

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Umum Kolesterol

1. Pengertian Kolesterol

Kolesterol adalah salah satu komponen lemak. Didalam lemak terdapat zat *triglicerida*, *fosfolipid*, asam lemak bebas, dan kolesterol. Secara umum kolesterol berfungsi untuk membangun dinding sel (*membran sel*) dalam tubuh. Selain itu, kolesterol juga berperan penting dalam produksi hormon, seperti *estrogen* dan *progesteron* pada wanita serta *testosteron* pada pria, membentuk vitamin D, penting juga untuk menjalankan fungsi otak dan saraf (Wati, 2020).

Kolesterol merupakan lemak yang dibutuhkan untuk pembentukan dinding sel dan sebagai bahan baku beberapa hormon yang terdapat didalam aliran darah atau sel tubuh, tetapi bila dikonsumsi dalam jumlah berlebih dapat menyebabkan peningkatan kolesterol dalam darah yang disebut *hiperkolesterolemia*. Kondisi *hiperkolesterolemia* bisa menyebabkan permasalahan diantaranya *aterosklerosis* (penyempitan pembuluh darah), penyakit jantung koroner, *stroke*, dan tekanan darah tinggi. Kolesterol diproduksi sendiri oleh tubuh dalam jumlah yang tepat secara normal. Jumlah kolesterol bisa meningkat karena asupan makanan yang berasal dari lemak hewani seperti daging, usus dan telur ayam, telur puyuh, daging dan telur bebek, daging kambing, daging sapi, hati, ikan, kepiting, udang, kerang, belut, cumi-cumi (Hastuty, 2018).

Pencegahan peningkatan kadar kolesterol dapat dilakukan dengan mengurangi konsumsi makanan yang mengandung kolesterol, berolahraga secara rutin, dan menerapkan gaya hidup yang baik. Selain itu, rutin melakukan pemeriksaan kesehatan termasuk pemeriksaan kadar kolesterol darah dapat membantu seseorang untuk mengontrol kolesterol dalam tubuh dan menurunkan risiko penyakit kardiovaskular dan tekanan darah tinggi (Rahmanda, dkk., 2018).

2. Jenis-jenis kolesterol

Kolesterol yang berada dalam tubuh terbagi menjadi beberapa komponen yang memiliki peran, karakteristik dan jumlahnya mengindikasikan kondisi tubuh secara spesifik.

a. *Low Density Lipoprotein* (LDL)

Low Density Lipoprotein (LDL) merupakan senyawa lipoprotein berat jenis rendah dan disusun oleh inti berupa 1500 molekul kolesterol yang dibungkus oleh lapisan fosfolipid dan molekul kolesterol tidak teresterifikasi. Bagian hidrofilik molekul terletak di sebelah luar, sehingga memungkinkan LDL larut dalam darah atau cairan ekstraseluler. Protein berukuran besar yang disebut *apoprotein* B-100 mengenal dan mengikat reseptor LDL yang mempunyai peranan penting dalam pengaturan metabolisme kolesterol. Protein utama pembentuk LDL adalah Apo B (*apolipoprotein-B*). Kandungan lemak jenuh tinggi membuat LDL mengambang di dalam darah dan dapat menyebabkan penempelan kolesterol di dinding pembuluh darah (Raditya, dkk., 2018).

b. *High Density Lipoprotein* (HDL)

High Density Lipoprotein (HDL) merupakan salah satu dari tiga komponen lipoprotein yaitu kombinasi lemak dan protein yang mengandung kadar protein tinggi, sedikit trigliserida dan fosfolipid serta mempunyai sifat umum protein dan terdapat pada plasma darah, disebut juga lemak baik yang membantu membersihkan penimbunan plak pada pembuluh darah. HDL (kolesterol baik) bertanggung jawab mengumpulkan kelebihan LDL (kolesterol jahat) dalam aliran darah dan mengangkutnya kembali ke hati untuk dibuang (Siringoringo & Chundrayetti, 2016).

c. *Trigliserida*

Trigliserida merupakan penyimpanan lipid yang utama didalam jaringan adiposa, bentuk lipid ini akan terlepas setelah terjadi hidrolisis bervariasi tergantung pada usia, jenis kelamin, dan aktivitas fisik (Watusseke dan Wowor, 2016).

oleh enzim lipase yang sensitif hormon menjadi asam lemak bebas dan gliserol. Asam lemak bebas akan terikat pada albumin serum dan untuk pengangkutannya ke jaringan, tempat asam lemak tersebut dipakai sebagai sumber bahan bakar yang penting. Kadar trigliserida dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu usia, jenis kelamin dan aktivitas fisik (Watusoke dan Wowor, 2016).

d. Kolesterol Total

Kolesterol total merupakan gabungan dari jumlah kolesterol baik, kolesterol jahat, dan *trigliserida* dalam setiap desiliter darah. Biasanya, dengan melihat kadar kolesterol total dan HDL saja sudah dapat menggambarkan kondisi umum kadar kolesterol (anggraeni, 2016).

3. Fungsi Kolesterol

Fungsi kolesterol menurut (Triharyanto, 2020), kolesterol memiliki fungsi vital dalam tubuh manusia, diantaranya:

a. Pembentukan dan pemeliharaan membran sel

Setiap sel dalam tubuh manusia memiliki lapisan luar pelindung dan salah satu komponen penting dari lapisan ini adalah kolesterol. Struktur kolesterol memungkinkannya untuk menempatkan diri di antara molekul lemak yang menyusun membran sel, sehingga meningkatkan fluiditas membran. Selain itu, kolesterol memainkan peran penting untuk beradaptasi dengan fluktuasi suhu.

b. Membentuk vitamin D

Tubuh kita tidak hanya menerima nutrisi dari makanan, tetapi juga memiliki kemampuan untuk menghasilkan vitamin D melalui paparan sinar matahari. Proses ini melibatkan perubahan kolesterol, khususnya *7-dehidrokolesterol* menjadi *kalsitriol* yang terjadi di dalam kulit.

c. Pembentukan Hormon

Kolesterol merupakan komponen penting untuk pembentukan hormon, khususnya hormon steroid seperti *testosteron*, *estrogen* dan *progesteron*. Selain itu, kolesterol terlibat dalam pembentukan hormon *kortisol* dan *aldosteron*.

d. Pembentukan asam empedu

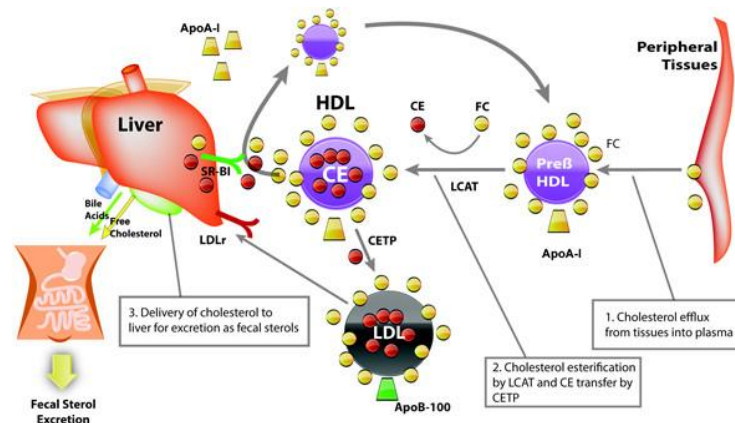
Hati bertanggung jawab untuk mensintesis asam empedu melalui bantuan kolesterol yang ada dalam aliran darah. Asam empedu ini secara efektif menghambat penyerapan lemak makanan sehingga mencegah tubuh memanfaatkannya sebagai sumber energi.

e. Menjaga Fungsi Otak

Otak merupakan organ dengan jumlah kolesterol paling tinggi (25%) dibandingkan organ lainnya. Kolesterol memainkan peran penting dalam menghubungkan saraf yang disebut sinapsis dan mengatur berbagai fungsi otak. Selain itu, membantu menjaga kesehatan sel-sel otak.

4. Metabolisme kolesterol

Selama metabolisme kolesterol, hampir semua fosfolipid dan kolesterol diserap di saluran pencernaan dan melewati kilomikron yang dikembangkan di mukosa usus. Sebagian besar kilomikron adalah trigliserida; komponen lainnya adalah apoprotein B (1%), fosfolipid (9%), dan kolesterol (3%). Ketika kilomikron melepaskan trigliserida dalam jaringan adiposa, sisa-sisa yang tertinggal membawa kolesterol ke hati. Dimulai dengan sintesis mevalonat dari asetil CoA, sumber atom karbon, proses sintesis kolesterol terdiri dari beberapa langkah. Dua molekul asetil CoA menggabungkan di bawah aksi enzim tiolase untuk menghasilkan asetoasetil CoA. Asetoasetil CoA kemudian menggabungkan dengan molekul asetil CoA untuk menghasilkan β hidroksil β metil glutaryl-CoA (HMG-CoA), yang kemudian diubah menjadi mevalonat oleh enzim HMG-CoA reduktase. Mevalonat, suatu isoprenoid, muncul dari dekarboksilasi-yaitu, penghapusan CO₂. Enam unit isoprenoid kemudian dipersingkat untuk menghasilkan skualan. Dari skualan, steroid induk lanosterol dihasilkan; kolesterol dihasilkan dari serangkaian peristiwa yang melibatkan eliminasi tiga gugus metil (Siregar, 2020).



Gambar 1. Metabolisme Kolesterol
(Sumber: Shoeman, dkk., 2015)

Proses pembentukan asam lemak akan disimpan sebagai sumber energi. Kandungan kolesterol yang tidak mencukupi, maka akan diproduksi oleh sel hati. Hasil produksi sel hati akan diangkut oleh lipoprotein ke jaringan tubuh yang memperlakukannya, seperti sel otot jantung di otak. Kelebihan pengangkutan kandungan kolesterol oleh lipoprotein ke jaringan tubuh, maka akan dikeluarkan atau dipecah dan dibuang ke kantung empedu menjadi cairan empedu (Nurrahmani, 2014).

5. Kadar Kolesterol Total

Nilai rujukan kadar kolesterol total menurut (PERKENI, 2021) adalah sebagai berikut:

Tabel 1. Kadar Kolesterol Total

Kriteria	Kadar Kolesterol Dalam Darah	
	nmol/l	mg/dl
Normal	< 5,2	< 200
Batas Tinggi	5,2 – 6,1	200 - 239
Tinggi	≥ 6,2	≥ 240

Jika kadar kolesterol darah tinggi maka dapat menyebabkan masalah pada tubuh yang disebut dengan *hiperkolesterolemia* (Kurniadi & Nurrahmani, 2014).

6. Faktor-faktor Yang Mempengaruhi Kadar Kolesterol

1. Faktor Fisiologis

Situasi yang ditandai dengan unsur-unsur yang mempengaruhi kadar kolesterol adalah situasi di mana kadarnya naik melebihi batas normal. Gangguan ini paling sering menyerang para perokok, peminum alkohol, penderita diabetes melitus, hipertensi, dan obesitas. Sejumlah elemen yang sangat vital untuk dikontrol sangat mempengaruhi kadar kolesterol (K & Hidayati, 2016).

a. Faktor Genetik

Dengan perkiraan 80% kolesterol dalam sirkulasi dihasilkan secara internal, elemen genetik jelas mempengaruhi sintesis kolesterol dalam tubuh manusia. Namun, setiap orang menghasilkan jumlah kolesterol yang berbeda dalam tubuh mereka. Hal ini mungkin berkaitan dengan faktor keturunan (Maudy, 2020)

b. Usia dan Jenis Kelamin

Biasanya mulai usia dua puluhan, kadar kolesterol mulai meningkat. Kolesterol yang menumpuk menyebabkan arteri darah semakin menebal, sehingga menghasilkan efek ini. Kesempatan seseorang untuk mengalami peningkatan kolesterol meningkat seiring dengan bertambahnya usia. Biasanya, kolesterol wanita meningkat selama menopause atau setelah usia 55 tahun. Meningkatnya kadar LDL memperparah bahaya penumpukan kolesterol dalam sirkulasi. Meskipun kadar kolesterol mereka biasanya 2-3 kali lebih besar daripada wanita, pria di atas usia 50 tahun lebih mungkin mengembangkan aterosklerosis (Maudy, 2020).

c. Faktor Makanan

Makanan yang dimakan, terutama lemak hewani seperti daging kambing, jeroan, dan telur, adalah penentu utama kadar kolesterol. Keseimbangan lemak dalam makanan cukup penting karena tubuh membutuhkan cukup lemak untuk mempertahankan tingkat energi. Namun, diet yang terlalu tinggi lemak dapat merusak pembuluh darah.

Memilih makanan harus dilakukan dengan hati-hati jika seseorang ingin memastikan kesehatan yang terbaik (Tarigan, 2021).

d. Obesitas

Obesitas yang berkepanjangan dapat menyebabkan masalah metabolisme karena hiperkolesterolemia dapat terjadi akibat konsumsi kalori yang terlalu tinggi dari makanan. Oleh karena itu, mempertahankan konsentrasi kolesterol yang sesuai dalam sirkulasi diperlukan untuk mengontrol metabolisme kolesterol. Namun, obesitas dapat mempengaruhi kontrol asam lemak, yang meningkatkan trigliserida dan ester kolesterol (Tarigan, 2021).

e. Aktivitas Fisik

Gaya hidup yang malas dapat menyebabkan buruknya pemanfaatan makanan yang dikonsumsi, yang dapat meningkatkan kadar LDL dan menurunkan kadar HDL. Penumpukan lemak yang padat di dalam tubuh akan terjadi, dan hal ini akan meningkatkan kadar kolesterol. Oleh karena itu, seseorang harus memasukkan latihan fisik ke dalam jadwal harian mereka jika mereka ingin memiliki kehidupan yang sehat (Maudy, 2020).

f. Merokok

Merokok hanya mempertahankan kadar kolesterol jahat dan sangat menurunkan kadar kolesterol baik, sehingga membuat mereka yang merokok sangat rentan terhadap efek kolesterol. Kadar kolesterol tinggi yang tidak diatasi dapat berakibat fatal. Kisaran normal untuk kolesterol adalah 160-200 mg/dl; tingkat 204 mg/dl atau lebih dapat berakibat fatal (Utama & Indasah, 2021).

2. Faktor Teknis

Seperti yang dikatakan oleh Pujiastuti (2017), beberapa hal berikut ini mempengaruhi kadar kolesterol:

a. Tahapan Pra Analitik

- 1) Identitas pasien harus lengkap dan jelas.
- 2) Posisi pengambilan sampel.

Saat berbaring, volume darah orang dewasa lebih tinggi 600 ml; volume darah lebih rendah 600 ml saat tegak. Ini adalah hasil dari peningkatan kadar protein plasma, yang menyebabkan volume plasma jauh lebih rendah saat berdiri. Dengan demikian, kecuali untuk penyakit yang ekstrem, posisi pengambilan darah harus dalam keadaan duduk.

3) Waktu pembendungan

Turniket harus segera digunakan dalam pemeriksaan lipid karena penggunaan torniket yang terlalu lama selama pengambilan darah vena dapat meningkatkan kadar lipid

4) Pengambilan sampel

Sampel darah dapat membantu menghindari hemolisis. Hemolisis menghasilkan pecahnya eritrosit, suatu kondisi yang ditandai dengan keluarnya hemoglobin dari sel. Hemolisis harus dihindari karena hemoglobin memiliki kemungkinan untuk meningkatkan kadar kolesterol.

5) Penanganan sampel

Sampel darah yang dikumpulkan pertama-tama dibekukan untuk menghentikan hemolisis dan menghancurkan filamen fibrin. Sepuluh menit setelah pendinginan, sampel tersebut disentrifugasi pada 3000 rpm. Mengikuti protokol, serum pertama kali diperiksa untuk kadar kolesterol setelah dipisahkan dari bekuan darah.

b. Tahapan analitik

1) Reagen

Elemen-elemen berikut ini harus dipertimbangkan ketika menggunakan reagen

- a) Kualitas fisik, kemasan, dan tanggal kedaluwarsa.
- b) Suhu penyimpanan:
- c) Penyimpanan reagen sebelum analisis (peralatan, suhu, stabilitas).

2) Alat/Instrumen

Perlu diperhatikan pada penggunaa peralatan:

- a) Bagian-bagian fotometer dan alat ukur otomatis lainnya harus berfungsi dengan baik (kalibrasi alat).
- b) Pipet juga harus dipantau secara teratur ketepatannya.
- c) Kebersihan, keutuhan dan ketepatan merupakan persyaratan yang harus dipenuhi agar alat dapat dipakai.

3) Metode pemeriksaan

Dalam memilih metode pemeriksaan, hendaknya dipertimbangkan:

- a) Reagen yang mudah diperoleh.
- b) Alat yang tersedia dapat untuk memeriksa dengan metode tersebut.
- c) Suhu pemeriksaan dipilih sesuai dengan tempat kerja.
- d) Metode pemeriksaan yang mudah dan sederhana.

c. Tahap pasca analitik

pencatatan hasil dan pelaporan hasil dilakukan secara teliti dan benar.

7. Metode Pemeriksaan Kolesterol

a. Metode *Liebermann Burchard*

Dalam metode ini, kolesterol bereaksi dengan anhidrida asetat dan asam sulfat pekat dalam lingkungan berair untuk mencapai saturasi. Proses dimulai dengan protonasi gugus hidroksi pada kolesterol, mengakibatkan hilangnya air dan pembentukan *ion karbonin-3, 5-kolestadiena*. Ion ini kemudian dioksidasi oleh ion sulfit untuk membentuk kromofor yang dikenal sebagai asam *cholestahexaenasulfonic*. Intensitas warna yang dihasilkan diukur dengan absorbansi menggunakan fotometer.

Kelebihan metode *liebermann burchard* yaitu:

1. Sensitive (dengan mendeteksi kolesterol pada kadar yang rendah).
2. Pereaksinya stabil.
3. Reaksinya cepat.
4. Tidak dipengaruhi oleh senyawa steroid.

Kelemahan metode *liebermann burchard* yaitu:

1. Tidak spesifik, karena dengan metode ini juga mendeteksi demosterol (*precursor* kolesterol).
2. Intensitas cahaya tergantung pada:
 - a. Konsentrasi asam sulfat pekat.
 - b. Jumlah air dalam pereaksi.
 - c. Sela waktu antara penambahan pereaksi dengan pembacaan absorbansi (≤ 5 menit).
 - d. Iluminasi atau pencahayaan (Syachlanni, 2022)

b. Metode *Elektrode-Based Biosensor*

Pemeriksaan tersebut bekerja dengan memanfaatkan katalis dan teknologi biosensor khusus untuk mengukur kadar kolesterol dalam darah. Saat darah diteteskan ke zona reaksi strip tes, katalis kolesterol menyebabkan oksidasi kolesterol dalam darah. Sensor perangkat kemudian mengukur intensitas elektron yang dihasilkan, yang berbanding lurus dengan konsentrasi kolesterol dalam darah. Metode *Electrode-Based Biosensor* adalah jenis pemeriksaan yang melibatkan penggunaan alat *Point of Care Testing* (POCT) otomatis dan strip tes kolesterol darah. Darah kapiler dari ujung jari digunakan sebagai sampel dan strip tes dirancang untuk pengujian mandiri diluar tubuh (diagnostik *in vitro*) karena kesederhanaan alat.

Kelebihan metode *electrode-based biosensor* yaitu:

1. Sensitivitas tinggi, yang memungkinkan deteksi konsentrasi kolesterol dalam sampel dengan presisi.
2. Memberikan hasil dengan waktu respon yang cepat dan memungkinkan diagnosis yang lebih cepat.
3. *Biosensor electrode* yang dapat diintegrasikan dalam perangkat miniature yang memudahkan penggunaan dilapangan atau dirumah.

Kekurangan metode *electrode-biosed biosensor* yaitu:

1. Kemungkinan terjadinya interferensi dari senyawa lain dalam sampel.
2. Keterbatasannya dalam rentang deteksi.

3. Perlu pemeliharaan perangkat yang cermat untuk menjaga keakuratan.
4. biaya produksi dan pengoperasian perangkat ini dapat menjadi faktor yang perlu diperhitungkan (Yati Gusmayani, 2021).

c. Metode *CHOD-PAP*

Metode CHOD-PAP untuk mengukur kadar kolesterol merupakan teknik yang memenuhi standar yang ditetapkan oleh *World Health Organization*. Metode ini melibatkan penguraian dan pengoksidasi kolesterol melalui penggunaan enzim. Akibatnya, zat merah yang disebut *quinoneimine* diproduksi ketika hidrogen peroksidase dan *4-aminoantipyrin* bereaksi dengan fenol dan peroksidase. Intensitas warna merah yang dihasilkan berhubungan dengan jumlah kolesterol yang ada dan diukur pada panjang gelombang 500 nm.

Kelebihan metode CHOD-PAP yaitu:

1. Sensitivitas tinggi, metode ini cenderung memiliki sensitivitas tinggi, memungkinkan deteksi kolesterol dalam konsentrasi rendah
2. Spesifik, metode ini umumnya spesifik terhadap kolesterol, mengurangi risiko interferensi dari senyawa lain.
3. Relatif cepat, proses analisis kolesterol dengan metode ini seringkali lebih cepat dibandingkan metode lain, memungkinkan hasil lebih cepat.
4. Penggunaan sampel yang sedikit, metode ini memungkinkan pengukuran kolesterol dengan menggunakan sampel darah yang lebih kecil.

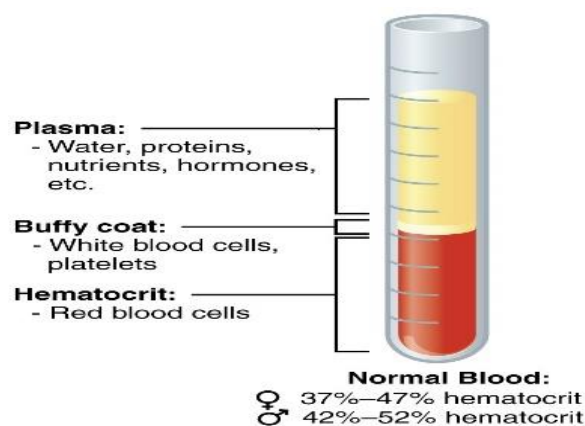
Kekurangan metode CHOD-PAP yaitu:

1. Interferensi substansi lain, beberapa zat atau senyawa dalam sampel darah dapat menyebabkan interferensi, mempengaruhi akurasi hasil.
2. Biaya reagen yang tinggi, reagen yang digunakan biasanya dapat memiliki biaya yang relatif tinggi.
3. Variabilitas antara kit reagen, penggunaan kit reagen yang berbeda dari produsen dapat menghasilkan variasi dalam hasil pengukuran.

4. Pemeliharaan alat yang diperlukan, beberapa metode enzimatik memerlukan alat khusus atau peralatan yang memerlukan pemeliharaan rutin.
5. Kepekaan terhadap kondisi lingkungan, beberapa metode enzimatik bisa lebih sensitif terhadap perubahan kondisi lingkungan seperti suhu atau kelembaban.
6. Memerlukan teknik tertentu (pembacaan absorbansi harus cepat dan tepat) (Syachlanni, 2022).

B. Tinjauan Umum *Whole Blood* (Darah Lengkap)

Whole blood atau darah lengkap merupakan jaringan cair yang menyusun sekitar 6-8% berat badan dan terdiri dari 2 komponen, yaitu *substansi* cair serta padat. *Substansi* cair atau dikenal dengan plasma menyusun sekitar 55% total volume darah, tersusun atas air, dan di dalamnya terlarut banyak senyawa kimia. Sedangkan *substansi* padat, menyusun sekitar 45% dari total volume darah, terdiri dari sel-sel darah berupa eritrosit, leukosit, dan trombosit. Lebih dari 99% sel adalah sel darah merah, hematokrit, atau volume sel yang dikemas. Hematokrit pada dasarnya mencerminkan persentase sel darah merah dalam volume darah (Firani, 2018).



Gambar 2. Komponen-komponen darah
(Sumber: Dewi,2018)

Darah menjadi salah satu komponen tubuh sangat penting yang berbentuk cairan berwarna merah. Dalam kinerjanya darah membawa berbagai

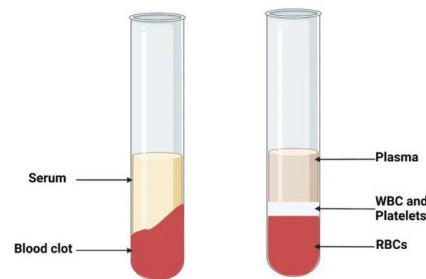
zat yang masuk maupun keluar dari tubuh. Darah merupakan konektif atau jaringan ikat berbentuk cair yang berfungsi menjadi alat pengangkut utama di dalam tubuh, darah berwarna merah tua hingga merah muda. Warna merah ini merupakan protein respirasi yang mengandung besi dan merupakan tempat pengikatan molekul oksigen yang disebabkan oleh hemoglobin. Darah merupakan jaringan hidup yang bersirkulasi ke seluruh tubuh untuk membawa oksigen, antibodi, nutrisi, panas, vitamin tubuh dan elektrolit dengan perantara jaringan *arteri*, vena dan *kapilaris* (Hiru, 2015).

C. Tinjauan Umum Serum

a. Pengertian Serum

Serum adalah bagian cair darah yang tidak mengandung sel-sel darah dan faktor-faktor pembekuan darah. Protein-protein *koagulasi* lainnya dan protein yang tidak terkait dengan *hemostasis*, tetap berada dalam serum dengan kadar serupa dalam plasma. Apabila proses *koagulasi* berlangsung secara abnormal, serum mungkin mengandung sisa *fibrinogen* dan produk pemecahan *fibrinogen* atau *protrombin* yang belum di *konvensi*. Serum diperoleh dari spesimen darah yang tidak ditambahkan antikoagulan dengan cara memisahkan darah menjadi 2 bagian dengan menggunakan sentrifus, setelah darah didiamkan hingga membeku kurang lebih 15 menit (Nugraha, 2015).

Setelah didiamkan akan tampak gumpalan darah dan cair dari darah yang berwarna kuning jernih. Gumpalan darah tersebut terdiri atas seluruh unsur *figuratif* darah yang telah mengalami proses penggumpalan atau koagulasi spontan, sehingga terpisah dari unsur larutan yang berwarna kuning jernih (Sadikin, 2014).



Gambar 3. Perbedaan serum dan plasma
(Sumber: Utami, 2023)

Darah lengkap yang dikumpulkan minimal dua setengah kali volume yang dibutuhkan untuk tes menghasilkan serum. Sebagai contoh, ATLM harus mengumpulkan 2,5 ml darah lengkap jika dibutuhkan satu mililiter serum. Setelah membiarkan darah yang terkumpul menggumpal selama sekitar 30 hingga 45 menit, darah tersebut disentrifugasi untuk menghasilkan cairan yang dikenal sebagai serum dan trombosit darah dengan bentuk yang tidak beraturan. Ketika pembekuan darah terjadi secara keseluruhan, gumpalan darah dengan mudah dikeluarkan dari dinding tabung (Sadikin, 2014)

Kualitas sampel serum yang diuji sangat dipengaruhi oleh proses pemurnian. Oleh karena itu, ATLM harus memperhatikan hal-hal berikut:

- 1) Darah utuh tidak boleh ditempatkan di dalam tabung selama lebih dari satu jam karena kontak terus menerus dengan tabung menyebabkan perubahan kimiawi pada serum yang dihasilkan. Perubahan yang paling jelas adalah penurunan kadar glukosa darah dan peningkatan zat besi serum (Lieseke & Zeibig, 2017).
- 2) Darah disentrifugasi di sekelilingnya setelah trombus terbentuk. Jika sentrifugasi dilakukan sebelum gumpalan terbentuk, faktor pembekuan tidak akan bercampur dengan sel darah di bawah tabung. Sebaliknya, mereka akan berkumpul menjadi gumpalan fibrin yang cukup besar dalam lapisan serum. Koagulasi fibrin yang fleksibel dan cair menghambat pemisahan serum uji (Lieseke & Zeibig, 2017).

- 3) Setelah proses sentrifugasi memisahkan serum, serum harus dipindahkan ke wadah lain (Lieseke & Zeibig, 2017).
- 4) Sampel serum yang diperiksa haruslah sampel serum yang memiliki 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, 2017).

b. Pembuatan Serum

Setelah memisahkan darah non-antikoagulan menggunakan sentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 515 menit, darah dibiarkan membeku selama 2030 menit. Serum dibuat selanjutnya. Sesuai dengan Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), darah harus didiamkan selama 30 hingga 60 menit sebelum disentrifugasi untuk mendapatkan serum dengan kualitas yang sangat baik. Serum dipisahkan selambat-lambatnya dua jam setelah sampel diambil. Warna kemerahan (hemolisis) maupun kekeruhan (lipemik) tidak boleh terlihat pada serum yang memenuhi syarat (Permenkes, 2013).

c. Macam-Macam Serum tidak Normal

Macam-Macam Serum tidak Normal yaitu:

1) Serum lipemik

Serum lipemik adalah keadaan saat serum mengandung lipoprotein berlebih. Penyebab utama terjadinya serum lipemik adalah adanya partikel besar lipoprotein yaitu kilomikron. Partikel-partikel besar Serum ikterik tersebut berkumpul di dalam serum sehingga menyebabkan kekeruhan dan warna putih susu. Partikel terbesar yang dimaksud adalah kilomikron yang memiliki ukuran 70 - 1000 nm (Nicolac, 2014).

2) Serum ikterik

Serum ikterik adalah serum yang berwarna kuning coklat yang disebabkan karena peningkatan konsentrasi bilirubin (Ghaedi, dkk., 2016).

3) Serum hemolisis

Serum hemolisis adalah serum yang berwarna kemerahan yang disebabkan karena lepasnya hemoglobin dari eritrosit yang rusak (Ghaedi, dkk., 2016).



Gambar 4. Jenis-Jenis Serum Abnormal
(Sumber: Stefani, 2016)




D. Tinjauan Umum Tabung Vacutainer







a. Pengertian tabung vacutainer







Tabung vacutainer adalah wadah yang digunakan untuk penampungan sampel darah. Joseph Kleiner pertama kali mendesain tabung vacutainer pada tahun 1947, kemudian diproduksi secara massal oleh perusahaan Becton Dickinson (Pramesti, 2018). Salah satu ciri khas tabung ini adalah warna tutupnya. Warna tutup tabung ini dapat digunakan untuk membedakan jenis antikoagulan dan penggunaannya dalam penelitian di laboratorium (Riswanto, 2014).

b. Macam – macam tabung vacutainer

Tabel 2. Gambar, fungsi dan keterangan tabung vacutainer

No	Nama Tabung Vakum	Gambar Tabung Vakum	Keterangan
1.	Tabung tutup kuning		<p>Tabung SST berisi gel separator yang fungsinya memisahkan serum dan sel darah. Setelah pemusingan, serum akan berada di bagian atas gel dan sel darah berada di bawah gel. SST mengandung komposisi bahan pengaktif bekuan silika (<i>silica clot activator</i>) dan polimer gel.</p>
2.	Tabung tutup merah		<p>Tabung ini merupakan tabung tanpa antikogulan dan gel separator, sehingga darah dapat membeku secara alami dan digunakan dalam pemeriksaan kimia darah, imunologi, serologi dan bank darah.</p>
3.	Tabung vakum tutup hijau terang		<p>Tabung ini berisi gel separator (<i>plasma separator tube / PST</i>) dengan antikoagulan lithium heparin, digunakan untuk pemeriksaan kimia darah, imunologi, dan serologi.</p>

4.	Tabung vakum tutup ungu/lavender		Tabung ini berisi EDTA, umumnya digunakan untuk pemeriksaan darah lengkap dan bank darah (<i>crossmatch</i>).
5.	Tabung vakum tutup biru		Tabung ini berisi natrium sitrat, umumnya digunakan untuk pemeriksaan koagulasi misalnya, PPT dan APTT.
6.	Tabung vakum tutup emas		Tabung ini berisi gel dibagian bawah untuk memisahkan darah dari serum dengan cara sentrifugasi dan digunakan pada pemeriksaan kimia, imunologi dan serologi, bank darah (<i>crossmatch</i>).
7.	Tabung vakum tutup coklat		Tabung ini berisi sodium heparin. <i>Inactivates thrombin</i> dan <i>tromboplastin</i> , isinya hampir tidak ada timbal. Di Digunakan untuk pemeriksaan serum <i>leaf determination</i> .
8.	Tabung vakum tutup orange		Tabung ini berisi trombin sehingga mempercepat pembekuan darah dan digunakan untuk pemeriksaan STAT serum kimia.
9.	Tabung vakum tutup hijau		Tabung ini berisi natrium atau lithium heparin, umumnya digunakan untuk pemeriksaan fragilitas osmotik eritrosit dan kimia darah.

10.	Tabung vakum tutup biru gelap		Tabung ini berisi EDTA bebas logam, umumnya digunakan untuk pemeriksaan <i>trace element</i> (zink, copper, mercury) dan toksikologi.
11.	Tabung vakum tutup abu-vakum terang		Tabung ini berisi natrium fluoride dan kalium oksalat, digunakan untuk pemeriksaan glukosa.
12.	Tabung vakum tutup hitam		Tabung ini berisi bufer sodium sitrat, digunakan untuk pemeriksaan LED (ESR).
13.	Tabung vakum tutup pink		Tabung ini berisi potasium EDTA, dan digunakan untuk pemeriksaan imunohematologi.
14.	Tabung vakum tutup putih		Tabung ini berisi potasium EDTA, umumnya digunakan untuk pemeriksaan molekuler atau PCR dan DNA.
15.	Tabung vakum tutup kuning dengan warna hitam di bagian atas		Tabung ini berisi media biakan, digunakan untuk pemeriksaan mikrobiologi-aerob, anaerob dan jamur.

Sumber: (Arianda, 2019)

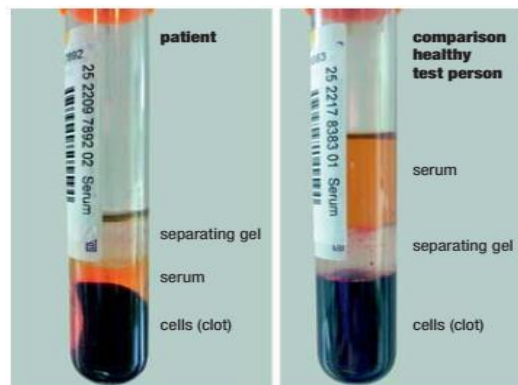
E. Tinjauan Umum Tabung Gel Separator

Tabung gel separator berisi gel separator yang fungsinya memisahkan serum dan sel darah. Setelah pemusingan, serum akan berada di bagian atas gel dan sel darah berada di bawah gel. Tabung gel separator mengandung komposisi bahan pengaktif bekuan silika (*silica clot activator*) dan *polimer gel*. Tabung berisi silika yang meningkatkan aktivasi trombosit, sehingga

memperpendek waktu yang diperlukan untuk proses pembekuan dan mengurangi waktu sentrifugasi. Tabung harus dibolak-balik sebanyak lima kali untuk mengekspos darah untuk menggumpal. Gel pemisah digunakan untuk memisahkan serum atau plasma dari sel-sel darah Tabung serum separator merupakan tabung yang berfungsi sebagai penyimpanan dan *analysis tube*, yang mengurangi kesalahan identifikasi. Waktu pembekuan yang dibutuhkan adalah 15-30 menit (mengurangi resiko terbentuknya fibrin). Tabung disentrifugasi pada 4000 rpm selama 10 menit, atau 15 menit.



Gambar 5. Tabung Gel Separator
(Sumber: Dokumentasi Pribadi, 2024).



Gambar 6. Perbedaan posisi serum pada orang normal dan pasien *multiple myeloma* (MM) (Sumber: Maire dan Schluter, 2017)

Manfaat tabung pemisah gel meliputi:

- a) Menggunakan Polymer Gel Inert sebagai pemisah serum dan silika yang dimikronisasi sebagai clot activator membantu menjamin integritas serum dan menurunkan kemungkinan fibrin menyumbat instrumen (Asih, 2017).

- b) Alat ini efektif dalam pengambilan darah karena waktu yang dibutuhkan untuk mendapatkan serum sekitar setengah dari waktu yang dibutuhkan untuk mendapatkan serum dengan tabung merah tradisional (Asih, 2017).
- c) Serum yang diperoleh lebih tinggi daripada tabung sederhana merah, yang memungkinkan sampel diperiksa kemudian. Hal ini terjadi karena sampel terlambat diambil dan diperiksa atau diproses keesokan harinya (Asih, 2017).
- d) Sifat gel memastikan bahan darah tetap berada di dasar tabung selama penanganan, penyimpanan, dan transit. Hal ini menyiratkan bahwa gel tidak mengalir dan bahkan jika tabung dibalik atau diaduk, serum tetap terpisah dan tidak bercampur dengan sel darah (Asih, 2017).

Berbagai faktor, termasuk bahan tabung, kecepatan sentrifugasi, dan suhu, dapat mempengaruhi kelemahan tabung pemisah gel. Pelepasan komponen dari pemisah gel dapat mempengaruhi stabilitas konsentrasi analit darah, sehingga mengganggu pengujian. Tidak digunakan setelah tanggal kedaluwarsa, wadah pemisah gel harus disimpan antara 4°C dan 25°C. Untuk mengkoagulasi sampel dari individu tertentu dengan masalah koagulasi, tabung pemisah gel dapat membutuhkan waktu lebih dari tiga puluh menit (Ayi, 2015).

F. Tinjauan Umum Sentrifugasi

Salah satu metode yang digunakan dalam pemisahan campuran adalah sentrifugasi. Sentrifugasi ialah proses pemisahan partikel berdasarkan berat partikel tersebut terhadap densitas layangnya. Gaya sentrifugal merupakan proses yang terjadi apabila perubahan berat partikel dari keadaan normal menjadi meningkat seiring dengan kecepatan serta sudut kemiringan perputaran partikel tersebut terhadap sumbunya. Pada pemisahan, partikel yang densitasnya lebih tinggi dari pada pelarut turun (sedimentasi), dan partikel yang lebih ringan mengapung ke atas (Gopala, 2016)



Gambar 7. Centrifuge
(Sumber: Dokumentasi Pribadi, 2024)

Sentrifugasi diferensial-yang digunakan untuk mencapai pemisahan-sebagian besar tergantung pada ukuran partikel. Partikel yang lebih besar dan lebih padat akan mengendap dalam suspensi dengan kepadatan partikel yang berbeda-beda. Kita dapat meningkatkan laju sedimentasi ini dengan menggunakan gaya sentrifugal. Sebuah sel yang tersuspensi di bawah rangkaian siklus gaya sentrifugal yang meningkat akan menghasilkan rangkaian sedimentasi. Efisiensi sentrifugasi tergantung pada sifat-sifat campuran yang akan dipisahkan. Sentrifugasi ini tidak hanya meningkatkan kapasitas pemisahan tetapi juga sangat penting untuk standar kualitas produk (Gopala, 2016).

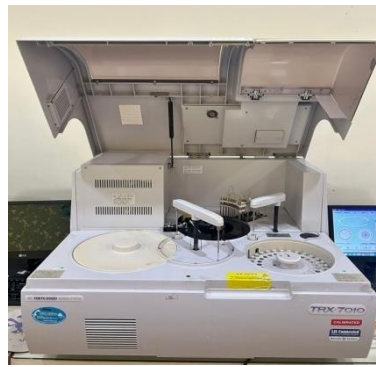
G. Tinjauan Umum Tentang Spektrofotometer

1. Definisi Spektrofotometer

Spektrofotometer adalah alat yang digunakan dalam pengukuran absorbansi di mana kuvet - gelas atau benda kuarsa - dikenai cahaya dengan panjang gelombang yang ditentukan. Cahaya akan ditransmisikan sementara sebagian akan diserap. Berbanding lurus dengan nilai absorbansi cahaya yang melewati kuvet, akan menjadi konsentrasi larutan dalam kuvet.

Sesuai dengan namanya, alat ini terdiri dari fotometer dan spektrometer. Sementara spektrofotometer menciptakan cahaya dari spektrum dengan panjang gelombang yang ditentukan, fotometer adalah alat

yang digunakan dalam pengukuran cahaya yang ditransmisikan atau diserap. Dengan demikian, spektrofotometer digunakan untuk mengukur energi dalam hal transmisi, refleksi, atau emisi sebagai fungsi panjang gelombang.



Gambar 7. Spektrofotometer
(Sumber: Dokumentasi Pribadi, 2024)

Dengan menggunakan pengurai, seperti prisma, kisi, atau celah optik, spektrofotometer menawarkan lebih banyak selektivitas panjang gelombang cahaya putih, oleh karena itu membedakannya dari fotometer. Dengan menggunakan serangkaian filter dengan warna berbeda yang dimaksudkan untuk melintasi lintasan panjang gelombang tertentu, panjang gelombang cahaya yang diperlukan dapat dicapai dalam fotometer filter.

Panjang gelombang yang sepenuhnya monokromatik tidak dapat dicapai dengan fotometer filter; sebaliknya, lintasan panjang gelombang 30-40 nm dapat diperoleh. Sebaliknya, dengan menggunakan alat pengurai cahaya, seperti prisma, spektrofotometer dapat menentukan panjang gelombang secara tepat. Mengukur perbedaan penyerapan antara sampel dan blanko atau pembanding, monokromator, sel penyerap untuk larutan sampel atau blanko, spektrofotometer adalah perangkat untuk sumber spektrum yang terlihat secara kontinyu.

2. Instrumen Spektrofotometer

a. Sumber Cahaya

Dalam spektrofotometer, sumber cahaya harus memiliki intensitas yang kuat dan aliran radiasi yang konstan. Sumber energi cahaya konvensional untuk daerah tampak, ultraviolet dekat, dan inframerah dekat adalah lampu pijar dengan kabel rambut tungsten. Sebanding dengan bola lampu pijar biasa, kisaran panjang gelombang lampu ini (1) adalah 350 - 2200 nanometer (nm).

b. Monokromator

Monokromator adalah perangkat yang dimaksudkan untuk mendistribusikan cahaya polikromatik ke dalam banyak komponen panjang gelombang yang berbeda.

c. kuvet

Kuvet spektrofotometer adalah alat yang digunakan dalam analisis sampel atau contoh. Biasanya berbentuk tabung persegi panjang dengan panjang 1 cm, lebar 1 cm, dan tinggi 5 cm, kuvet memiliki konstruksi yang membutuhkan kuarsa, plexiglass, kaca, atau plastik. Pengukuran UV menggunakan kuvet kuarsa atau plexiglass; kuvet kaca tidak sesuai karena penyerapan sinar UV. Seseorang dapat melakukan pengukuran dalam spektrum cahaya tampak dengan menggunakan banyak kuvet

d. Detektor

Reaksi terhadap cahaya dengan panjang gelombang yang berbeda menentukan tujuan detektor penerima. Penampil data akan menunjukkan cahaya yang diubah oleh detektor menjadi sinyal listrik baik sebagai angka digital atau penunjuk jarum.

Mengukur transmitansi larutan sampel akan membantu seseorang untuk menentukan konsentrasinya dengan menggunakan hukum Lambert-Beer. Spektrofotometer akan membandingkan intensitas cahaya yang melewati sampel (I) dengan intensitas cahaya sebelum melewati sampel (I_0). Biasanya dinyatakan sebagai persentase%, rasio

ini dikenal sebagai transmitansi dan digunakan untuk mendapatkan absorbansi (A) dengan menggunakan rumus $A = -\log \%T$

3. Prinsip Spektrofotometer

Pada fotometer filter, sulit untuk mendapatkan panjang gelombang yang benar-benar monokromatik; namun demikian, dimungkinkan untuk mencapai lintasan panjang gelombang 30-40 nm. Sebaliknya, dengan menggunakan alat pengurai cahaya, seperti prisma, spektrofotometer dapat menentukan panjang gelombang secara tepat. Bersama dengan sumber spektrum yang terlihat secara kontinu dan monokromator, spektrofotometer adalah alat untuk mengukur perbedaan penyerapan antara sampel dan blanko atau pembanding. Alat ini juga terdiri dari sel absorpsi untuk larutan blanko atau sampel.

4. Kelebihan dan Kekurangan Spektrofotometer

a. Kelebihan Alat Spektrofotometer

- 1) Dua hingga tiga menit adalah waktu yang dibutuhkan
- 2) Seseorang hanya membutuhkan sedikit sampel; juga memungkinkan untuk menjalankan banyak sampel.

b. Kekurangan Alat Spektrofotometer

- 1) Gangguan pada bilirubin, ureum, dan protein menyebabkan hasil yang salah
- 2) Pemeliharaan instrumen yang canggih
- 3) Kebutuhan tegangan listrik 600 watt mendorong penggunaan daya yang lebih besar.
- 4) Pembersihan sampel probe, reagen probe, dan kuvet membutuhkan 3,5 liter air setiap jam, sehingga membutuhkan air dalam jumlah besar.