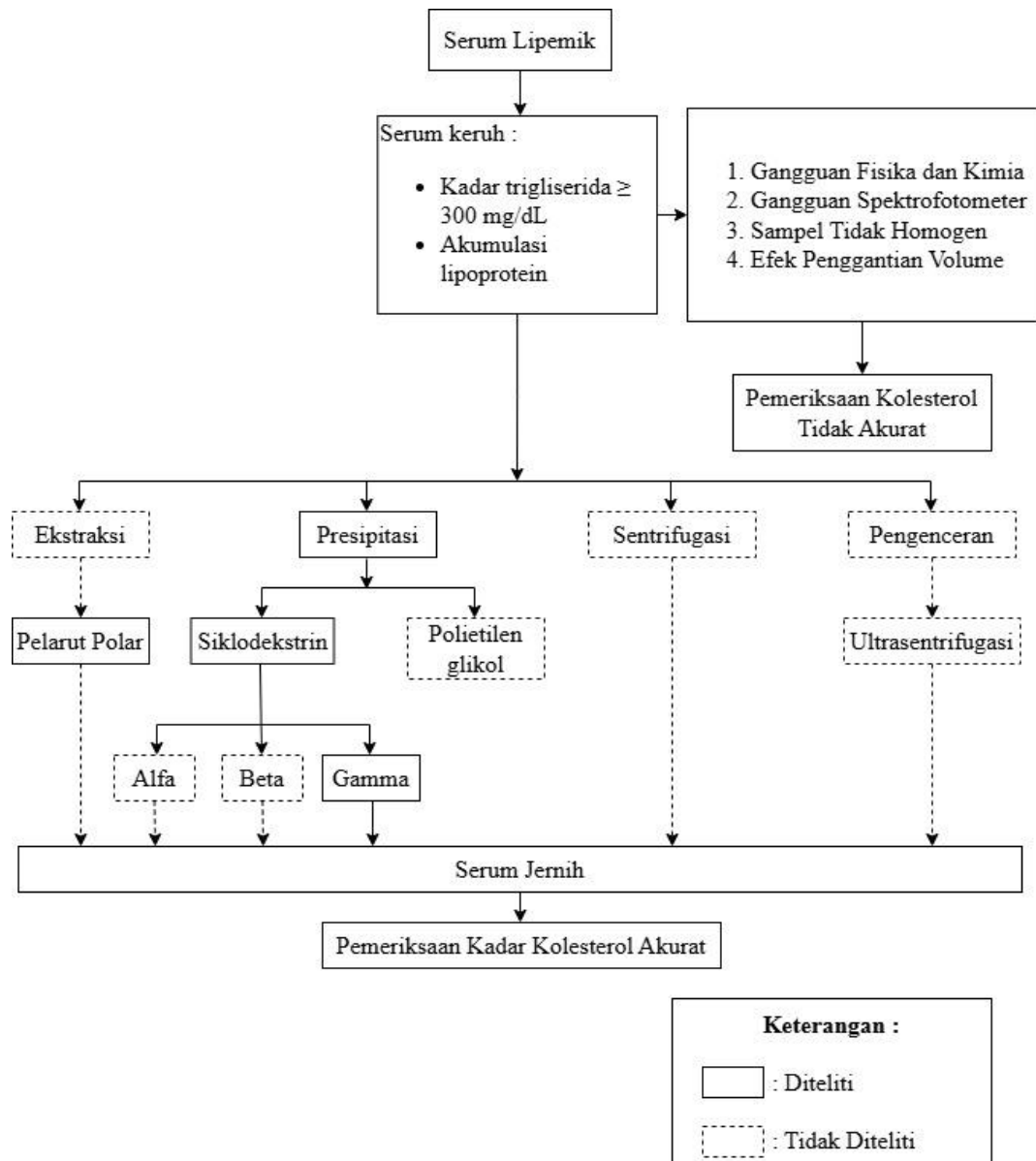
Tabel 3. Nilai Rujukan Kadar Kolesterol

Klasifikasi	Kadar Kolesterol (mg/dl)
Normal	< 200 mg/dl
Batas Resiko Tinggi	200 – 239 mg/dl
Resiko Tinggi	>240 mg/dl

Sumber : Kurniadi dan Nurrahmi, 2014.

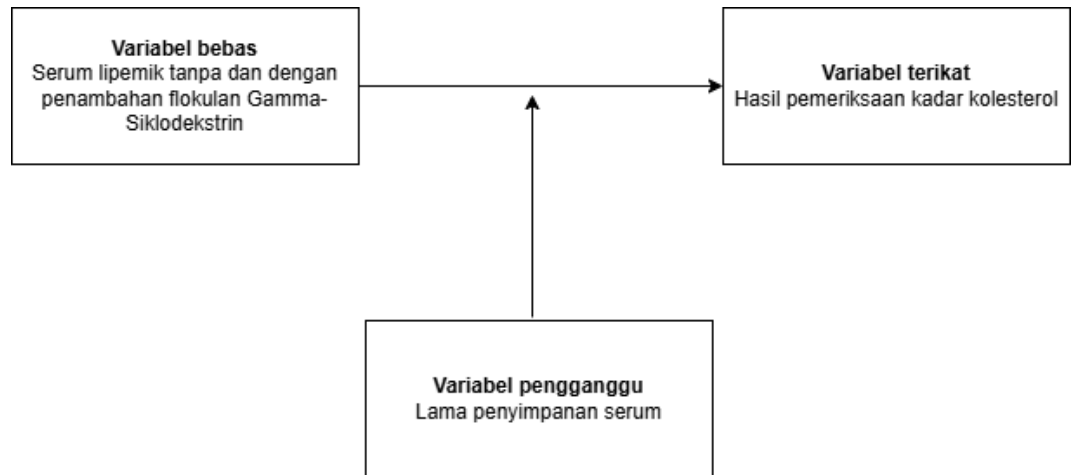
Kadar kolesterol tinggi (>240 mg/dl) dapat menimbulkan masalah pada tubuh yang disebut hiperkolesterolemia (Kurniadi dan Nurrahmi, 2014).

B. Kerangka Teori



Gambar 2. Kerangka Teori

C. Hubungan Antar Variabel



Gambar 3. Hubungan Antar Variabel

D. Hipotesis

Ada perbedaan kadar kolesterol serum lipemik tanpa dan dengan penambahan flokulan Gamma-Siklodekstrin konsentrasi 20% inkubasi suhu 23°C.