

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

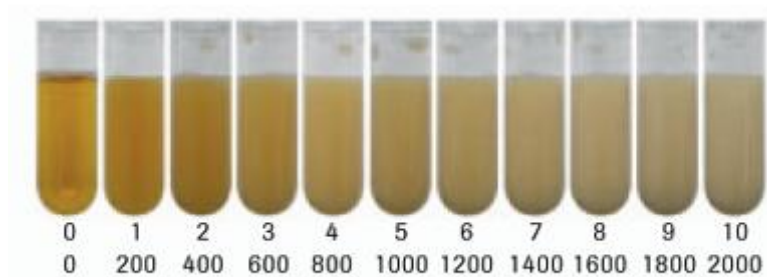
1. Serum Lipemik

a. Pengertian Serum Lipemik

Serum adalah bagian cair darah yang tidak mengandung fibrinogen (Vignoli, dkk., 2022). Serum diperoleh dengan membiarkan darah membeku pada suhu kamar selama 20–30 menit dan sampel kemudian disentrifugasi 5–15 menit pada kecepatan 3.000 rpm. Proses ini membantu memisahkan bagian seluler darah dari bagian cairnya sehingga darah terpisah menjadi tiga lapisan yaitu eritrosit, *buffy coat* dan serum. Untuk keperluan pemeriksaan laboratorium, serum yang ideal adalah yang tidak hemolisis, tidak lipemik dan tidak ikterik (Permenkes, 2013).

Serum lipemik adalah serum yang tampak keruh dengan warna menyerupai putih susu. Kekeruhan ini terutama disebabkan oleh penumpukan partikel lipoprotein berukuran besar seperti kilomikron dan *very low-density* lipoprotein (VLDL) serta berkaitan dengan tingginya kadar trigliserida (Sugiah, dkk., 2023). Lipoprotein lain seperti *low density* lipoprotein (LDL) dan *high density* lipoprotein (HDL) umumnya tidak dapat menimbulkan kekeruhan dan bukan penyebab utama terjadinya lipemia pada serum. Dalam praktik laboratorium, sampel lipemik kerap tidak terhindarkan karena kenaikan lipid serum sering

merupakan manifestasi sekunder dari kondisi klinis lain, seperti diabetes melitus, penyakit ginjal kronis dan pankreatitis (Fernández-Prendes, dkk., 2023). Serum lipemik ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Serum Lipemik
Sumber: Roche, 2019.

b. Penyebab Serum Lipemik

1) Puasa Tidak Adekuat Sebelum Pengambilan Sampel

Pemeriksaan laboratorium yang dilakukan segera setelah mengonsumsi makanan rentan memicu kesalahan pra-analitik. Hal ini sering kali terlihat dari sampel darah yang menjadi keruh atau *turbid*. Fenomena ini disebabkan oleh peningkatan konsentrasi lipoprotein, terutama *chylomicron*, yang signifikan beberapa jam setelah makan, serta akumulasi sisa partikelnya yang berlangsung hingga 12 jam. Gangguan akurasi hasil juga diperburuk oleh masuknya zat makanan seperti lemak, glukosa dan kalsium (Rifai, dkk., 2019).

2) Hipertrigliseridemia

Hipertrigliseridemia adalah keadaan meningkatnya kadar trigliserida dalam sirkulasi darah. Secara etiologis, kondisi ini dibedakan

menjadi dua, yaitu hipertrigliseridemia primer dan hipertrigliseridemia sekunder. Hipertrigliseridemia primer adalah kelainan yang berasal dari faktor genetik sehingga proses metabolisme trigliserida menjadi terganggu. Keadaan ini umumnya dijumpai pada klasifikasi Fredrickson tipe I, tipe IV dan tipe V. Sedangkan hipertrigliseridemia sekunder adalah gangguan metabolisme lemak dan protein yang timbul akibat penyakit atau faktor lain yang mendasari. Penyebab yang paling sering meliputi diabetes melitus tipe 2, obesitas, konsumsi alkohol, sindrom metabolik, serta penggunaan obat tertentu dalam waktu lama seperti diuretik, beta-blocker dan terapi estrogen (Santos-Baez dan Ginsberg, 2020).

Berdasarkan kadar trigliserida, tingkat kelipemikan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Tingkat Lipemik

Tingkat Lipemik	Kadar Trigliserida (mg/dL)
Lipemik rendah	300 – 499
Lipemik sedang	500 – 799
Lipemik tinggi	800 – 1800

Sumber: Pambudi, dkk., 2017.

c. Mekanisme Gangguan Serum Lipemik

Mekanisme gangguan dari serum lipemik pada pemeriksaan laboratorium dapat dikelompokkan menjadi tiga aspek utama, yaitu:

1) Gangguan optik pada metode spektrofotometri

Kekeruhan pada serum lipemik menyebabkan gangguan signifikan pada pemeriksaan laboratorium yang menggunakan metode

fotometri. Gangguan ini terutama disebabkan oleh keberadaan partikel lipoprotein berukuran besar, seperti kilomikron dan VLDL, yang mampu menyebarkan cahaya dalam lintasan optik alat. Akibatnya, proporsi cahaya yang mencapai detektor pada berbagai panjang gelombang pengukuran menjadi tidak akurat. Dengan demikian, nilai absorbansi yang terbaca dapat menjadi lebih tinggi sehingga tidak mencerminkan konsentrasi analit yang sebenarnya (Soleimani, dkk., 2020).

2) Gangguan akibat ketidakhomogenan sampel

Sampel darah harus disentrifugasi terlebih dahulu untuk menghasilkan serum. Setelah disentrifugasi, partikel lipoprotein akan terdistribusi berdasarkan densitasnya, di mana kilomikron dan VLDL yang memiliki densitas rendah akan mengapung di lapisan atas serum dan membentuk lapisan yang berbeda. Analit hidrofobik akan terdistribusi di fase lipid, sedangkan analit yang larut air, termasuk molekul kecil dan elektrolit, tidak ditemukan di lapisan atas (fase lipid). Oleh karena itu, pengukuran yang mengambil sampel dari lapisan atas dapat menghasilkan nilai elektrolit dan metabolit lain yang larut dalam air menjadi rendah palsu (Nikolac, 2014).

3) Gangguan akibat efek perpindahan volume

Serum lipemik memiliki kandungan lipid yang jauh lebih tinggi dibandingkan dengan serum normal, sehingga proporsi air di dalamnya menurun. Pada kondisi ini, konsentrasi lipid dalam serum

dapat meningkat hingga 25%, sementara serum normal hanya mengandung sekitar 8% lipid dan 92% air (Nikolac, 2014). Efek penurunan volume air (*volume displacement effect*) menyebabkan pengenceran semu pada elektrolit karena analisis laboratorium didasarkan pada total volume serum, bukan hanya pada fase airnya. Oleh karena itu, kadar elektrolit yang terukur pada sampel lipemik seringkali tampak lebih rendah dibandingkan nilai sebenarnya (Prendes, dkk., 2023).

d. Cara Menghindari Serum Lipemik

Serum lipemik dapat dihindari dengan melakukan dua cara berikut:

- 1) Pasien diharuskan berpuasa minimal 12 jam setelah mengonsumsi makanan atau minuman yang mengandung lemak sebelum dilakukan pengambilan sampel darah.
- 2) Pasien yang menerima infus parenteral lipid, diperlukan penghentian pengobatan selama 8 jam sebelum dilakukan pengambilan sampel darah (WHO, 2002). Apabila serum tetap keruh setelah perlakuan di atas, maka penyebab lipemia lain perlu dicurigai (Soleimani, dkk., 2020).

e. Penanganan Serum Lipemik

Untuk mengurangi pengaruh kekeruhan terhadap hasil pemeriksaan, serum lipemik dapat ditangani menggunakan beberapa metode, antara lain:

1) Sentrifugasi

Pedoman CLSI menyatakan bahwa ultrasentrifugasi merupakan standar emas untuk menghilangkan lipemia karena paling efektif memisahkan fraksi lipid penyebab kekeruhan (Soleimani, dkk., 2020). Dalam praktik, percepatan sentrifugal (RCF) yang lazim dirujuk adalah $\geq 40.000 \times g$ selama setidaknya 30 menit (Lippi dan Franchini, 2013), sedangkan “*true ultracentrifugation*” umumnya berada pada kisaran $\geq 100.000 \times g$ tergantung jenis rotor dan instrumen (Prendes, dkk., 2023). Mekanismenya ialah pemisahan kilomikron dan VLDL melalui sedimentasi berkecepatan sangat tinggi sehingga supernatan menjadi jernih dan siap diuji. Kelemahannya meliputi kebutuhan alat khusus yang mahal, keterbatasan ketersediaan, serta waktu proses yang lama.

High speed sentrifugasi merupakan salah satu alternatif penanganan serum lipemik yang telah didukung oleh berbagai studi. Menurut World Health Organization (2002), kecepatan yang dapat digunakan untuk menghilangkan kekeruhan pada serum lipemik adalah kurang dari 20.000 rpm dengan durasi hingga 60 menit. Perlakuan langsung dalam satu putaran yang panjang hingga sekitar 60 menit berisiko menimbulkan hemolisis dan artefak analit sehingga kondisi ekstrem ini tidak dianjurkan (Cadamuro, dkk., 2017). Studi oleh Castro, dkk. tahun 2018 dan Solé-Enrech, dkk.

tahun 2023 menyimpulkan bahwa pengaturan $10.000 \times g$ selama 15 menit dapat menggantikan ultrasentrifugasi untuk banyak parameter kimia klinik tanpa perbedaan yang melampaui batas interferensi klinis. Akan tetapi, pada tingkat lipemik sedang hingga berat tetap diperlukan pengulangan sentrifugasi hingga sampel menjadi jernih (Prendes, dkk., 2023).

2) Presipitasi

Presipitasi merupakan salah satu metode yang digunakan untuk mengurangi kekeruhan pada serum lipemik melalui pembentukan endapan menggunakan bahan tambahan tertentu seperti presipitan atau flokulan. Proses ini terjadi ketika suatu zat ditambahkan ke dalam sampel sehingga partikel-partikel lemak terpisah dari fase cair dan membentuk endapan yang dapat dipisahkan dengan mudah. Presipitasi menjadi alternatif penanganan ketika metode fisik seperti sentrifugasi tidak sepenuhnya menghilangkan partikel lipid besar. Teknik ini membantu memperoleh serum yang lebih jernih sehingga hasil pemeriksaan laboratorium menjadi lebih akurat (Nikolac, 2014).

2. Flokulan

a. Pengertian Flokulan

Flokulan adalah bahan yang ditambahkan untuk memicu proses flokulasi, yaitu menyatukan partikel-partikel halus menjadi partikel yang lebih besar (Sumarno, dkk., 2006). Fungsi flokulan ialah

menggabungkan mikroflok hasil koagulasi menjadi makroflok sehingga lebih mudah mengendap (Puspitasari dan Hadi, 2014). Selain itu, flokulan bekerja dengan menetralkan muatan atau menjembatani partikel untuk membentuk ikatan antarmuka yang kuat dan menghasilkan flok yang stabil. Dengan demikian, istilah “flokulan” merujuk pada aditif proses yang mempercepat pembentukan flok untuk menghasilkan fase cair yang lebih jernih dan siap dianalisis (Yang, dkk., 2016).

b. Jenis-Jenis Flokulan

1) Flokulan anorganik

Flokulan anorganik mencakup garam-garam logam multivalen dan bentuk terpolimerisasinya yang menetralkan muatan partikel koloid sehingga partikel saling menempel dan membentuk flok. Senyawa yang sering digunakan antara lain aluminium sulfat ($\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$), poli-aluminium klorida (PAC), feri klorida (FeCl_3), fero sulfat, feri sulfat dan poli-fero sulfat (PFS). Mekanisme utamanya adalah destabilisasi muatan permukaan sehingga kontak antarpadatan meningkat, diikuti pembesaran flok yang kemudian dapat dipisahkan (Yang, dkk., 2016; Rohana dan Irwanto, 2023).

2) Flokulan organik

Flokulan organik bekerja melalui penetralan muatan, mekanisme *bridging*, atau kombinasi keduanya, sehingga

partikel teragregasi menjadi flok yang dapat dipisahkan (Yang, dkk., 2016). Secara garis besar, flokulan organik diklasifikasikan menjadi dua jenis sebagai berikut.

a) Flokulan organik sintetis

Flokulan organik sintetis terdiri atas polimer rantai panjang yang dirancang untuk merangkaikan partikel yang telah terdestabilisasi sehingga partikel saling menempel kuat dan membentuk flok berukuran lebih besar. Contoh yang paling umum adalah poliakrilamida (PAM) dalam bentuk kationik, anionik, atau nonionik, termasuk berbagai turunannya yang disesuaikan dengan sifat medium seperti pH, kekuatan ionik, viskositas dan tingkat lipemia (Yang, dkk., 2016).

b) Flokulan organik alami (bioflokulan)

Bioflokulan berasal dari biopolimer yang tersedia luas dan umumnya bersifat biodegradabel serta tidak toksik. Mekanisme kerjanya serupa dengan flokulan organik sintetis, yaitu meningkatkan peluang kontak dan pembentukan ikatan antartikel sehingga terbentuk flok yang stabil dan tidak mudah terdispersi kembali. Contoh yang sering digunakan antara lain kitosan (turunan kitin), pati (*starch*) dan selulosa. Dalam beberapa kajian, bioflokulan juga mencakup polisakarida yang dihasilkan oleh mikroorganisme seperti bakteri dan alga. Bioflokulan

sering dipilih ketika dibutuhkan bahan bantu yang lebih ramah lingkungan tanpa mengurangi efektivitas pembentukan flok (Yang, dkk., 2016).

c. Perbandingan Kelebihan dan Kekurangan Flokulan

Perbandingan kelebihan dan kekurangan flokulan dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Perbandingan Kelebihan dan Kekurangan Flokulan

Flokulan kitosan	Kelebihan: Ramah lingkungan, biaya lebih murah dan tersedia luas di Indonesia
Flokulan organik lain	Kekurangan: Biaya lebih mahal dan tidak tersedia luas di Indonesia
Flokulan anorganik	Kekurangan: Tidak ramah lingkungan

Sumber: Yang, dkk., 2016.

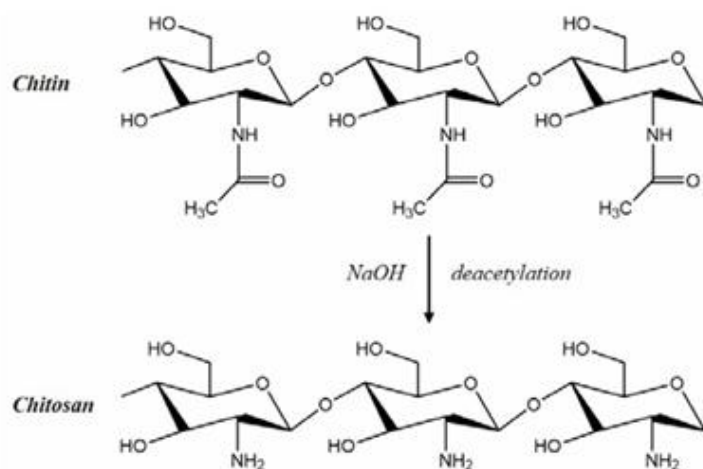
d. Kitosan

1) Pengertian Kitosan

Kitosan dihasilkan dari deasetilasi kitin oleh Charles Rouget pada tahun 1859 dan istilah “*chitosan*” diperkenalkan oleh Felix Hoppe-Seyler pada tahun 1894 (Rinaudo dan Pérez, 2019). Bahan ini banyak dimanfaatkan sebagai flokulan, bahan balut luka, penguat kertas, penghantar obat dan gen, serta matriks imobilisasi biomolekul. Kitosan bersifat biokompatibel dan dapat meningkatkan permeabilitas membran. Karakteristik pentingnya meliputi kemampuan membentuk membran, nontoksik dan mudah diterima jaringan, adhesi yang baik

(mucoadhesif), berbiaya rendah, kekuatan mekanik yang memadai, serta stabilitas yang baik (Nakorn, 2008).

Kitosan ($C_6H_{11}NO_4$)_n merupakan polisakarida linear yang memiliki gugus amino ($-NH_2$) dan hidroksil ($-OH$) reaktif sehingga mampu berikatan atau mengompleks berbagai ion logam transisi. Bahan ini umumnya diperoleh dari kitin, yaitu biopolimer alami yang tersusun atas unit N-asetil-2-amino-2-deoksi-D-glukosa dengan ikatan $\beta(1\rightarrow4)$, kemudian mengalami deasetilasi secara enzimatik atau kimia (lihat Gambar 2) (Imtihani, dkk., 2020). Kitosan berbentuk serpihan atau serbuk padat berwarna putih, tidak berbau dan tidak berasa. Kitosan larut dalam asam encer seperti asam format dan asam asetat tetapi tidak larut dalam air, sedangkan sejumlah turunannya yang telah disubstitusi, seperti karboksimetil kitosan, dirancang agar mudah larut dalam air (Li, dkk., 2020).



Gambar 2. Struktur Kitosan
Sumber: Imtihani, dkk., 2020.

2) Mekanisme Kitosan sebagai Flokulan

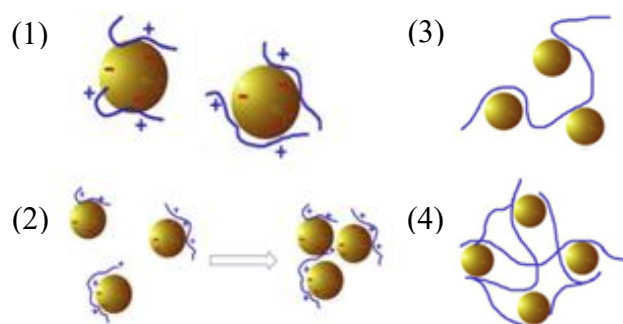
Kitosan dapat bekerja melalui beberapa mekanisme flokulasi utama yang saling melengkapi, antara lain:

- a) *Simple charge neutralization* yaitu penetralan muatan permukaan disertai penipisan lapisan ganda listrik sehingga gaya tolak-menolak melemah. Pada tahap *simple charge neutralization*, muatan negatif partikel koloid ($-\text{PO}_3^{2-}$ atau $-\text{COO}^-$) dinetralkan oleh gugus amina kitosan yang bermuatan positif ($-\text{NH}_3^+$) sehingga gaya tolak-menolak antarpartikel hilang dan partikel lebih mudah bergabung membentuk flok.
- b) *Charge patching* yaitu kondisi muatan permukaan yang tidak merata sehingga sebagian area belum ternetralisasi dan muncul “patch” bermuatan berlawanan. Area yang bermuatan berlawanan di dua partikel bisa saling tarik-menarik lewat *patch* tersebut, sehingga mudah menggumpal. Mekanisme *charge patching* terjadi ketika kitosan menempel tidak merata di permukaan partikel dan membentuk area bermuatan berbeda yang saling tarik-menarik, menghasilkan flok yang lebih padat.
- c) *Bridging* yaitu penggumpalan melalui rantai polimer berukuran panjang yang teradsorpsi pada beberapa partikel sekaligus sehingga menghubungkan (menjembatani) flok

primer menjadi flok besar. Proses *bridging* melibatkan rantai panjang kitosan yang mengait beberapa partikel sekaligus melalui interaksi fisik dan elektrostatik, membentuk jembatan antartikel yang stabil.

- d) *Sweeping* yaitu penyapuan atau penjebakan fisik partikel-partikel kecil oleh massa flok/endapan yang terbentuk di dalam cairan, sehingga partikel ikut terjatuh lalu mengendap bersama. *Sweeping* berlangsung ketika kitosan membentuk endapan yang menangkap partikel koloid tersuspensi di sekitarnya hingga ikut mengendap bersama fase padat.

Kombinasi dari keempat mekanisme ini membuat kitosan mampu menurunkan kestabilan partikel dan mempercepat pembentukan flok yang mudah dipisahkan dari larutan (Yang, dkk., 2016). Mekanisme kitosan sebagai flokulan dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Mekanisme Kitosan sebagai Flokulan
 (1) *Simple charge neutralization*. (2) *Charge patching*.
 (3) *Bridging*. (4) *Sweeping*.
 Sumber: Yang, dkk., 2016.

Selain mekanisme di atas, menurut Muxika, dkk. (2017) kitosan juga memiliki segmen nonpolar yang mendukung terjadinya interaksi hidrofobik dengan lemak, sehingga penggabungan partikel makin efektif.

3. Glukosa

a. Pengertian Glukosa

Glukosa adalah hasil akhir metabolisme karbohidrat dan menjadi sumber energi utama bagi makhluk hidup. Glukosa darah merupakan gula yang bersirkulasi dalam aliran darah, sedangkan kelebihanannya disimpan sebagai glikogen di hati serta otot rangka. Kadar glukosa dijaga oleh hormon pankreas, terutama insulin dan glukagon, agar tetap seimbang. Insulin meningkatkan permeabilitas membran sel sehingga glukosa lebih mudah masuk ke dalam sel, sedangkan glukagon menstimulasi glikogenolisis, yakni pemecahan glikogen di hati kembali menjadi glukosa (Kee, 2014).

Kadar glukosa darah dibedakan menjadi dua keadaan utama, yaitu hiperglikemia dan hipoglikemia. Hiperglikemia dapat terjadi karena kelebihan asupan karbohidrat atau gangguan pemanfaatan glukosa. Beberapa tanda dan gejalanya meliputi poliuria, polidipsia, penglihatan kabur, rasa lemah dan penurunan berat badan. Sedangkan hipoglikemia terjadi ketika ketersediaan glukosa tidak mencukupi. Tanda dan gejalanya antara lain berkeringat, tremor, palpitasi atau takikardia, gelisah, pucat, rasa dingin, gugup, rasa

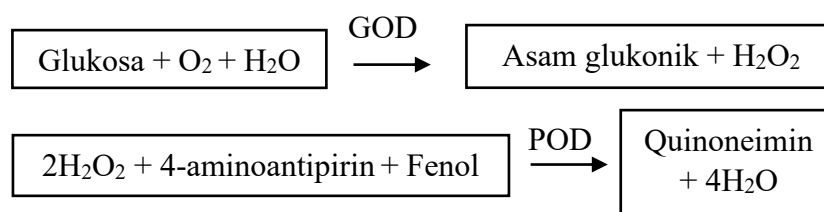
lapar, gangguan penglihatan, gangguan daya ingat, hingga penurunan kesadaran (PERKENI, 2021).

Menurut pedoman Perhimpunan Endokrinologi Indonesia tahun 2021, diagnosis diabetes melitus ditegakkan bila salah satu kriteria berikut terpenuhi: glukosa darah puasa ≥ 126 mg/dL, glukosa 2 jam setelah Tes Toleransi Glukosa Oral ≥ 200 mg/dL, glukosa darah sewaktu ≥ 200 mg/dL dengan gejala klasik maupun krisis hiperglikemia, atau HbA1c $\geq 6,5$ persen dengan metode tersertifikasi. Sepanjang hari kadar glukosa dapat berubah dan umumnya meningkat setelah makan lalu kembali ke rentang normal sekitar dua jam kemudian. Setelah puasa semalaman, nilai glukosa pagi hari yang dianggap normal berada pada kisaran 70–99 mg/dL. Dua jam setelah mengonsumsi makanan atau minuman yang mengandung gula atau karbohidrat, kadar glukosa normal berada di bawah 140 mg/dL.

b. Metode Pemeriksaan Glukosa

Standar pengukuran kadar glukosa menurut World Health Organization (WHO) dan International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) adalah metode enzimatik kolorimetrik GOD-PAP (Glucose Oxidase–Peroxidase Aminoantipyrine Phenol). Pada metode ini, glukosa dioksidasi oleh enzim glukosa oksidase menjadi asam glukonat dan hidrogen peroksida. Hidrogen peroksida kemudian bereaksi dengan fenol dan 4-aminoantipirin dalam

katalisis peroksidase, menghasilkan kromogen quinoneimine berwarna ungu hingga merah muda. Intensitas warna diukur secara fotometri dan berbanding lurus dengan konsentrasi glukosa dalam sampel (Kepmenkes, 2010). Reaksi kimia GOD-PAP ditunjukkan pada Gambar 4.



Gambar 4. Reaksi Kimia GOD-PAP

Sumber: Kepmenkes, 2010.

c. Hubungan Serum Lipemik dengan Pemeriksaan Glukosa

Serum lipemik terbukti mengganggu pengukuran glukosa berbasis spektrofotometri (metode enzimatik GOD-PAP) melalui hamburan cahaya sehingga menghasilkan bias pada hasil uji (ArulVijayaVani, dkk., 2022; Soleimani, dkk., 2020). Penelitian tersebut menegaskan bahwa metode spektrofotometri mudah terpengaruh oleh kekeruhan. Dalam praktik, pabrikan seperti Genuine Biosystem menetapkan batas interferensi untuk berbagai parameter pengukuran. Pada uji glukosa metode GOD/POD, kadar trigliserida hingga 500 mg/dL dinyatakan tidak menimbulkan gangguan bermakna, sehingga ketika kadarnya melampaui ambang tersebut, terutama pada lipemia sedang hingga berat, hasil glukosa berisiko menyimpang dari nilai sebenarnya. Dengan demikian, pedoman CLSI EP07 tahun 2018

merekomendasikan penilaian serta penanganan lipemia pada sampel supaya hasil glukosa tetap akurat.

d. Nilai Rujukan Kadar Glukosa

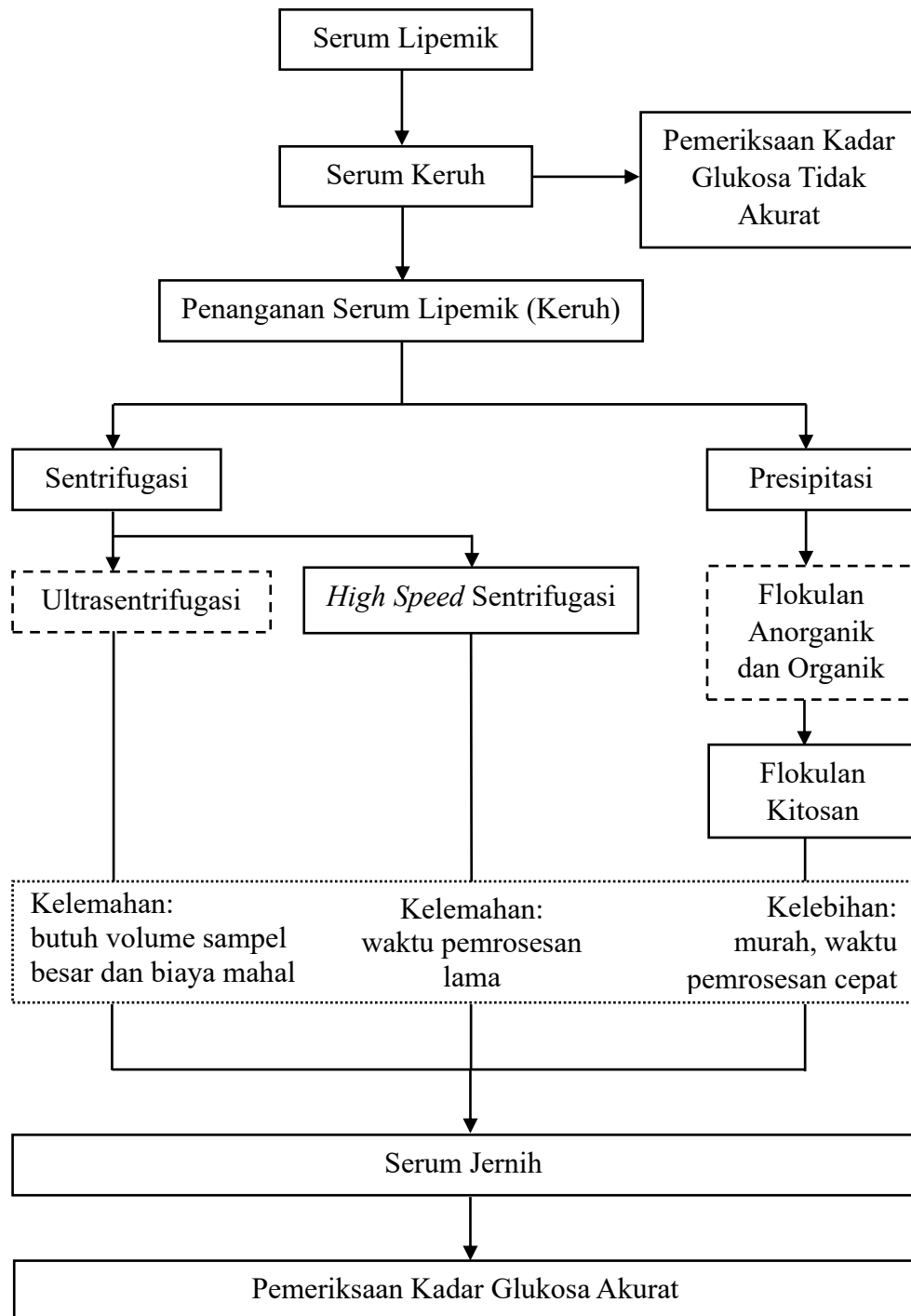
Nilai rujukan kadar glukosa ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Nilai Rujukan Kadar Glukosa

Gula Darah Puasa (GDP)	74-106 mg/dL
Gula Darah 2 Jam Setelah Makan (G2JPP)	<120 mg/dL

Sumber: Kepmenkes, 2010.

B. Kerangka Teori



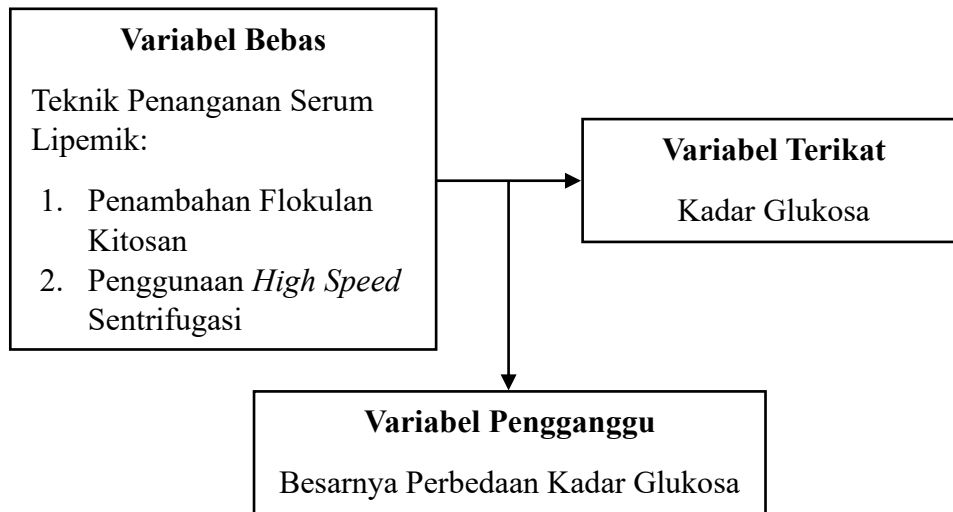
Gambar 5. Kerangka Teori

Keterangan:

: Diteliti

: Tidak Diteliti

C. Hubungan Antar Variabel



Gambar 6. Hubungan Antar Variabel

D. Hipotesis

Flokulan kitosan dapat digunakan untuk menangani serum lipemik pada pemeriksaan kadar glukosa.