

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjaun Umum Tentang *High Density Lipoprotein (HDL)*

1. Kolesterol

a) Pengertian Kolesterol

Kolesterol adalah zat putih yang ditemukan di dalam tubuh seperti lilin. Di antara lipid adalah kolesterol. Selain karbohidrat, protein, vitamin, dan mineral, tubuh juga membutuhkan lipid. Untuk membangun membran sel, tubuh membutuhkan lemak terutama kolesterol (Kurniadi & Nurrahmani, 2014). Kurniadi & Nurrahmani, 2014 lebih lanjut mencatat bahwa kolesterol menyediakan energi. Tes kolesterol juga dikenal sebagai pembacaan lipid atau profil lipid menentukan lemak relatif atau kandungan lipid dalam darah. Seseorang harus mengikuti puasa selama 12 jam, yaitu menghindari makan atau minum apa pun kecuali air, sebelum analisis ini. Menunda terapi selama dua bulan dapat membantu dalam mendapatkan hasil yang lebih tepat setelah serangan jantung, operasi, penyakit, cedera, atau kecelakaan (Djoerban & Djauzi, 2014).

b) Jenis-Jenis Kolesterol

1) Kolesterol Total

Total dari semua partikel yang mengandung kolesterol dalam darah yaitu HDL, LDL, dan VLDL dikenal sebagai kolesterol total. Jaringan saraf adalah yang paling banyak mengandung kolesterol yang tersebar di dalam tubuh (Raissanida, 2022). Kolesterol total seorang pasien adalah seluruh jumlah kolesterol dalam aliran darah. Dibuat oleh organisme, kolesterol berasal dari sumber hewani. Meskipun tubuh membutuhkan kolesterol untuk menjaga kondisi sel-selnya, terlalu banyak kolesterol meningkatkan risiko penyakit jantung. Pola makan dan gen kita memengaruhi kadar kolesterol. Meskipun dalam satuan yang berbeda, kadar

kolesterol total harus kurang dari 200 mg/dL atau 5,2 mmol/L, yang merupakan ukuran yang sama. Biasanya, Indonesia menggunakan mg/dL sebagai satuan pengukurnya (Kurniadi & Nurrahmani, 2014).

2) Kolesterol *Low Density Lipoprotein* (LDL)

Diangkut ke seluruh sirkulasi, kolesterol LDL juga disebut sebagai "kolesterol jahat yang bertanggung jawab atas peningkatan kadar LDL yang akan menyebabkan kadar kolesterol arteri juga meningkat. Low-density lipoprotein (LDL) sering disebut sebagai "lemak jahat" karena LDL membatasi aliran darah karena lemak menumpuk pada pembuluh darah atau penumpukkan plak sehingga menyebabkan penyempitan pada pembuluh darah (Kurniadi & Nurrahmani, 2014).

3) Kolesterol *High Density Lipoprotein* (HDL)

Dibandingkan dengan kolesterol LDL, kolesterol HDL mengangkut lebih sedikit kolesterol. Juga disebut sebagai "kolesterol baik", kolesterol HDL dimaksudkan untuk menghentikan penumpukan kolesterol di arteri yang menyebabkan *aterosklerosis*, proses pengembangan plak pada dinding pembuluh darah. Sebelum dibuang ke kantong empedu, kelebihan kolesterol dibawa ke hati oleh lipoprotein yang disebut HDL (Kurniadi & Nurrahmani, 2014).

4) Kolesterol *Very Low Density Lipoprotein* (HDL)

Hati mensintesis lipoprotein densitas rendah, atau VLDL, untuk memindahkan triasilgliserol dari sana ke organ-organ perifer. Lipoprotein ini sebagian besar terdiri dari trigliserida, sedikit protein, dan sedikit molekul kolesterol. Lipoprotein menjadi lebih padat dengan banyak lemak. Karena susunan lipidnya yang lebih tinggi, VLDL lebih padat daripada lipoprotein lain dalam konteks ini. Hati menghasilkan VLDL untuk memindahkan trigliserida ke sel-sel tubuh dan sangat penting untuk operasi sel yang benar.

VLDL mengumpulkan lebih banyak protein dan menyimpan kolesterol pada molekul ketika trigliserida mencapai sel. VLDL akhirnya akan menjadi LDL untuk prosedur ini (Raissanida, 2022).

5) Trigliserida

Jenis lipid darah lain yang ditemukan di seluruh organ dan sirkulasi tubuh adalah trigliserida. Meningkatnya kadar kolesterol (Kurniadi & Nurrahmani, 2014) dapat terjadi akibat trigliserida dalam sirkulasi. Pola makan yang tinggi lemak, gaya hidup yang tinggi gula, dan kenaikan berat badan juga dapat menyebabkan peningkatan kadar trigliserida. Karena mereka makan lebih banyak kalori dari pada yang mereka bakar selama latihan fisik, individu yang mengalami obesitas atau diabetes biasanya memiliki kadar TG yang tinggi.

Makanan yang banyak mengandung karbohidrat (gula sederhana) atau alkohol akan meningkatkan TG. Menurut *American Heart Association*, kadar TG yang "ideal" adalah 100 mg/dl (1,1 mmol/L). Sejenis lipid, trigliserida ditemukan di banyak organ tubuh dan juga di sirkulasi (Raissanida, 2022).

2. *High Density Lipoprotein*

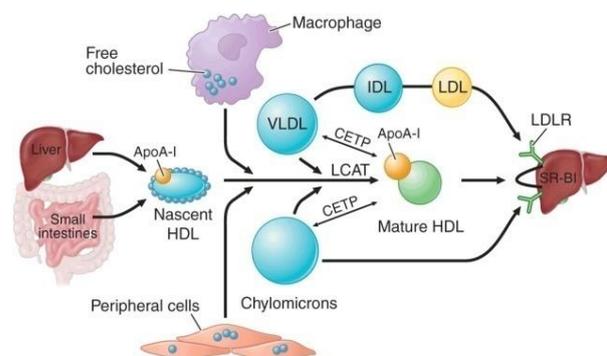
a. **Pengertian *High Density Lipoprotein* (HDL)**

Bagi tubuh manusia, kolesterol HDL bermanfaat. Dari jaringan perifer ke hati, HDL memindahkan LDL untuk menghilangkan lemak yang menempel pada arteri darah. Lipid ini kemudian melewati saluran empedu dari pembuluh darah sebagai lemak empedu. Kolesterol HDL yang rendah dapat meningkatkan kemungkinan terjadinya pembekuan darah. Kadar pembekuan darah yang lebih tinggi dalam arteri karotis dapat menyebabkan stroke. Kadar kolesterol HDL yang terlalu rendah dan terlalu tinggi sama berbahayanya karena dapat menyebabkan perkembangan plak di arteri, sehingga menghalangi aliran darah ke semua organ, termasuk otak. Kolesterol HDL yang rendah sebagian

disebabkan oleh kebiasaan merokok, obesitas, dan kurangnya olahraga (Raissanida, 2022).

b. Metabolisme *High Density Lipoprotein* (HDL)

Ada tiga jalur yang menentukan cara lipoprotein dimetabolisme: jalur endogen, jalur eksogen, dan jalur transpor kolesterol balik. Sementara sistem transpor kolesterol balik memengaruhi metabolisme HDL, mekanisme ekstrinsik dan endogen metabolisme lipoprotein memengaruhi metabolisme LDL dan trigliserida. Berasal dari usus kecil dan hati dalam sistem transportasi kolesterol terbalik, HDL berbentuk pipih dan memiliki kolesterol rendah. Kami menyebut HDL ini sebagai HDL muda, atau lipoprotein densitas tinggi yang baru lahir. Makrofag yang baru terbentuk dari lipoprotein densitas tinggi mencari kolesterol. HDL muda yang dihasilkan menjadi lipoprotein densitas tinggi yang matang. Kolesterol yang tidak terikat dari makrofag dikatalisis oleh enzim *Lecithin Cholesterol Acyl Transferase* (LCAT) untuk menghasilkan ester kolesterol. HDL memindahkan ester kolesterol dengan dua cara yang berbeda. Dari HDL ke trigliserida dari VLDL dan IDL pada rute pertama, kolesterol *Ester Transfer Protein* (CETP) membantu ester kolesterol ditransfer, sehingga masuk ke dalam hati. HDL pada dasarnya membantu makrofag menyerap kolesterol dan kemudian kembali ke hati (Fauziah dan Durotul, 2019).

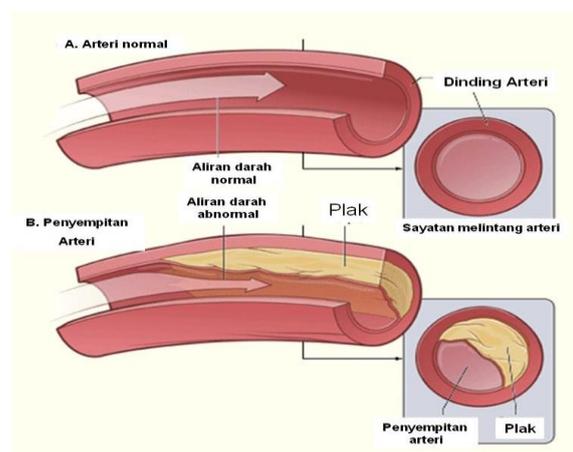


Gambar 1. Metabolisme *High Density Lipoprotein*
(Sumber : Prihandini, 2022)

c. Fungsi *High Density Lipoprotein* (HDL)

Karena fungsi HDL dalam memindahkan LDL dari jaringan perifer ke hati, HDL adalah kolesterol yang bermanfaat bagi tubuh. Prosedur ini menghilangkan lipid yang menempel pada pembuluh darah dan kemudian melewati saluran empedu sebagai lemak empedu. Karena manfaatnya, HDL sering disebut sebagai "kolesterol baik".

Kolesterol berbahaya dibawa ke hati untuk diproses lebih lanjut oleh HDL. Lipoprotein ini membantu menghindari aterosklerosis. Terdapat dalam kolesterol HDL, enzim paraoksinase memisahkan membran sel dan memblokir kolesterol oksidase LDL. Selain itu, kolesterol HDL dapat meningkatkan resistensi protoksiklin dan menghentikan pembentukan molekul adhesi dalam pita arteri. Konsentrasi rendah lipoprotein densitas rendah (LDL) dan lipoprotein densitas tinggi (HDL) dengan demikian membantu tubuh. Ketika aktivitas aterosklerosis berkembang di arteri koroner, penyakit jantung koroner akan mengikuti. Jika aktivitas aterosklerosis terjadi di arteri darah otak, penyakit otak dan stroke akan terjadi (Fauzia dan Durotul, 2019).



Gambar 2. Diagram *Aterosklerosis*
(Sumber : Fauzia dan Durotul, 2019)

d. Struktur *High Density Lipoprotein* (HDL)

Konsentrasi protein yang lebih tinggi pada HDL dibandingkan kolesterol membuatnya menjadi partikel lipoprotein yang paling padat dan kecil. *Apolipoprotein* dan kompleks fosfolipid yang menghasilkan partikel kolesterol yang tidak terikat adalah cara hati mensintesis lipoprotein. Dua apolipoprotein yang paling sering muncul adalah Apo A-I dan Apo A-II. Berinteraksi dengan *ATP binding cassette transporter AI* (ABCA1), kompleks ini dapat menghilangkan kolesterol dari sel. Enzim plasma, *Lecithin-Cholesterol Acyltransferase* (LCAT) mengubah kolesterol bebas menjadi bentuk yang lebih hidrofobik, yaitu ester kolesterol. Ester ini kemudian berkumpul di dalam partikel lipoprotein, yang menyebabkan HDL baru dikonversi dan disintesis. Misalnya, melalui interaksi dengan transporter ABCG1 dan Protein Pengangkut Fosfolipid (PLTP), partikel HDL mengembang saat beredar dalam darah dan menyerap molekul kolesterol dan fosfolipid dari sel dan lipoprotein lainnya (Rahmi, 2019).

Baik secara langsung maupun tidak langsung, HDL membawa kolesterol ke testis, ovarium, adrenal, dan jaringan *steroidogenik* serta ke hati. *Scavenger Receptor BI* (SR-BI), yang membantu kolesterol dari HDL untuk dihilangkan, adalah salah satu reseptor HDL yang diproduksi melalui protein transfer ester kolesterol (CETP) yang membantu rute tidak langsung menjadi lebih penting pada manusia. Trigliserida dari VLDL diubah oleh protein ini dari ester kolesterol HDL. Ini mengubah VLDL menjadi LDL, yang kemudian dikeluarkan oleh reseptor LDL dari sirkulasi. Lipase hati memecah trigliserida yang tidak stabil dalam HDL untuk menghasilkan partikel HDL kecil yang dapat terus menyerap kolesterol dari sel. Setelah diubah menjadi asam lemak, kolesterol dikirim ke hati di mana kolesterol secara langsung atau tidak langsung dihilangkan. Yang terpenting, kolesterol HDL harus diangkut ke adrenal, ovarium, dan testis untuk mensintesis hormon steroid.

e. Faktor Yang Mempengaruhi *High Density Lipoprotein (HDL)*

1. Faktor Fisiologis

a) Merokok

Dengan meningkatkan agregasi trombosit dan fibrinogen, polutan tembakau menyebabkan pengentalan darah, sehingga mempercepat proses pembekuan darah dapat menyebabkan trombosis pada arteri koroner yang sudah menyempit. Selain itu menurunkan kadar kolesterol HDL dan meningkatkan kadar kolesterol LDL adalah rokok.

b) Obesitas

Orang yang mengalami obesitas adalah orang yang berat badannya melebihi dua puluh persen dari berat badan normal dan memiliki penumpukan lemak yang nyata. Penelitian telah menunjukkan bahwa penyebab utama penyakit jantung koroner (PJK) adalah obesitas sentral, yang sering dikenal sebagai obesitas perut. Pada mereka yang mengalami obesitas, PJK dan kematian akibat PJK timbul dalam jaringan perut ini.

c) Jenis Kelamin

Satu dari lima pria dan satu dari tujuh wanita di Amerika Serikat sebelum usia enam puluh tahun melaporkan gejala PJK. Oleh karena itu, pria memiliki risiko dua hingga tiga kali lipat lebih besar daripada wanita. Beberapa wanita hamil yang menggunakan kontrasepsi oral melaporkan kadar kolesterol yang lebih tinggi. Kadar kolesterol pada ibu hamil akan kembali seperti sebelum hamil dua puluh minggu setelah melahirkan. Tingkat kematian pria lebih tinggi daripada wanita. Dalam penelitian *Cooper*, yang melibatkan 589 wanita, reaksi terhadap peningkatan kolesterol agak berbeda. Peningkatan kadar kolesterol LDL yang cepat dan peningkatan kadar kolesterol HDL yang menyertainya menyebabkan rasio kolesterol total/HDL turun. Rasio yang menurun ini akan membantu

mencegah penebalan dinding arteri, sehingga menurunkan risiko PJK pada wanita.

d) Kurangnya Aktifitas Fisik

Karena dapat mencegah peningkatan kadar LDL dan HDL dan menjaga kesehatan pembuluh darah, sehingga mencegah penumpukan kolesterol dalam pembuluh darah, olahraga baik untuk kesehatan jantung. Dengan demikian, kurangnya aktivitas fisik-yaitu olahraga-adalah hal yang buruk.

e) Konsumsi Makanan Serat

Makanan berserat adalah makanan yang tetap berada di dalam usus besar atau tidak berubah secara kimiawi. Meskipun tidak memiliki banyak nutrisi, makanan berserat alami sangat penting untuk sistem pencernaan tubuh manusia. Serat makanan terbagi menjadi dua jenis: larut dan tidak larut. Makanan berserat membantu menjaga kesehatan usus besar, mencegah kanker usus, mengatur gula darah, menghindari wasir, menurunkan berat badan, dan menurunkan kolesterol darah.

f) Program Diet

Banyak orang makan makanan yang banyak mengandung lemak hidrogen, termasuk roti, kue-kue, dan makanan yang digoreng seperti roti bakar dan kentang, yang merupakan makanan lezat yang umum. Asupan lemak hidrogen yang tinggi dapat menurunkan nilai HDL.

2. Faktor Teknis

- a) Pengukuran HDL dan kolesterol total dapat dilakukan kapan saja sepanjang hari tanpa memperhatikan persyaratan puasa. Namun, jika tes ini diberikan sesuai dengan profil lipid konvensional, diperlukan puasa selama 12 hingga 14 jam (terbatas pada air).
- b) Teknik Pengambilan Sampel Penggunaan tourniquet secara terus-menerus untuk memblokir pembuluh darah dapat mempengaruhi hasil.

- c) Metode untuk Laboratorium. Banyak metode laboratorium yang berbeda yang memungkinkan seseorang untuk mengukur kadar HDL. Variasi antara teknik-teknik ini atau kesalahan dapat mempengaruhi konsistensi hasil.
- d) Antara pengambilan spesimen dan verifikasi serum atau plasma hingga analisis, satu hingga dua jam harus diizinkan. Interval yang terlalu lama dapat menyebabkan filamen fibrin terbentuk. Setelah darah dibiarkan membeku selama 20 hingga 30 menit pada suhu kamar, sentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 5 hingga 15 menit memungkinkan seseorang untuk memisahkan serum. Dua jam setelah pengambilan sampel, pemisahan serum dilakukan..
- e) Sampel segar yang disimpan selama lebih dari tiga hari akan menurunkan kadar kolesterol HDL sekitar 8,2% hingga 14,9%. Lebih jauh lagi, penurunan kadar HDL dapat terjadi akibat penyimpanan sampel beku pada suhu -20 derajat Celcius selama lebih dari empat belas hari. Namun, penyimpanan sampel pada suhu rendah tidak menyebabkan penurunan ini
- f) Menganalisis kolesterol HDL membutuhkan reagen. Memahami hasil tes laboratorium sangat bergantung pada hal ini. Setiap reagen harus diuji sebelum digunakan dalam analisis untuk memastikan aplikasi yang benar. Hal ini membantu menghindari kesalahan dan mendapatkan hasil yang diinginkan.
- g) Mempertahankan nilai yang ada memerlukan kalibrasi. Mengikuti panduan sebelumnya, laboratorium harus mengonfirmasi pengaturan mikropipet terlebih dahulu dan membandingkannya dengan nilai standar.

f. Metode Pemeriksaan *High Density Lipoprotein* (HDL)

Ada dua cara yang berbeda untuk mendeteksi kadar kolesterol HDL:

1. Metode *Indirect* dapat dilakukan dalam beberapa metode, antara lain yaitu:

a) Metode *Ultrasentrifugasi*

Lipoprotein dengan densitas plasma 1,006/mL dapat dipisahkan dengan menggunakan teknik *ultrasentrifugasi*. Sedangkan kolesterol lipoprotein densitas rendah dan kolesterol lipoprotein densitas tinggi akan mengendap, kilomikron dan VLDL akan mengambang.

b) Metode *Elektroforesis*

Lipoprotein dapat dipisahkan dan diukur dengan menggunakan teknik *elektroforesis*. Gel agarosa digunakan karena sensitif dan dapat memisahkan lipoprotein yang berkembang dari HDL ke VLDL ke LDL.

c) Metode *Presipitasi*

Ion magnesium dan ion fosfat ditambahkan untuk menerapkan teknik pengendapan. Lipoprotein densitas tinggi dalam supernatan setelah sentrifugasi diukur dengan menggunakan paket reagen yang sama dengan tes kolesterol total (CHOD-PAP).

d) Metode Kombinasi

Spesimen plasma EDTA digabungkan secara metodis dengan cara disentrifugasi dalam mesin ultrasentrifugasi pada 105.000 g selama 18 jam pada suhu 100°C.

Metode yang paling banyak digunakan dalam pemeriksaan kadar HDL kolesterol yaitu metode *indirect* atau metode tidak langsung. Cara tidak langsung untuk mengukur kadar HDL meliputi ultrasentrifugasi, elektroforesis, pengendapan, dan teknik kombinasi. Dari segi biaya, pendekatan tidak langsung

lebih baik; meskipun demikian, pendekatan ini masih membutuhkan banyak tenaga kerja dan membutuhkan prosedur yang panjang (Khabib, 2017).

2. Metode *direct* atau teknik langsung secara khusus menghilangkan kolesterol LDL, VLDL, dan kilomikron melalui proses enzimatik. Surfaktan ini membantu proses enzimatik yang secara khusus ditargetkan pada kolesterol HDL. Kolesterol yang tersisa dalam fraksi HDL diukur berdasarkan respons ini. Pengukuran setelah penambahan sampel dan reagen diperoleh dengan menggunakan penganalisis otomatis. Penganalisis kemudian bekerja mulai dari pemipetan hingga hasil pengukuran dengan sendirinya. Alat ini terhubung ke sistem komputer, sehingga alat ini beroperasi sesuai dengan instruksi yang terekam di dalamnya. Analisis kolesterol HDL dapat dilakukan dengan menggunakan teknik Hidrolisis Kolesterol dan Penentuan Oksidasi dari *Hidrogen Peroksida* dan *Aminofenazone* (CHOD-PAP), yaitu reagen endapan yang digunakan secara *in vitro* dengan menggunakan sistem fotometri. Ide dasar dari tes kolesterol HDL adalah kombinasi asam fosfotungstat dan ion magnesium yang mengendapkan kilomikron, VLDL, dan LDL dalam sampel. Hanya reagen kolesterol FS yang memungkinkan seseorang untuk memastikan jumlah kolesterol karena sentrifugasi hanya memisahkan HDL dalam supernatan (Khabib, 2017).

Proses langsung yang dimaksud adalah mengukur kolesterol HDL melalui pemeriksaan langsung. Manfaat metode ini adalah dapat menilai kadar HDL secara langsung, sehingga menyederhanakan prosedur analisis dan tidak mengharuskan pasien berpuasa. Salah satu aspek negatif dari pendekatan ini adalah biayanya yang mahal (Khabib, 2017).

Ketika mengevaluasi atau melakukan pemeriksaan kadar HDL, ada banyak fase yang harus dipertimbangkan termasuk:

- a) Prasyarat dari langkah pra-analitik adalah ketepatan identifikasi pasien. Hemolisis memiliki kemampuan untuk menghancurkan sel darah merah dan melepaskan racun ke dalam plasma sehingga harus dihindari selama pengambilan sampel. Pengambilan sampel disarankan dengan posisi duduk; sampel harus disimpan dalam bentuk serum.
- b) Tahap analitik terdiri dari reagen dan alat. Penampilan fisik reagen, kemasan, dan tanggal kedaluwarsa harus diperiksa. Integritas reagen tergantung pada situasi penyimpanannya, jadi harus diperhatikan. Bersama dengan kartu kontrol saat bahan kimia disimpan, wadah harus ditutup, terlindung dari sinar matahari langsung, disimpan pada suhu 2-8 ° C. Mesin harus bekerja dengan baik dan dikalibrasi.
- c) Pencatatan dan pelaporan temuan yang akurat bergantung pada langkah *pasca-analitik*. Temuan yang dipublikasikan harus sesuai dengan temuan yang diperoleh (Sari, 2018).

g. Nilai Rujukan *High Density Lipoprotein* (HDL)

Tabel 1. Nilai Normal Kadar HDL

Kadar <i>High Density Lipoprotein</i>		
Rendah	Normal	Tinggi
<40 mg/dl	40-60 mg/dl	≥60 mg/dl

(Sumber : PERKENI, 2021)

B. Tinjauan Umum Tentang Laboratorium Klinik

1. Pengertian Laboratorium Klinik

Laboratorium klinis adalah laboratorium medis yang digunakan terutama untuk diagnosis penyakit, pengobatan penyakit, dan pemulihan kesehatan-yaitu untuk memperoleh informasi tentang kesehatan seseorang. Untuk menjamin manajemen laboratorium klinis yang benar, langkah-

langkah harus dilakukan untuk meningkatkan dan memandu temuan uji laboratorium..

2. Tahapan Pemeriksaan Laboratorium Klinik

a) Tahap Pra Analitik

Periode pekerjaan yang dilakukan sebelum analisis sampel dikenal sebagai fase pra-analitik. Tahapan ini meliputi kebutuhan dokter untuk tes, persiapan pasien, pengumpulan spesimen, dan transfer sampel. Penilaian tahap pra-analitik terhadap keadaan bahan yang akan diselidiki (Fitriyani, 2022).

b) Tahap Analitik

Pengujian sampel yang dilakukan untuk mendapatkan temuan uji termasuk dalam tahap analitik. Pengujian presisi, kontrol kualitas reagen, pemeliharaan dan perbaikan peralatan, dan analisis sampel termasuk dalam tahap ini (Siregar dkk, 2018).

c) Tahap Pasca Analitik

Langkah pasca analisis adalah mekanisme pengendalian komponen kesalahan pada data keluaran hasil pemeriksaan. Langkah ini meliputi pencatatan, interpretasi, dan pelaporan hasil pemeriksaan (Siregar dkk, 2018).

C. Tinjauan Umum Tentang Darah Lengkap

Arteri darah mengandung cairan biologis yang disebut darah. Darah bergerak dari jaringan ke paru-paru dan dari paru-paru ke jaringan tubuh yang membawa oksigen. Setelah itu, produk limbah dari usus kecil dikirim melalui jaringan tubuh untuk membawa unsur-unsur yang dianggap berbahaya bagi tubuh. Setelah itu, obat-obatan ini melewati ginjal dan kulit di mana mereka memanaskan seluruh tubuh dan bertindak sebagai pertahanan terhadap serangan penyakit (Hupitoyo dan Sri, 2019).

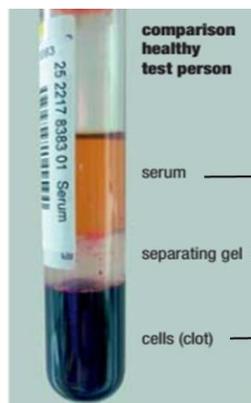
Darah utuh atau keseluruhan adalah jaringan cair yang terbuat dari plasma darah (55% cairan antar sel) dan sel darah (45% komponen padat). Volume darah merupakan seperduabelas dari berat badan. Tekanan osmotik protein koloid dalam plasma dan jaringan mempertahankan volume darah

fisiologis yang homeostatis. Terdiri dari sel darah merah, sel darah putih, dan trombosit yang dikemas dalam cairan yang dikenal sebagai plasma, enam hingga delapan persen dari seluruh berat badan berasal dari plasma. Karena selalu penuh dengan darah dalam kondisi fisiologisnya, arteri darah dapat menjadi mekanisme hemostatik dan pertahanan tubuh terhadap infeksi serta pembawa oksigen atau pengangkut oksigen (Kurniasih, 2023)

D. Tinjauan Umum Tentang Serum

1. Pengertian Serum

Komponen cair dari darah adalah plasma. Cairan cair yang tertinggal setelah plasma kehilangan elemen pembekuan dikenal sebagai serum. Penggunaan faktor pembekuan untuk membekukan darah selama proses perubahan darah menjadi serum menyebabkan faktor pembekuan hilang dalam serum. Serum tidak memiliki unsur pembekuan, namun memiliki berbagai zat lain seperti glukosa, kolesterol, elektrolit, hormon, enzim, dan antibodi.



Gambar 3. Sampel Serum Normal
(Sumber : Maire and Schluter, 2017)

Yang dikumpulkan untuk mendapatkan serum adalah darah lengkap, sebanyak dua setengah kali lipat dari jumlah yang dibutuhkan untuk tes. Dengan demikian, ahli laboratorium medis harus mengekstrak 2,5 mL darah lengkap jika diperlukan 1 mL serum. Setelah membiarkannya membeku

selama sekitar 30 hingga 45 menit, seluruh darah yang diambil disentrifugasi untuk menghasilkan cairan yang dikenal sebagai serum dan trombosit darah dengan bentuk yang tidak beraturan. Jika pembekuan darah terjadi secara total, pembekuan tersebut mudah dihilangkan dari dinding tabung (Lieseke dkk, 2014).

Proses pemurnian jelas mempengaruhi kualitas sampel serum yang diuji. Oleh karena itu, seorang spesialis laboratorium medis harus mempertimbangkan elemen-elemen berikut:

- a) *Whole blood* tidak boleh ditempatkan di dalam tabung selama lebih dari satu jam karena kontak terus menerus dengan tabung akan menyebabkan perubahan kimiawi pada serum yang dihasilkan. Perubahan yang paling jelas adalah penurunan glukosa darah dan peningkatan zat besi serum.
- b) *Whole blood* Darah disentrifugasi di sekelilingnya setelah trombus terbentuk. Jika sentrifugasi dilakukan sebelum bekuan terbentuk, faktor pembekuan tidak akan bercampur dengan sel darah di bawah tabung. Sebaliknya, mereka akan berkembang dalam lapisan serum menjadi bekuan fibrin yang cukup besar. Agregat fibrin yang fleksibel dan cair, koagulasi fibrin menghambat pemisahan serum uji
- c) Dipisahkan dengan proses sentrifugasi, serum harus dipindahkan ke wadah lain.
- d) Sampel serum yang diperiksa haruslah sampel serum untuk eritrosit utuh atau sel darah yang mengalami hemolisis. Sampel harus diproses ulang karena kedua situasi tersebut akan menyebabkan warna kemerahan. Jika sampel termasuk eritrosit utuh, eritrosit akan jatuh ke dasar tabung selama sentrifugasi. Berbeda dengan bahan yang mengalami hemolisis, warna merah tidak akan memudar setelah sentrifugasi ulang. Khususnya tes kimia, serum yang mengalami hemolisis tidak cocok untuk analisis laboratorium. Hemolisis mendapatkan warna merahnya dari pecahnya eritrosit, yang menyatukan komponen hemoglobin dengan serum dan membuat serum berwarna merah (Lieseke & Zeibig, 2018).

- e) Biasanya untuk menghentikan hemolisis, sampel serum atau plasma diputar selama lima hingga lima belas menit pada 3000 rpm. Selain itu, bahan tersebut harus dipisahkan dari sel darah satu hingga dua jam setelah pengumpulan (Aghniya, 2018).

2. Jenis-Jenis Serum Tidak Normal

a) Serum Hemolisis

Dibuat selama proses pengambilan sampel oleh pecahnya membran sel darah merah, serum hemolisis adalah serum berwarna merah. Beberapa tes dapat terganggu oleh serum ini (Lieseke & Zeibig, 2018).

b) Serum Lipemik

Serum lipemik adalah serum yang berwarna bening, keputihan, atau buram yang disebabkan oleh hiperlipidemia. Biasanya, kadar trigliserida yang tinggi menghasilkan kekeruhan (Maulana, 2017).

c) Serum Ikterik

Meningkatnya kadar bilirubin dalam darah dan kekeruhan, atau peningkatan kadar trigliserida, menentukan warna coklat kekuningan pada serum ikterik (Ghaedi & Joe, 2016).

E. Tinjauan Umum Tentang Sentrifugasi

Menggunakan campuran gaya sentrifugasi (Istianah, Wardani, & Heppy, 2018), sentrifugasi adalah teknik memisahkan partikel padat-cair atau cair-cair dengan kepadatan yang berbeda. Dalam kerangka acuan non inersia, gaya sentrifugal yang dimaksud adalah gaya yang mengarah menjauhi pusat gerakan melingkar.

Peningkatan berat partikel dari kondisi normal bersama dengan kecepatan dan sudut kemiringan rotasi partikel mengindikasikan adanya gaya sentrifugal. Partikel yang memiliki massa jenis lebih tinggi dari pelarut akan tenggelam (sedimentasi) selama proses pemisahan, sedangkan partikel yang memiliki massa jenis lebih rendah akan melayang ke atas (Gopala, 2016).

Perangkat yang menggunakan gaya ini disebut sebagai sentrifugasi.



Gambar 4. Sentrifuge
(Sumber : Dokumentasi Pribadi, 2024)

Tabel 2. Perbandingan dengan penelitian sebelumnya

No	Nama Peneliti	Judul Penelitian	Hasil Penelitian
1	Ika Arulisia, Andri Sukeksi, dan Junaidi Wibawa	Perbedaan Kadar HDL Kolesterol dengan Variasi Lama Inkubasi (2018)	Berdasarkan hasil penelitian kadar HDL kolesterol dengan sampel sebanyak 19 sampel dengan menggunakan metode enzimatik CHOD-PAP dengan variasi lama inkubasi yaitu inkubasi selama 5 menit, 10 menit dan 20 menit di dapatkan hasil tidak terdapat perbedaan yang signifikan kadar HDL kolesterol dengan lama inkubasi tersebut. Selisih yang didapatkan yaitu 2-3 mg/dl.
2	Dwi Reni Erna Sari, Herlisa Anggriani dan Fitri Nuroini	Perbedaan Kadar HDL Kolesterol Serum Darah Yang Langsung <i>Dicentrifuge</i> dan Dibekukan Sebelum <i>Dicentrifuge</i> (2018)	Hasil penelitian yang didapatkan dengan menggunakan sampel sebanyak 32 sampel dengan metode CHOD-PAP antara darah yang langsung di sentrifuge dengan darah yang dibekukan terlebih dahulu sebelum disentrifuge yaitu sampel darah yang langsung disentrifuge lebih rendah dari sampel darah yang dibekukan sebelum disentrifuge.

F. Tinjauan Umum Tentang Tabung

1. Tabung *Vacutainer*

Pemilihan penampung darah (tabung *vacutainer*) dapat menentukan kualitas dari spesimen dalam melakukan suatu pemeriksaan di laboratorium. Spesimen darah diperiksa dengan menggunakan tabung *vacutainer* untuk menentukan kualitasnya. Tekanan negatif di dalam tabung *vacutainer* akan menyebabkan tabung vakum terisi secara otomatis dengan darah (Dickinson, 2014)

Tingkat tekanan negatif di dalam tabung telah diukur dengan tepat untuk menjamin bahwa tabung dapat menampung volume darah yang diperlukan dari label. Jika tekanan negatif dihilangkan seluruhnya atau sebagian, saluran tidak akan dapat menampung darah. Penyimpanan yang tidak tepat, membuka tutup tabung, atau menjatuhkan tabung, semuanya dapat menyebabkan hilangnya tekanan negatif di dalam tabung (Kiswari, 2014)

Tabung *vacutainer* ini dirancang dari kaca bening atau plastik, wadah penyedot debu tersedia dalam berbagai kapasitas kapasitas. Jenis pemeriksaan, jumlah sampel darah yang akan diambil, jenis sampel darah (vena atau kapiler), usia pasien, dan kondisi pembuluh darah kapiler menentukan ukuran tabung. Warna tutup tabung-yang berfungsi sebagai kode untuk menunjukkan adanya bahan tambahan-membantu seseorang mengklasifikasikan tabung *Vacutainer* ke dalam banyak jenis.

2. Jenis-Jenis Tabung *Vacutainer*

Menurut Kurniawan (2014), banyaknya jenis tabung *vacutainer* memiliki kegunaan yang berbeda-beda:

Tabel 3 : Gambar, warna dan keterangan tabung *vacutainer*

No	Nama Tabung Vakum	Gambar Tabung Vakum	Keterangan
1	Tabung vakum tutup ungu		Tabung ini berisi EDTA, yang biasanya digunakan untuk pemeriksaan bank darah dan darah lengkap (<i>crossmatch</i>).
2	Tabung tutup merah		Tabung ini dapat membekukan darah secara alami karena tidak memiliki antikogulan dan gel separator, sehingga dapat digunakan dalam pemeriksaan kimia darah, serologi, imunologi, dan bank darah.
3	Tabung vakum tutup hijau terang		Tabung plasma separator/PST ini berisi antikoagulan lithium heparin untuk pemeriksaan kimia darah, imunologi, dan serologi.
4	Tabung tutup kuning		Gel separator di dalam tabung SST berfungsi untuk memisahkan serum dan sel darah. Setelah pemusingan, serum berada di bagian atas gel, dan sel darah berada di bagian bawah gel. Bahan pengaktif bekuan silika, juga dikenal sebagai aktivator bekuan silika, dan polimer gel membentuk SST.

5	Tabung vakum tutup biru		Dalam tabung ini terdapat natrium sitrat, yang biasanya digunakan untuk pemeriksaan koagulasi seperti PPT dan APTT.
6	Tabung vakum tutup emas		Tabung ini memiliki gel di bagian bawah, yang digunakan untuk sentrifugasi untuk membedakan darah dari serum. Ini juga digunakan untuk pemeriksaan kimia, serologi, dan imunologi, serta bank darah untuk <i>crossmatch</i> .
7	Tabung vakum tutup coklat		Pada tabung ini berisi sodium heparin mengaktifkan trombin dan tromboplastin, dan isinya hampir tidak mengandung timbal. digunakan untuk menjernihkan serum determinasi kulit.
8	Tabung vakum tutup orange		Tabung ini digunakan untuk memeriksa STAT serum kimia dan mengandung trombin, yang mempercepat pembekuan darah.
9	Tabung vakum tutup hijau		Tabung ini mengandung heparin natrium atau lithium untuk memeriksa kerapuhan osmotik eritrosit dan sifat kimia darah.
10	Tabung vakum tutup biru gelap		Tabung ini berisi EDTA bebas logam, yang biasanya digunakan untuk pemeriksaan toksikologi dan trace elemen (<i>zink</i> , nikel, dan merkuri).

11	Tabung vakum tutup abu-vakum terang		Tabung ini mengandung kalium oksalat dan natrium fluorida, yang digunakan untuk memeriksa glukosa.
12	Tabung vakum tutup hitam		Bufer sodium sitrat, yang digunakan untuk pemeriksaan LED (ESR), terdapat dalam tabung ini.
13	Tabung vakum tutup pink		Tabung ini digunakan untuk pemeriksaan imunohematologi dan mengandung potasium EDTA.
14	Tabung vakum tutup putih		Tabung ini mengandung potasium EDTA, yang biasanya digunakan dalam pemeriksaan molekuler atau PCR dan DNA.
15	Tabung vakum tutup kuning dengan warna hitam di bagian atas		Media pembiakan dalam tabung ini digunakan untuk memeriksa mikrobiologi aerob, anaerob, dan jamur.

(Sumber : Arianda, 2019)

3. Tabung Gel Separator

Terdiri dari pemisah gel (serum separator *tube*/SST), tabung bertutup kuning menampung gel partikel silika. Hal ini membantu menjamin kualitas serum yang sangat baik dan mengurangi kemungkinan penyumbatan fibrin pada alat. Wadah semacam ini juga dapat ditangani keesokan harinya dan membantu menunda pemrosesan spesimen yang dikumpulkan pada malam hari. Enam kali menghomogenisasi sampel darah dan membiarkannya selama lima belas hingga tiga puluh menit setelah dimasukkan ke dalam tabung membantu mengurangi bahaya fibrin. Sesuai Hadi (2016), bahan disentrifugasi untuk jangka waktu tertentu dan pada kecepatan tertentu.



Gambar 5. Tabung gel separator
(Sumber : Dokumentasi Pribadi, 2024)

Tes kimia darah dapat menggunakan tabung sederhana atau tabung yang bebas antikoagulan untuk mengukur kadar HDL. Terintegrasi di dalam bingkai tabung dalam teknologi tabung pemisah yang awalnya digunakan pada tahun 1976-an adalah polimer gel dan zat pengaktif gumpalan silika-juga dikenal sebagai aktivator gumpalan silika. Komponen kedua ini dapat mempersingkat waktu proses sentrifugasi dan membantu mekanisme pembekuan darah (Furqon, 2015).

Serum dipisahkan dari agregat sel darah dengan menggunakan bahan pemisah. Sebagian besar arteri darah ini terdiri dari elemen inert dan hidrofobik, sehingga komponennya akan naik selama proses sentrifugasi. Serum dan sel darah merah tidak digabungkan untuk menjaga batas dan batasan (Furqon, 2015). Dengan demikian, penggunaannya dapat sangat membantu untuk mengumpulkan, menyimpan, dan memproses sampel dalam tabung utama. Proses sentrifugasi membantu gel untuk naik atau mengalir, sehingga mengurangi kekentalannya. Gel berfungsi sebagai penghalang yang memisahkan sel dari supernatan setelah operasi sentrifugasi berakhir. Karena kualitas alaminya, silinder polimer ini dapat disimpan tanpa henti (Firiana, 2019).

Banyak sifat tabung termasuk bahan tabung, kepadatan, viskositas, tekanan, dan berat jenis dapat mempengaruhi lokasi gel selama sentrifugasi. Sejumlah elemen dapat memengaruhi posisi gel: suhu, kecepatan proses sentrifugasi, penyimpanan, dan mungkin pertimbangan pribadi pasien

(Bowen dan Remaley, 2014).

Seperti yang didefinisikan oleh Dickinson (2014), tabung dengan gel memiliki beberapa manfaat dibandingkan tabung biasa tanpa gel. Di antara manfaat ini adalah:

- a) Optimalisasi proses terdiri dari penurunan waktu pemrosesan sampel, waktu sentrifugasi, dan pengawetan sampel dalam tabung utama.
- b) Sampel dapat dipindahkan dari tabung utama ke tabung sekunder tanpa masalah.
- c) Penghalang yang stabil membantu analit menjadi lebih stabil.
- d) meningkatkan kualitas sampel.

Meskipun mereka menawarkan beberapa manfaat dibandingkan tabung tradisional atau tabung tanpa antikoagulan, Bowen dan Remaley (2014) telah menunjukkan bahwa tabung gel ini tidak terlalu efisien. Untuk pemrosesan sampel dalam tabung gel ini, pembuatnya telah menetapkan pedoman. Di antara keterbatasan ini adalah larangan membekukan tabung pemisah gel karena pembekuan dan pencairan mengubah susunan fisik gel. Pengapungan pemisah gel yang tidak tepat menyebabkan ketidakstabilan dan ketidakcocokan pemisah gel dan analit dalam sampel pasien, sehingga mencemari sel darah dan serum serta elemen lainnya. Lebih lanjut disebutkan ketidakstabilan fisik polimer berbasis poliester pada suhu tinggi dan pelepasan surfaktan dan pelumas organosilicone yang dapat memberikan masalah selama pengujian atau pemeriksaan (Lippi dkk, 2014).

G. Tinjauan Umum Tentang Alat Spektrofotometer

1. Definisi Spektrofotometer

Dengan memproyeksikan cahaya dengan panjang gelombang yang ditentukan ke kuvet, kaca, atau benda kuarsa, spektrofotometer alat yang digunakan untuk pengukuran penyerapan. Sementara bagian lain dari cahaya dikirim, sebagian diserap. Tingkat penyerapan cahaya menentukan secara tepat konsentrasi lingkungan dalam kuvet.



Gambar 6. Alat Spektrofotometer
(Sumber: Dokumentasi Pribadi, 2024)

Sesuai dengan namanya, spektrofotometer adalah sistem dua alat yang terdiri dari spektrometer dan fotometer. Spektrometer menciptakan cahaya dari spektrum dengan panjang gelombang tertentu, sedangkan fotometer melacak intensitas cahaya yang diserap atau dipancarkan. Dengan demikian, energi diukur dalam hal panjang gelombangnya relatif terhadap apakah energi tersebut dipancarkan, dipantulkan, atau ditransmisikan menggunakan spektrofotometer.

Satu hal yang membedakan fotometer dari spektrofotometer. Dengan menggunakan perangkat penguraian seperti prisma, kisi-kisi, atau lubang optik, spektrofotometer memiliki manfaat untuk menangkap cahaya dengan panjang gelombang yang sesuai. Sebaliknya, filter fotometer menggunakan palet warna yang bervariasi yang dirancang secara tepat untuk melewati baki panjang gelombang tertentu untuk menangkap cahaya dengan panjang gelombang yang sesuai.

Sementara spektrofotometer dapat mengakses panjang gelombang yang benar-benar ditentukan dengan menggunakan difraktor cahaya, seperti prisma, filter fotometer terbatas pada palet panjang gelombang 30-40 nm. Spektrofotometer terdiri dari monokromator, sel absorpsi untuk larutan blanko atau sampel, dan mekanisme yang mampu mendeteksi variasi

absorpsi antara blanko atau pembanding dan sampel. Sumber spektrum tampak yang konstan sudah terpasang.

2. Instrumen Spektrofotometer

a. Sumber Cahaya

Spektrofotometer memerlukan sinar radiasi dengan intensitas tinggi yang stabil. Sumber energi cahaya yang umum dalam rentang sinar tampak, ultraviolet dekat, dan inframerah dekat adalah lampu pijar yang terbuat dari kawat rambut tungsten. Beroperasi pada kisaran panjang gelombang 350-2200 nm (nm), lampu-lampu ini (1).

b. Monokromator

Cahaya polikromatik dibagi oleh monokromator menjadi komponen-komponen monokromatik yang khusus untuk panjang gelombang tertentu.

c. Cuvet

Kubus spektrofotometer menampung sampel atau kargo yang sedang dianalisis. Biasanya berbentuk silinder empat persegi dengan tinggi lima sentimeter, kuvet terbuat dari kaca, plastik, plexiglass, atau kuarsa. Saat mengukur dalam spektrum sinar UV, kuvet kuarsa atau kaca plexiglass sangat ideal. Namun demikian, kuvet kaca tidak sesuai untuk pengukuran dalam spektrum cahaya tampak

d. Detektor

Detektor penerima menerima cahaya dan mengubahnya menjadi sinyal listrik. Selanjutnya, penampil data menunjukkan sinyal listrik ini sebagai penunjuk jarum atau angka digital.

Hukum Lambert-Beer membantu seseorang untuk mengukur transmitansi lingkungan sampel. Spektrofotometer akan mengukur intensitas cahaya yang melewati sampel (I) dan kemudian membandingkannya dengan intensitas cahaya sebelum melewati sampel (I_0). Biasanya, transmitansi dinyatakan sebagai persentase (%) T . Kita dapat memperoleh serapan (A) dengan menggunakan rumus $A = -\log \%T$.

3. Prinsip Spektrofotometer

Filter fotometer hanya mengizinkan 30-40 nm sebagai panjang gelombang akses. Namun, spektrofotometer dapat mengakses panjang gelombang yang benar-benar diambil dengan menggunakan alat pengurai cahaya, seperti prisma. Spektrofotometer terdiri dari monokromator, sel absorpsi untuk larutan blanko atau sampel, dan mekanisme yang mampu mendeteksi variasi absorpsi antara blanko atau pembanding dan sampel. Sumber spektrum tampak yang konstan sudah terpasang.

4. Kelebihan dan Kekurangan Spektrofotometer

a. Kelebihan Alat Spektrofotometer

- 1) Waktu yang dibutuhkan sekitar dua hingga tiga menit
- 2) Sampel yang diperlukan sangat sedikit dan dapat ditangani berkali-kali.

b. Kekurangan Alat Spektrofotometer

- 1) Gangguan pada bilirubin, ureum, dan protein menyebabkan banyak hasil positif palsu
- 2) Memperbaiki instrumen yang kompleks
- 3) Menggunakan 600 watt listrik, yang meningkatkan penggunaan daya.
- 4) Membersihkan sampel probe, reagen probe, dan kuvet membutuhkan 3,5 liter udara setiap jam.