

**PENGANTAR
KIMIA KLINIK
DAN DIAGNOSTIK**

Penerbit WR

Undang-Undang Republik Indonesia No. 19 Tahun 2002 tentang Hak Cipta

Sanksi Pelanggaran Hak Cipta

Sanksi pidana atas pelanggaran Hak Cipta dalam Undang-Undang R.I. No.19 tahun 2002:

Pasal 72

1. Barang siapa dengan sengaja dan tanpa hak melakukan perbuatan sebagaimana dimaksud dalam Pasal 2 ayat (1) atau Pasal 49 ayat (1) dan ayat (2) dipidana dengan pidana penjara masing-masing paling singkat 1 (satu) bulan dan / atau denda paling sedikit Rp.1.000.000,00 (satu juta), atau pidana penjara paling lama 7 (Tujuh) tahun dan / atau denda paling banyak Rp.5.000.000.000,00 (lima milyar rupiah).
2. Barang siapa dengan sengaja menyiarkan, memamerkan, mengedarkan, atau menjual kepada umum suatu Ciptaan atau barang hasil pelanggaran Hak Cipta atau Hak Terkait sebagaimana dimaksud pada ayat (1) dipidana dengan pidana penjara paling lama 5 (lima) tahun dan / atau denda paling banyak Rp.500.000.000,00 (lima ratus juta rupiah).

Dr.rer.nat. Adryan Fristiohady, S.Farm., M.Sc.,Apt.
Dr. Ruslin, M.Si.

**PENGANTAR
KIMIA KLINIK
DAN DIAGNOSTIK**

Pengantar Kimia Klinik dan Diagnostik

Cetakan I, Januari 2020

Penulis : Dr.rer.nat. Adryan Fristiohady, S.Farm., M.Sc.,Apt. dan
Dr. Ruslin, M.Si.

Editor : La Ode Muhammad Julian Purnama, S.Farm, Apt.

Layouter : Joni WR

Desain Sampul : Agus Istianto

Diterbitkan Oleh:

Penerbit Wahana Resolusi

Pandeyan, Umbulharjo

Kota Yogyakarta 55161

Fristiohady, Adryan dan Ruslin. *Pengantar Kimia Klinik dan Diagnostik.*

Yogyakarta: Wahana Resolusi, 2020.

x + 86 hlm, 16x24 cm

ISBN: 978-623-7639-08-4

Perpustakaan Nasional:

Katalog dalam Terbitan

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

All Right Reserved

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kepada Tuhan yang Maha Esa, yang senantiasa memberikan kekuatan, kesehatan, rezki serta petunjuk sehingga buku *Pengantar Kimia Klinik dan Diagnostik* ini dapat diselesaikan dan diterbitkan.

Terima kasih kami tujukan kepada Rektor Universitas Halu Oleo **Prof. Dr. Muhammad Zamrun Firihi, S.Si., M.Si., M.Sc.** serta civitas akademika Fakultas Farmasi UHO atas dukungan dalam pengembangan karir akademik penulis.

Ucapan terima kasih kepada berbagai pihak yang telah membantu dan mendukung penulis dalam menyelesaikan buku ini. Kepada La Ode Muhammad Julian Purnama, S.Farm., Apt. yang telah meluangkan waktu, tenaga dan pikirannya sebagai editor buku ini.

Buku ini ditujukan sebagai referensi bagi tenaga kesehatan serta mahasiswa dalam rangka peningkatan wawasan dan kemampuan dalam memahami metode pengujian dan interpretasi data klinik. Bagi tenaga pendidik dapat dijadikan rujukan untuk melaksanakan Tri Dharma Perguruan Tinggi.

Kami menyadari keterbatasan dalam menyusun buku referensi ini, untuk itu kami mengharapkan kritik dan saran yang membangun untuk kesempurnaan buku ini.

Kendari, Januari 2020

Penulis

SINOPSIS

Kimia klinik merupakan ilmu kuantitatif pengukuran zat penting dalam cairan tubuh secara biologis untuk tujuan diagnostik. Studi molekuler dan genetika saat ini memungkinkan diagnosis untuk menjadi prediktif. Diagnostik molekuler merupakan istilah yang luas untuk menggambarkan bagian dari tes diagnostik yang menilai kesehatan seseorang secara harfiah pada tingkat molekuler, mendeteksi dan mengukur sekuens genetik spesifik pada asam deoksiribonukleat (DNA) atau asam ribonukleat (RNA) atau protein yang diekspresikan.

Buku ini ditujukan sebagai referensi bagi tenaga kesehatan serta mahasiswa dalam rangka peningkatan wawasan dan kemampuan dalam memahami metode pengujian dan interpretasi data klinik. Buku referensi ini menyediakan informasi mengenai Ruang Lingkup Kimia Klinik dan Diagnostik Molekuler, Karakterisasi Sampel, Pengumpulan, Penyimpanan, Pengawetan dan Pengiriman Sampel, pemeriksaan Hematologi, Pemeriksaan Fungsi Hati, Pemeriksaan Fungsi Ginjal, Pemeriksaan Lipid dan Lipoprotein, Pemeriksaan Glukosa Darah, Pemeriksaan Asam Urat serta Pemeriksaan Diagnostik Molekuler.

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	v
SINOPSIS	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL	x
BAB I. PENDAHULUAN	2
A. Kimia Klinik.....	2
B. Diagnostik Molekuler	3
PUSTAKA	7
BAB II. SAMPEL, KARAKTERISASI DAN TUJUAN ANALISIS	9
A. Darah	9
B. Urin	10
C. Cairan Lain	10
D. Analit	11
PUSTAKA	13
BAB III. PENGUMPULAN, PENYIMPANAN, PENGAWETAN DAN PENGIRIMAN SAMPEL	15
A. Pengumpulan Sampel	15
B. Pengawetan dan Penyimpanan Sampel	17
C. Pengiriman Sampel	18
PUSTAKA	19
BAB IV. PEMERIKSAAN HEMATOLOGI	22
A. Pendahuluan	22
B. Pemeriksaan Hematologi	25
PUSTAKA	33
BAB V. PEMERIKSAAN FUNGSI HATI	35
A. Pendahuluan	35
B. Pemeriksaan Fungsi Hati	37
PUSTAKA	48

BAB VI. PEMERIKSAAN FUNGSI GINJAL	50
A. Pendahuluan	50
B. Pemeriksaan Fungsi Ginjal	51
PUSTAKA	59
BAB VII. PEMERIKSAAN LIPID DAN LIPOPROTEIN	61
A. Pendahuluan	61
B. Pemeriksaan Lipid dan Lipoprotein	62
PUSTAKA	67
BAB VIII. PEMERIKSAAN KADAR GLUKOS DARAH	69
A. Pendahuluan	69
B. Pemeriksaan Glukosa Darah	70
PUSTAKA	72
BAB IX. PEMERIKSAAN ASAM URAT	74
A. Pendahuluan	74
B. Pemeriksaan Asam Urat	75
PUSTAKA	77
BAB X. PENGUJIAN DIAGNOSTIK MOLEKULER	79
A. Pendahuluan	79
B. Pengujian Diagnostik Molekuler	79
C. Metode Pengujian Diagnostik Molekuler	80
D. Istilah Terkait Diagnostik Molekuler	82
PUSTAKA	84
TENTANG PENULIS.....	85

DAFTAR GAMBAR

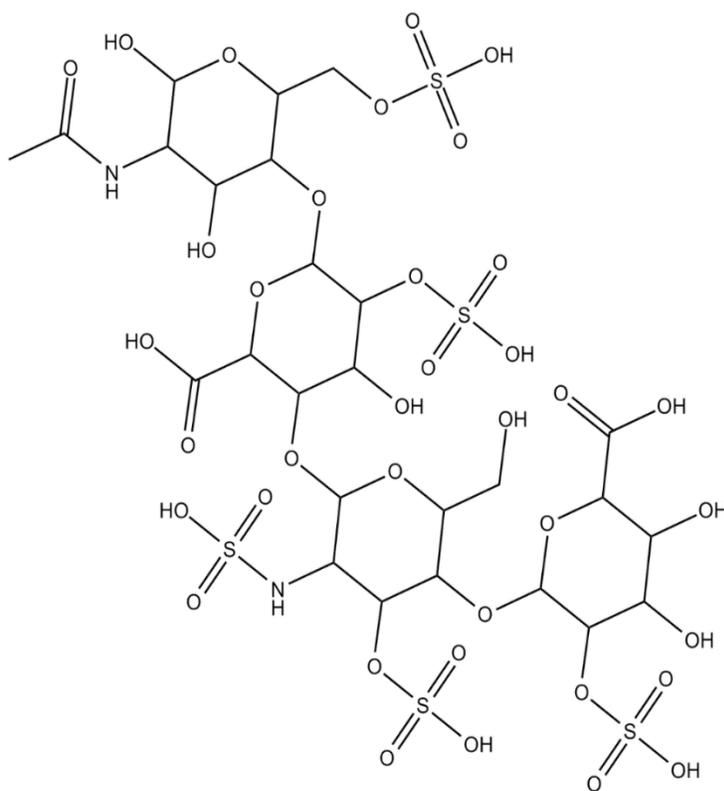
Gambar 1.	Penerapan Kimia Klinik	2
Gambar 2.	Penerapan Diagnostik Molekuler	4
Gambar 3.	Dignostik Molekular	6
Gambar 4.	Cara Mendapatkan Serum dan Plasma	9
Gambar 5.	Pengambilan Darah	15
Gambar 6.	Pengumpulan Urin	17
Gambar 7.	Perbandingan Sel Darah Merah	23
Gambar 8.	Nilai Serum AST dan ALT	40
Gambar 9.	Glomerulus dan Tubulus Ginjal	51
Gambar 10.	Jalur Metabolisme Lipoprotein	61
Gambar 11.	Bentuk Kristal Monosodium Urat	76
Gambar 12.	PCR untuk Amplifikasi DNA	81

DAFTAR TABEL

Tabel 1.	Pengumpulan Sampel Darah	16
Tabel 2.	Penyimpanan Sampel	18
Tabel 3.	Nilai Perhitungan Sel Darah Putih	27
Tabel 4.	Nilai Perhitungan Sel Darah Merah	28
Tabel 5.	Nilai Hematokrit.....	28
Tabel 6.	Nilai Hemoglobin	29
Tabel 7.	Nilai Normal MCV	29
Tabel 8.	Nilai Normal MCH	30
Tabel 9.	Nilai Normal MCHC	30
Tabel 10.	Nilai Retikulosit	30
Tabel 11.	Nilai Trombosit	31
Tabel 12.	Thrombocytopenia	32
Tabel 13.	Indikasi Pemeriksaan Fungsi Hati	36
Tabel 14.	Signifikansi Klinis Tes Fungsi Hati	46
Tabel 15.	Hubungan Penyakit Ginjal Kronis dengan GFR	52
Tabel 16.	Kadar Normal Zat pada Fungsi Glomerular	56
Tabel 17.	Kadar Normal Lipid dan Lipoprotein	66
Tabel 18.	Kadar Glukosa terhadap kondisi pasien	71
Tabel 19.	Penyebab Utama Tingginya Kadar Asam Urat	74
Tabel 20.	Kadar Normal Asam Urat	75

BAB I

PENDAHULUAN

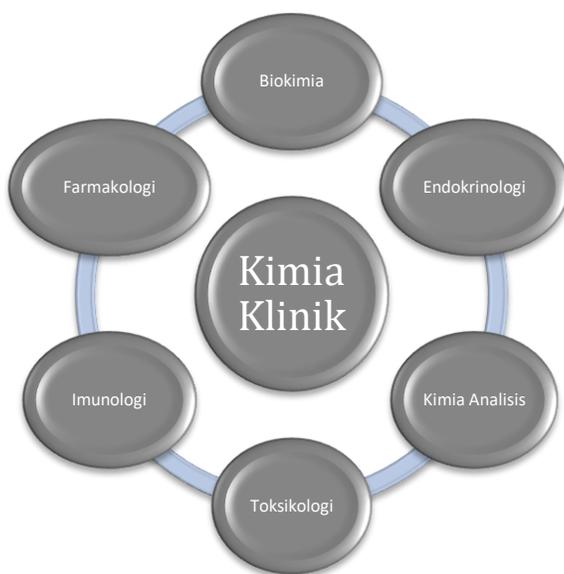


BAB I

PENDAHULUAN

A. Kimia Klinik

Kimia klinik merupakan ilmu kuantitatif yang berhubungan dengan pengukuran sejumlah zat penting dalam cairan tubuh (yang disebut dengan analit) secara biologis untuk tujuan diagnostik, terapeutik, monitoring, dan prognosis. Cairan tubuh yang dapat digunakan adalah darah (darah utuh, serum, dan plasma), urin, cairan serebrospinal, cairan synovial, dan lain-lain. Kimia klinik dapat diterapkan dalam beberapa bidang yaitu biokimia, endokrinologi, kimia analitik, toksikologi, imunologi, dan farmakologi.



Gambar 1. Penerapan Kimia Klinik

Metode untuk mengukur analit ini, secara hati-hati dirancang untuk memberikan penilaian atau hasil yang akurat. Hasil yang didapatkan dibandingkan dengan referensi interval atau tingkat keputusan medis (*medical decision level/ MDA*) untuk memberikan

hasil klinis dan diagnostik yang bermakna. Kimia klinik menjadi kunci penting dalam laboratorium klinik dan penetapan diagnostik, teknik, standar praktek, dan interpretasi data lanjutan. Lebih dari 70% pasien memerlukan uji analitis untuk membantu penegakkan diagnosis mereka. Banyak dari hasil yang memberikan hasil yang rancu, apakah positif palsu ataupun negatif palsu. Oleh karena itu, penting bagi klinisi mematuhi prosedur dalam pengumpulan sampel.

Kimia klinik menjadi cabang dari laboratorium medis, dimana bidang ilmu ini berfokus terhadap pengujian terhadap molekul seperti ion-ion penting (garam dan mineral), molekul organik kecil (metabolit, xenobiotik, toksikologi, dan penyalahgunaan obat-obatan), dan makromolekul (protein, enzim, protein spesifik, lipoprotein, dan marker diabetes). Ketika uji tunggal tidak cukup menggambarkan kondisi medis pasien, diperlukan kombinasi beberapa uji yang biasa disebut dengan uji panel. Hasil yang diberikan uji panel ini dapat memberikan hasil yang lebih baik mengenai kondisi pasien jika dibandingkan dengan uji tunggal.

B. Diagnostik Molekuler

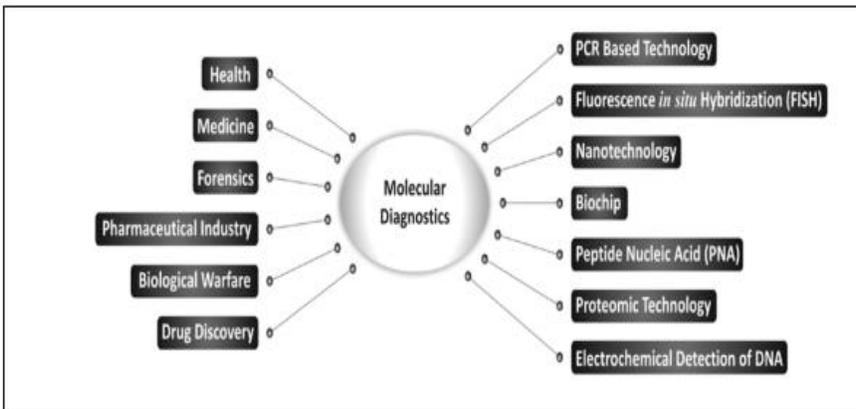
Beberapa tahun terakhir telah terjadi kemajuan besar dalam genetika molekuler. Teknik seperti *Southern blotting*, *Northern blotting*, *Western Blotting*, *polymerase chain reaction* (PCR), sekuensing nukleotida, karakterisasi dan modifikasi informasi genetik. Studi molekuler memungkinkan diagnosis untuk menjadi prediktif. Patologi molekuler secara cepat berevolusi menampilkan pengembangan teknologi berkelanjutan dan peluang klinis baru untuk prediksi efisiensi, toksisitas dan pemantauan hasil penyakit. Dengan demikian, kemajuan besar dalam ilmu genetika, menghasilkan peningkatan penggunaan teknologi molekuler di laboratorium klinis.

Diagnosis molekuler adalah bidang diagnostik yang dinamis dan transformatif, mengarah ke wawasan pada penelitian dan pengobatan pada beberapa penyakit. Diagnostik molekuler merupakan istilah yang luas untuk menggambarkan bagian dari tes diagnostik yang menilai kesehatan seseorang secara harfiah pada tingkat molekuler, mendeteksi dan mengukur sekuens genetik spesifik pada asam deoksiribonukleat (DNA) atau asam ribonukleat

(RNA) atau protein yang diekspresikan. Diagnostik molekuler mengidentifikasi gen, RNA, dan variasi protein yang menjelaskan apakah orang tertentu cenderung memiliki penyakit, apakah mereka benar-benar memiliki penyakit, atau apakah pilihan pengobatan tertentu mungkin efektif terhadap penyakit tertentu. Pengujian ini juga dapat mendeteksi dan mengukur keberadaan virus, bakteri atau jenis sel.

Diagnostik Molekuler mendeteksi dan mengukur adanya materi genetik atau protein yang terkait dengan kondisi kesehatan atau penyakit tertentu bertujuan untuk membantu mengungkap mekanisme penyakit dan memungkinkan dokter untuk menyesuaikan perawatan secara individu atau biasa disebut *personalized medicine*.

Inovasi berkelanjutan dalam teknologi meningkatkan kecepatan dan kinerja diagnostik molekuler. Meningkatkan otomatisasi yang memungkinkan pengujian molekuler yang canggih dapat dilakukan dalam semua lingkup pelayanan kesehatan. Penerapan diagnostic molekuler pada beberapa bidang dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Penerapan Diagnostik Molekuler pada beberapa bagian diagnostik klinik

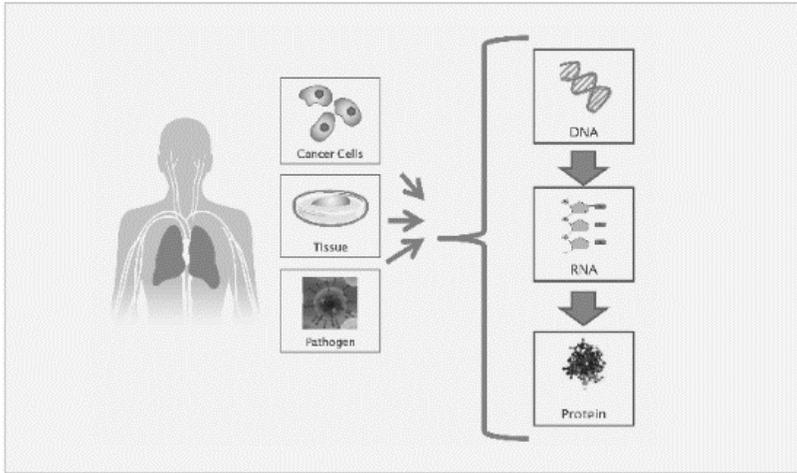
Lebih dari 80% pengujian molekuler yang dilakukan saat ini adalah mengenai deteksi dan manajemen infeksi penyakit menular. Menu tes untuk penyakit menular meliputi: human immunodeficiency virus (HIV), virus hepatitis B (HBV), virus

hepatitis C (HCV), human papilloma virus (HPV), cytomegalovirus (CMV), *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, dan *Mycobacterium tuberculosis*. Pengujian molekuler lainnya diterapkan dalam kedokteran forensik, pengujian paternitas, pengetikan jaringan, onkologi, dan pengujian makanan dan minuman.

Diagnostik molekuler dipandang sebagai terobosan besar dalam ilmu kedokteran. Kemajuan cepat dalam bidang ini diharapkan secara mendasar mengubah bentuk pelayanan kesehatan. Teknologinya sendiri memiliki penerapan yang luas pada bidang-bidang seperti pertanian dan ilmu lingkungan, medis dan aplikasi penelitian medis telah memberikan fokus utama. Hasilnya, hal-hal besar telah diprediksi untuk pengembangan dan penggunaan terapi baru berdasarkan pendekatan pengujian molekuler.

Diagnostik molekuler berbasis gen mengubah praktik kedokteran dan akan terus dilakukan untuk masa mendatang. Pendekatan diagnostik molekuler primer didasarkan pada dua basis ilmu utama yaitu genomik dan proteomik serta hubungannya dengan penyakit dan proses metabolisme (fungsional genomik dan proteomik fungsional). Genom atau proteom yang membentuk dasar untuk pengujian ini sangat sering berasal dari manusia, tetapi mungkin juga berasal dari patogen.

Pengujian Diagnostik molekuler berfokus pada asam nukleat. Kemajuan yang cepat dalam bidang Diagnostik molekuler memungkinkan penelitian dasar dan hasil penerapannya bisa dilakukan dalam tes diagnostik. Jenis tes ini meliputi analisis DNA, RNA (asam nukleat), RNA mikro, dan proteomik kompleks.



Gambar 3. Diagnostik Molekuler memeriksa molekul dalam sel, yaitu DNA, RNA atau protein serta bagaimana perannya dalam biologi manusia dan penyakit.

Tujuan utama dari analisis ini adalah:

- 1) Untuk mengidentifikasi teknologi yang layak melalui pandangan yang komprehensif terhadap platform teknologi yang digunakan untuk diagnostik molekuler, termasuk uji asam nukleat berbasis probe, microarray, dan sequencing;
- 2) Untuk mendapatkan pemahaman lengkap tentang tes diagnostik molekuler utama berupa prediktif, skrining, prognostik, pemantauan, farmakogenomik dari prinsip dasarnya hingga penerapannya;
- 3) Untuk menemukan peluang pasar yang layak dengan mengidentifikasi penerapan yang pertumbuhannya tinggi di berbagai area diagnostik klinis dengan berfokus pada perluasan pasar, seperti penyakit menular, kardiologi dan onkologi;
- 4) Untuk fokus pada pengembangan industri global melalui analisis mendalam untuk pasar utama dunia terhadap diagnostik molekuler.

PUSTAKA

- Anonim, Introduction to Molecular Diagnostics AdvaMedDx and DxInsight, 2013 : 1-15
- Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE, Sawyer BG. Tietz Fundamental of Clinical Chemistry, sixth edition. Elsevier Inc. Philadelphia. 2008
- Debnath Mousumi, Prasad GBKS, Bisen PS. Molecular Diagnostics: Promises and Possibilities Dordrech Heidelberg, London, Springer, 2010 pp 1-10.
- Dennis, Lo, Y.M., Wittwer, C.T., 2009, Molecular Diagnostics: At the Cutting Edge of Translational Research. *Clin Chem* 55:601.
- Lisa F. P. Ng and Raymond Lin Tzer Pin, Asia Pacific Biotech News . 2007; 11(21):1399-1403
- Roberta Reed. Clinical Chemistry Learning Guide Series. Abbot Laboratpries. USA. 2017



BAB II

SAMPEL, KARAKTERISASI DAN TUJUAN ANALISIS

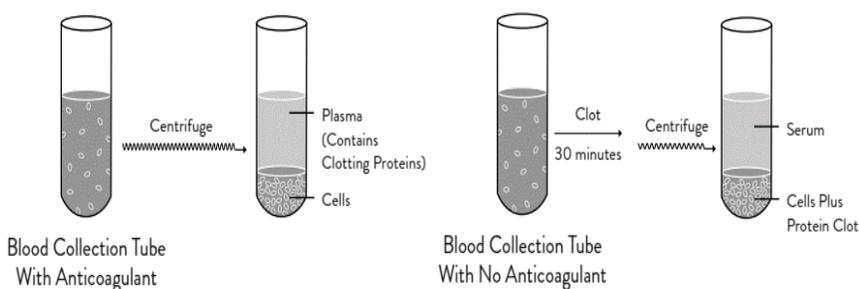
BAB II

SAMPEL, KARAKTERISASI DAN TUJUAN ANALISIS

Sampel (analit) merupakan bahan yang dikumpulkan dari pasien yang digunakan untuk investigasi terhadap penyakitnya. Analit yang diperiksa menggunakan metode analisis atau uji kimia yang tepat. Dalam melakukan pengujian, sampel biologis yang dapat digunakan adalah darah (*whole blood*, serum, atau plasma), urin, cairan serebrospinal (CSF), cairan amniotic (ketuban), air liur, cairan synovial, cairan pleural, cairan pericardial, dan cairan peritoneal.

A. Darah

Darah merupakan sampel yang paling sering digunakan untuk pengujian klinis. Darah terdiri atas dua bagian utama, yaitu bagian cairan (disebut plasma, mengandung ion dan molekul terlarut), dan bagian selular (sel darah merah, sel darah putih, dan trombosit). Analit pada umumnya ditemukan di plasma. Cara mendapatkan plasma adalah dengan memisahkan plasma dan sel-sel dengan cara sentrifugasi.



Gambar 4. Cara Mendapatkan Serum dan Plasma

Jika bagian cairan yang didapatkan dengan menambahkan antikoagulan seperti EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid), natrium heparin, litium heparin, dan thrombin, cairan tersebut disebut dengan **plasma**. Jika cairan yang didapatkan dengan cara membiarkan darah membentuk clot (tanpa adanya antikoagulan) disebut dengan **serum**.

Penggunaan darah dalam analisis kimia klinik digunakan untuk analisis kadar glukosa, trigliserida, HDL, LDL, Kolesterol total, SGOT, SGPT, serum kreatinin, Hemoglobin, dan lain-lain.

B. Urin

Urin merupakan sampel lain yang biasa digunakan dalam pengujian kimia klinik yang bertujuan untuk mengevaluasi fungsi ginjal, menguji produk sisa yang diekskresikan ginjal, dan metabolit yang terakumulasi dalam urin. Selain itu perbandingan konsentrasi serum dan urin dapat digunakan untuk mengetahui seberapa baik analit terkeskresikan.

Urin merupakan sampel yang mudah untuk dikumpulkan, meskipun tetap membutuhkan teknik khusus untuk mengumpulkan urin pada bayi dan anak kecil.

C. Cairan Lain

Cairan lain seperti cairan amniotik (ketuban), cairan tulang belakang, cairan synovial, cairan peritoneal, dan cairan pericardial serta cairan pleura dapat digunakan untuk analisis tertentu.

Cairan ketuban biasanya digunakan untuk tes kesehatan janin. Cairan tulang belakang digunakan terutama untuk penilaian pasien dengan gejala penyakit seperti meningitis atau multiple sclerosis atau pasien yang mengalami gangguan serebrovaskular. Pengujian kimia cairan seperti cairan peritoneum, cairan perikardial atau cairan pleural biasanya dilakukan untuk menilai asal cairan - untuk menentukan apakah cairan telah bocor dari pembuluh darah akibat perbedaan tekanan (disebut transudat, yang relatif rendah protein) atau karena peradangan atau cedera (disebut eksudat, yang proteinnya relatif tinggi).

Saliva jarang digunakan secara klinis pengujian laboratorium, tetapi diakui sebagai sampel yang komposisinya mencerminkan kadar plasma darah banyak zat berat molekul rendah seperti obat-obatan atau alkohol. Selain itu, saliva juga dapat digunakan untuk analisis DNA dimana saliva mengandung sel bukal yang tereksfoliasi.

D. Analit

Zat yang terdapat dalam sampel biologis disebut dengan analit. Berikut ini merupakan analit yang biasa diuji dalam laboratorium kimia klinik.

1. ion, garam, dan mineral, seperti kalium (K^+), natrium (Na), kalsium (Ca^{2+}), klorida (Cl^-), magnesium (Mg^{2+}), fosfor (P), karbondioksida (CO_2), timbale (Pb), besi (Fe), dan lain-lain.
2. Molekul Organik Kecil
 - a. Metabolit, seperti: glukosa, kolesterol, urea, asam laktat, bilirubin, kreatinin, trigliserida, amoniak, dan cystatin C
 - b. Obat, seperti: vankomisin, digoksin, fenitoin, teofilin, dan asam valproat
 - c. Toksikologi, seperti: etanol, aspirin, dan parasetamol
 - d. Penyalahgunaan obat, seperti: kokain, barbiturate, amfetamin, dan golongan opiat
3. Makromolekul
 - a. Protein transport, seperti: albumin, transferrin, haptoglobin, ferritin, dan total protein
 - b. Enzim, seperti: lipase, amylase, alanine aminotransferase (ALT), aspartat aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (ALP), lactate dehydrogenase (LD), dan creatinine kinase (CK).
 - c. Protein spesifik, seperti: immunoglobulin (IgA, IgG, IgM), komplemen C3, komplemen C4, dan C-reactive protein (CRP)
 - d. Lipoprotein, seperti: high density lipoprotein (HDL), low density lipoprotein (LDL), lipoprotein
 - e. Penanda diabetes: Hemoglobin A1C (HbA1C)

Dalam melakukan analisis analit dalam sampel biologis biasanya dilakukan uji panel. Jenis uji panel yang dapat dilakukan dalam penentuan hasil diagnosa pada laboratorium kimia klinik adalah:

1. Panel elektrolit

Pengujian panel yang dilakukan untuk menentukan nilai natrium (Na), kalium (K), klorida (Cl), dan karbondioksida (CO₂)

2. Panel hepatic

Pengujian yang dilakukan yaitu menentukan nilai albumin, total protein, ALP, ALT, AST, total bilirubin, dan direct bilirubin.

3. Profil metabolik komprehensif

Pengujian yang biasa dilakukan adalah pengujian nilai Na, K, Cl, CO₂, glukosa, kreatinin, urea, kalsium, total protein, albumin, ALT, AST, ALP, dan total bilirubin.

4. Panel Metabolik Dasar

Pengujian yang dilakukan adalah penentuan nilai Na, K, Cl, CO₂, glukosa, kreatinin, Cl, dan BUN.

5. Profil Lipid

Pengujian yang dilakukan adalah pengujian terhadap kolesterol total, LDL, HDL, dan trigliserida.

PUSTAKA:

- Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE, Sawyer BG. TIETZ Fundamental of Clinical Chemistry, sixth edition. Elsevier Inc. Philadelphia. 2008
- Dipiro JT, Talbert RL, Yee GC, Matzke GR, Wells BG, Posey LM. Pharmacotherapy A Pathophysiologic Approach 7th edition. McGraw-Hill Companies, Inc. New York. 2008
- Roberta Reed. Clinical Chemistry Learning Guide Series. Abbot Laboratpries. USA. 2017

BAB III

PENGUMPULAN, PENYIMPANAN, PENGAWETAN DAN PENGIRIMAN SAMPEL



BAB III

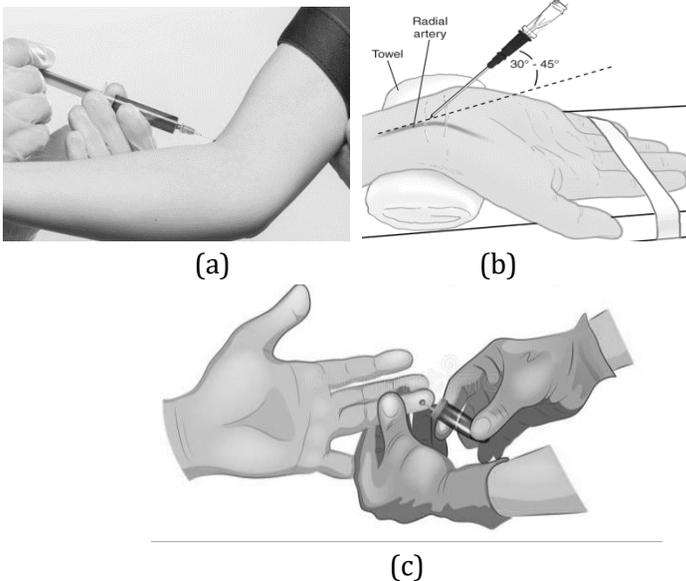
PENGUMPULAN, PENYIMPANAN, PENGAWETAN DAN PENGIRIMAN SAMPEL

A. Pengumpulan Sampel

Dalam pengumpulan sampel, terdapat berbagai prosedur yang berbeda berdasarkan jenis sampel dan tujuan analisis.

1. Pengumpulan darah

Pengambilan darah dilakukan dengan phlebotomy yaitu metode pengambilan darah pada pembuluh darah vena dengan menusukkan jarum. Selain itu, terdapat metode *arterial sampling* (pengambilan darah melalui pembuluh darah arteri) dan *fingerprick* (pengambilan darah dalam jumlah sedikit melalui ujung jari). Darah yang telah diambil dimasukkan ke dalam tabung yang berisi zat tambahan seperti anti koagulan.



Gambar 5. (a) Pengambilan darah dengan metode Phlebotomy (b) metode *arterial sampling* dan (c) Metode *fingerprick*

Sebelum dilakukan analisis dan/ atau penyimpanan, sampel darah harus difraksinasi terlebih dahulu. Hal ini bertujuan untuk memisahkan masing-masing komponen darah sesuai dengan tujuan analisisnya masing-masing. Komponen yang dipisahkan adalah:

- a. Leukosit
- b. Neutrofil
- c. Eritrosit, untuk pengukuran hemoglobin,n
- d. Plasma (didapatkan dengan penambahan antikoagulan sehingga terpisah dari komponen darah lainnya)
- e. Serum (didapatkan tanpa penambahan antikoagulan), untuk analisis antibodi, nutrisi, lipid, dan lipoprotein.

Berdasarkan tujuan analisis, darah harus dikumpulkan berdasarkan jenis zat tambahan yang digunakan (Tabel 1).

Tabel 1. Pengumpulan Sampel Darah

Fraksi Darah	Zat Tambahan	Penggunaan	Keterbatasan
Darah Utuh	Antikoagulan (ACD, heparin, EDTA); inhibitor protease (untuk proteomik)	Penelitian genomik, sumber DNA, RNA	Efek antikoagulan perlu dipertimbangkan
<i>Buffy coat</i>	Anti koagulan	Ekstraksi DNA, sumber limfosit	Hasil yang didapatkan terbatas jika dikerjakan tidak sesuai
Serum	Tidak ada	Proteomik, sumber DNA, analit	DNA yang didapatkan sedikit
Plasma	Antikoagulan, inhibitor protease	proteomik	DNA yang didapatkan sedikit
Trombus	Tidak ada	Sumber DNA	Ekstraksi sulit

2. Pengumpulan Urin

Urin menjadi sampel yang banyak digunakan karena terdapat banyak sisa-sisa metabolisme yang dieksresikan melalui urin. Pengumpulan urin dapat dilakukan dalam beberapa kondisi tergantung jenis analisis yang akan dilakukan.

- a. Urin pagi pertama diambil pada urin pertama sesaat bangun tidur, dibutuhkan pada analisis yang membutuhkan konsentrasi tertentu untuk deteksi
- b. Urin acak, dilakukan untuk pemeriksaan monitoring obat dan penelitian sitologi
- c. Urin fraksi. Urin yang diambil merupakan urin terakhir makan malam dan urin pagi kedua. Hal ini dilakukan untuk membandingkan kadar analit dalam urin dengan konsentrasinya di dalam darah.
- d. Urin swaktu (pada jam ke-12 atau ke -24), untuk membandingkan pola ekskresi



Gambar 6. Pengumpulan Urin

B. Pengawetan dan Penyimpanan Sampel

Sampel biologis dalam penyimpanan perlu memperhatikan stabilitas dengan meminimalkan waktu antara waktu pengambilan dan penyimpanan/ analisis. Selain itu, temperatur juga harus diperhatikan, hal ini untuk mencegah aktifnya enzim yang dapat menyebabkan degradasi sampel. Penambahan zat tambahan juga dapat digunakan untuk mengawetkan sampel. Zat tambahan tersebut berupa antikoagulan, agen penstabil, dan lain-lain.

Pada sampel darah, terdapat beberapa hal yang dapat dilakukan untuk menjaga kestabilan/ mengawetkan darah yang digunakan yaitu:

1. Antikoagulan, digunakan untuk pengambilan sampel darah agar darah tidak cepat membeku. Zat yang dapat ditambahkan adalah lithium heparin, natrium heparin, EDTA, dan lain-lain.
2. Agen penstabil, untuk mengawetkan analit dan harus segera ditambahkan setelah pengambilan darah. Contohnya penambahan *silica clot activator* atau thrombin agar dapat mempercepat proses pembekuan darah, penambahan natrium flour atau kalium oksalat untuk menghambat metabolisme glukosa oleh sel darah putih (leukosit), dan lain-lain.
3. *Thaw/ refreeze cycle* harus dihindari, untuk menghindari ketidakstabilan yang berpotensi terjadi pada analit
4. Degradasi enzimatik dapat mempengaruhi penanda biokimia pada sampel. Contohnya seperti penambahan inhibitor RNase yang menjaga integritas atau keutuhan dari RNA dan inhibitor protease untuk proteomik.

Penyimpanan sampel biologis dilakukan berdasarkan tujuan analisisnya. Penyimpanan dan pengawetan sampel biologis tersaji dalam tabel 2.

Tabel 2. Penyimpanan Sampel

Suhu (°C)	Metode Pengawetan	Sampel
0 hingga +4	Suhu Pendingin	Memproses sampel segar
-0.5 hingga -27	<i>Freezer</i>	Stabilitas DNA jangka pendek
-27 hingga -40	<i>Freezer</i>	Stabilitas DNA
-40 hingga -80	<i>Freezer</i>	Stabilitas DNA/ RNA
-80 hingga -130	<i>Freezer</i>	Urin, darah, plasma, serum

C. Pengiriman Sampel

Pengiriman sampel merupakan proses pemindahan sampel dari suatu tempat, laboratorium, atau fasilitas pelayanan kesehatan ke tempat, laboratorium, atau fasilitas pelayanan kesehatan lain. Pengiriman sampel ini hanya dapat dilakukan oleh fasilitas pelayanan

kesehatan, lembaga penelitian, dan pengembangan, atau lembaga lainnya yang di tanda tangani oleh tenaga pelaksana setempat.

Dalam pengiriman sampel, pemerintah mengatur regulasi khusus dengan tujuan:

1. Agar memberikan perlindungan kepada masyarakat, peneliti, pelaksana, dan fasilitas pelayanan kesehatan serta lembaga penelitian dan pengembangan dari bahaya penyebaran dan gangguan kesehatan penyebab penyakit infeksi *new emerging* dan *re-emerging*, termasuk penyalahgunaannya sebagai senjata atau bahan senjata biologi
2. Memberikan manfaat yang besar terhadap potensi ditemukan dan digunakannya ilmu pengetahuan dan teknologi penanggulangan penyakit infeksi *new emerging* dan *re-emerging* dalam menunjang ketahanan Nasional
3. Memberikan dasar ilmiah terhadap pelaksanaan program kesehatan dalam keadaan yang berdampak pada kepedulian kesehatan dan kedaruratan kesehatan masyarakat di tingkat nasional maupun internasional.

Pengiriman sampel perlu memberikan informasi yang cukup untuk proses identifikasi sampel serta menggunakan kontainer atau wadah dan pengawet yang sesuai. Informasi yang dapat diberikan adalah nama, tanggal dan waktu pengumpulan sampel, jenis sampel (contohnya seperti plasma, serum, atau urin) serta volume dan metode pengambilan sampel. Selain itu perlu menambahkan formulir yang berisi tanggal lahir dan jenis kelamin pasien, detail klinis terkait kebutuhan pasien, kondisi pada saat pengumpulan sampel (contoh: puasa, pembatasan asupan cairan dan obat yang dikonsumsi), serta antikoagulan atau pengawet yang digunakan. Selain itu, jika sampel yang diberikan lebih dari satu perlu diberikan nomor seri.

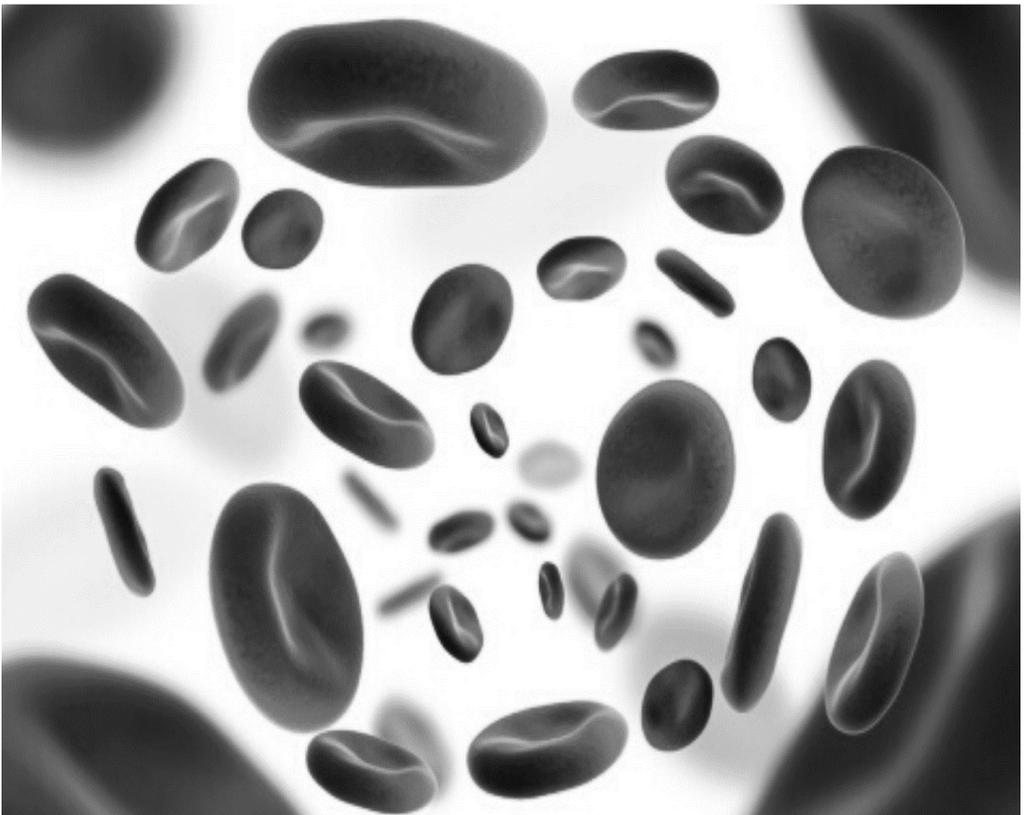
Pada proses pengiriman sampel, perlu memperhatikan material dari container atau wadah yang digunakan yaitu terbuat dari kaca atau plastik yang inert dan tahan terhadap kebocoran, stabil, dan tetap tegak jika dimiringkan 15^o secara vertikal. Sampel harus tertutup rapat dan dikemas untuk mencegah kerusakan dan kebocoran selama proses pengiriman, sedangkan untuk sampel beku dan sampel yang membutuhkan suhu konstan harus dikemas dengan baik seperti menggunakan tabung vakum atau dikemas dengan diberikan *ice gel*. Khusus pada sampel infeksius, harus diberikan penandaan secara jelas berupa label peringatan dan ditutup rapat dengan menggunakan plastik.

PUSTAKA:

- Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE, Sawyer BG. *TIETZ Fundamental of Clinical Chemistry*, sixth edition. Elsevier Inc. Philadelphia. 2008
- Menteri Kesehatan Republik Indonesia. Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 657/MENKES/PER/VIII/2009 Tentang Pengiriman dan Penggunaan Spesimen Klinik, Materi Biologik dan Muatan Informasinya. Jakarta.
- Mulot C, Stucker I, Clavel J, Beaune P, Lorient M. Collection of Human Genomic DNA From Buccal Cells for Genetics Studies: Comparison Between Cytobrush, Mouthwash, and Treated Card. *J Biomed Biotechnol.* 2005; 2005(3): 291-296.
- Roberta Reed. *Clinical Chemistry Learning Guide Series*. Abbot Laboratpries. USA. 2017
- Vaught JB, Henderson MK. *Biological Sample Collection, Processing, Storage and Information Management*. IARC Sci. publ. 2011; 163:23-42
- WHO. *Surveillance Guidelines for Measles, Rubella, and Congenital Rubella Syndrome in the WHO European Region, annex 3, Collection, Storage and Shipment of Specimens for Laboratory Diagnosis and Interpretation Of Results*. 2012.
- Wilding P, Zilfa JF, Wilde CE. Transport of Specimen for Clinical Chemistry Analysis. *Annals of Clinical Biochemistry.* 1977; 14:301-306

BAB IV

PEMERIKSAAN HEMATOLOGI



BAB IV

PEMERIKSAAN HEMATOLOGI

A. Pendahuluan

Untuk memahami manfaat klinis hematologi, perlu untuk meninjau beberapa fitur fisiologis tubuh, yaitu:

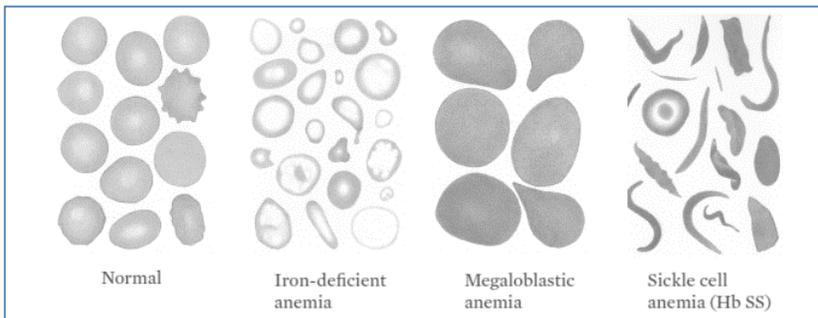
1. Air (sekitar 60% dari massa tubuh orang dewasa) adalah media di mana bahan kimia tubuh larut, tempat terjadinya reaksi metabolik dan zat-zat ditransportasikan. Reaksi –reaksi kimia yang didalam tubuh dimediasi oleh cairan tubuh.
2. Homeostasis adalah keadaan dinamis tetapi stabil yang dipertahankan oleh pengeluaran energi konstan dari metabolisme seluler. Homeostasis memastikan bahwa cairan tubuh menjalankan fungsi seperti sirkulasi, pencernaan, ekskresi, reproduksi, dll.
3. Metabolisme. Cairan interstitial mengelilingi sel dan merupakan media untuk pertukaran nutrisi dan limbah antara darah dan sel. Untuk melakukan pekerjaannya, sel harus menerima oksigen dan nutrisi(karbohidrat, protein, lemak, air, mineral, dan vitamin). Metabolisme adalah proses dimana sel mengambil, mengubah, dan menggunakan nutrisi. Bahan limbah yang dihasilkan dari metabolisme harus dihilangkan sebelum imenjadi beracun bagi sel.
4. Zat-zat Kimia Tubuh. Tindakan dan reaksi tubuh bergantung pada bahan kimia yang memiliki karakteristik khusus. Bahan kimia ini dapat dikategorikan ke dalam kelompok besar:
 - a. Karbohidrat: pemberi energi dan sumber energi
 - b. Lipid (lemak): simpanan energi
 - c. Protein: bentuk struktural, pembawa, dan sumber energy
 - d. Enzim: fasilitator
 - e. Hormon: pembawa pesan kimia
 - f. Elektrolit: penjaga gerbang yang memungkinkan pergerakan zat melalui dinding sel

Darah sangat penting untuk semua kehidupan sel. Darah berfungsi untuk mendistribusikan oksigen, nutrisi, elektrolit, hormon, dan enzim ke seluruh tubuh. Darah terdiri dari plasma dan elemen-elemen yang terbentuk. Plasma, yang membentuk sekitar 55% darah, adalah cairan berwarna bening di mana elemen seluler dan zat terlarut tersuspensi di dalamnya. Serum adalah bagian cairan dari darah yang tersisa setelah fibrin dan elemen yang terbentuk memiliki telah dihilangkan dengan proses sentrifugasi. Plasma diperkirakan mengandung sekitar 92% air dan 8% campuran baik organik dan anorganik

Darah memiliki tiga jenis elemen yang terbentuk: eritrosit (sel darah merah), leukosit (sel darah putih), dan platelet atau trombosit.

1. Eritrosit (sel darah merah)

Sel darah merah atau *Red Blood Cell* (RBC) adalah sel-sel darah tubuh yang paling banyak. Nilai normal rata-rata menunjukkan jumlah sel darah merah dalam darah dapat dicatat $4,60 \times 10^6 / \mu\text{L}$ (4,60 juta / μL) untuk wanita dan $5,20 \times 10^6 / \mu\text{L}$ (5,20 juta / μL) untuk pria. Untuk mengangkut oksigen dan karbon dioksida melalui sirkulasi, masing-masing sel darah merah mengandung sekitar 280 juta molekul hemoglobin.



Gambar 7. Perbandingan Sel Darah Merah normal dan beberapa tipe yang abnormal

Sel darah merah dibentuk terus menerus, tetapi jumlahnya diatur dengan tepat. Jumlah sel yang terlalu sedikit tidak akan mengoksidasi jaringan; terlalu banyak sel akan menghambat aliran darah. Sel darah merah yang matang tidak

dapat mereproduksi diri mereka sendiri, sehingga beberapa juta sel baru memasuki darah setiap hari dari pusat pembentuk darah di sumsum tulang. Istilah untuk pembentukan sel darah merah adalah erythropoiesis.

Life Span atau Masa hidup Sel darah merah. Ketika RBC berumur sekitar 120 hari, sel darah terperangkap dan dikeluarkan dari darah oleh limpa atau hati. Namun, atom-atom besinya didaur ulang; sekitar 25 miligram besi tersedia setiap hari dari pemecahan sel darah merah lama.

Sumsum Tulang. Hampir semua tulang pada anak-anak hingga usia 5 tahun adalah pusat pembentuk darah. Sumsum tulang menjadi kurang produktif seiring bertambahnya usia. Pada orang dewasa (di atas usia 20), sel darah merah terbentuk di sumsum tulang belakang, sternum (tulang dada), tulang rusuk, dan ujung tulang panjang.

Generasi sel. Sel darah merah berkembang dalam serangkaian generasi sel di sumsum tulang. Setelah beberapa generasi, sel-sel baru yang disebut eritroblast basofilik muncul. Pada generasi sel berikutnya, hemoglobin mulai memberi sel warna merah khasnya dan nukleus diekstrusi dari sel. Sel sekarang disebut reticulocyte (reticula = jaringan) karena pewarnaan menyebabkan untaian isi sel RNA residual untuk menggumpal ke dalam jaringan. Reticulocytes masuk ke kapiler dengan diapedesis (memeras melalui pori-pori membran) dan menjadi sel darah merah yang matang dalam satu atau dua hari. Sel-sel ini biasanya membentuk sekitar 1% dari sel darah merah yang beredar.

2. Leukosit.

Granulopoiesis adalah pembentukan granulosit, sel berwarna putih paling banyak. Ketika granulosit matang, inti sel mengalami banyak perubahan; lalu menyusut menyusut, indentasi, mengasumsikan bentuk band, dan segmen. Butiran yang mengandung enzim dan zat antibakteri muncul; Myelocytes dibedakan sesuai dengan karakteristik pewarnaan butiran mereka: neutrofilik, eosinofilik, dan basofilik. Granulosit dewasa adalah sel polimorfonuklear (PMN) (kadang-kadang disebut

polis). Biasanya, granulosit diatur pada tingkat yang konstan. Selama infeksi, jumlah granulosit meningkat secara dramatis.

Fungsi Granulosit. Neutrofil mencari dan membunuh bakteri - suatu proses yang disebut fagositosis Eosinofil menyerang beberapa parasit dan menonaktifkan mediator yang dilepaskan selama reaksi alergi. Basofil mengandung histamin dan penting dalam reaksi imunitas dan hipersensitivitas; basophil juga mengandung heparin (zat anti pembekuan darah), tetapi perannya dalam pembekuan darah tidak pasti

Tubuh biasanya mengandung 4.500-11.000 sel darah putih (*White Blood Cell*) per μL darah. Nilai ini dapat dilaporkan sebagai $4,5-11,0 \times 10^3 / \mu\text{L}$ atau $k / \mu\text{L}$ ($k = \text{ribu}$). Tidak seperti sel darah merah yang terjadi dalam banyak perbedaan jenis. Sebagian besar sel darah putih dipenuhi dengan biji-bijian kecil dan sedang yang disebut granulosit ($\text{gran} = \text{biji-bijian}$). Kisaran normal untuk granulosit adalah $1,8-8,5 \times 10^3 / \mu\text{L}$ darah.

Granulosit meliputi:

- a. Neutrofil: 50% -70% dari total WBC atau $1.8-7.7 \times 10^3 / \mu\text{L}$
- b. Eosinofil: hingga 5% dari total WBC atau $0-0,450 \times 10^3 / \mu\text{L}$
- c. Basofil: hingga 2% dari total leukosit atau $\approx 0-0.2 \times 10^3 / \mu\text{L}$
- d. Limfosit dan monosit adalah sel darah merah non-granular.

Kisaran normal untuk limfosit dan monosit adalah:

Limfosit: 20% -47% dari total sel darah merah atau sekitar $1,0-4,8 \times 10^3 / \mu\text{L}$

- e. Monosit: 3% -10% dari total sel darah merah atau sekitar $0,0-0,8 \times 10^3 / \mu\text{L}$

B. Pemeriksaan Hematologi

Tes hematologi mencakup berbagai studi laboratorium, mulai dari faktor koagulasi hingga berbagai evaluasi sel.

Sampel darah lengkap diambil, biasanya dari vena. Jumlah berbeda sesuai dengan jumlah dan jenis tes yang akan dijalankan dan instrumen pengujian yang akan digunakan. Biasanya, sel darah merah dihitung dan dilisis kemudian sel darah merah diukur.

Dikarenakan terjadinya pembekuan darah dengan cepat, sampel darah yang diukur diencerkan dengan salah satu agen lisis atau agen anti-pembekuan darah, tergantung pada tes yang harus

diselesaikan. Bahan yang digunakan untuk melisis menghancurkan sel darah merah dan memungkinkan penghitungan leukosit. Pengenceran merupakan langkah penting dalam menyiapkan sampel untuk pengujian beberapa alasan antara lain :

1. konsentrasi antikoagulan harus memadai untuk volume darah. Pengenceran yang tidak sesuai memungkinkan pembentukan gumpalan kecil yang menurunkan jumlah sel; pengenceran yang berlebihan dapat menyebabkan sel menyusut atau membengkak. Antikoagulan yang banyak digunakan adalah EDTA (asam ethylenediaminetetraacetic) dan heparin. EDTA sering digunakan untuk penghitungan jumlah sel rutin.
2. Sampel darah yang relatif besar tidak memberikan jumlah yang cukup untuk dilakukan analisis dan pengukuran. Darah harus dicampur dengan pengencer yang aka memungkinkan sel-sel tersuspensi secara merata cairan yang cukup untuk mengalir dengan laju yang konstan untuk pengukuran.

Pengukuran yang dilakukan dalam pengujian hematologi adalah perhitungan sel darah lengkap, perhitungan jumlah sel darah putih, perhitungan jumlah sel darah merah, hematokrit, hemoglobin, indeks sel darah merah (RBC), perhitungan retikulosit, dan perhitungan trombosit.

1. Penghitungan Sel Darah Lengkap

Hitung darah lengkap (CBC) adalah tes yang paling banyak dilakukan di laboratorium klinis. Banyak CBC dilakukan sebagai skrining rutin yang dapat memberikan informasi umum tentang status pasien. Sebagian besar CBC termasuk pengukuran seluler berikut:

- a. Jumlah Sel Darah Putih WBC
- b. Diferensiasi sel darah merah, 3 bagian: limfosit, sel tengah, granulosit atau 5 bagian: limfosit, monosit, neutrofil, eosinofil, basofil
- c. Hitungan sel darah merah
- d. Hemoglobin (Hb)
- e. Hematokrit (Hct)
- f. indeks Red Blood Cell (MCV, MCH, MCHC)
- g. Jumlah trombosit

Rentang normal tergantung pada lokasi geografis, jenis kelamin pasien, dan usia; rentang digunakan sebagai pedoman dan bervariasi berdasarkan populasi tertentu.

2. Perhitungan Jumlah Sel Darah Putih

Perhitungan ini dilakukan pada volume darah yang diketahui. Sistem otomatis sering menghitung sebanyak 20.000 WBC untuk memastikan akurasi dan presisi. Hitungan WBC selanjutnya diidentifikasi oleh sub-populasi WBC utama (WBC diferensial). Jumlah WBC dan diferensial WBC umumnya diukur dengan teknologi optik atau kombinasi optik, impedansi, frekuensi radio, atau fluoresensi multi-warna dalam analisis hematologi modern.

Analisis hematologi sederhana memberikan sub-populasi WBC sebagai 3-bagian diferensial WBC melaporkan persentase dan nilai absolut untuk populasi limfosit, sel tengah, dan granulosit. Analisis hematologi canggih minimal memberikan persentase pelaporan 5 bagian diferensial WBC dan nilai absolut untuk limfosit, monosit, neutrofil, eosinofil, dan basofil. Seperti terlihat pada table berikut :

Tabel 3. Nilai Penghitungan Sel Darah Putih

Nilai Normal Sel Darah Putih : $4.5-11.0 \times 10^3/\mu\text{L}$ (Dewasa)		
Kisaran normal, jumlah leukosit diferensial		
3-bagian diferensial WBC	Lymphocytes	$1.0-4.8 \times 10^3/\mu\text{L}$
	Mid-Cells	$0-0.9 \times 10^3/\mu\text{L}$
	Granulocytes	$1.8-8.1 \times 10^3/\mu\text{L}$
5 bagian diferensial WBC	Lymphocytes	$1.0-4.8 \times 10^3/\mu\text{L}$
	Monocytes	$0-0.8 \times 10^3/\mu\text{L}$
	Neutrophils	$1.8-7.7 \times 10^3/\mu\text{L}$
	Eosinophils	$0-0.5 \times 10^3/\mu\text{L}$
	Basophils	$0-0.2 \times 10^3/\mu\text{L}$
WBC lainnya	Band neutrophils (%) Segmented neutrophils (%)	0,6 % 40 - 70%

3. Perhitungan Jumlah Sel Darah Merah

Hitungan jumlah sel darah merah yang ada dalam volumedarah yang diketahui. Sistem otomatis sering menghitung sebanyak 20.000-50.000 sel darah merah untuk memastikan ketepatan. Hitungan RBC juga digunakan untuk menghitung indeks RBC.

Tabel 4. Nilai Perhitungan Sel Darah Merah (RBC)

Nilai Normal Perhitungan Sel Darah Merah : 4.00-5.9 X 10 ⁶ /μL	
Tinggi : Polisitemia, dehidrasi berat, trauma, pembedahan, luka bakar	Rendah : Anemia, perdarahan, asupan cairan berlebihan

4. Hematokrit

Merupakan pengukuran volume sel darah merah dalam sampel darah lengkap yang dinyatakan sebagai persentase (%).

Tabel 5 :Nilai Hematokrit

Nilai Normal Hct : 36%-53%	
Tinggi : Polisitemia, dehidrasi berat, trauma, pembedahan, luka bakar	Rendah : Anemia, perdarahan, asupan cairan berlebihan

5. Hemoglobin

Hemoglobin merupakan komponen pembawa oksigen dari sel darah merah, terdiri dari dua pasang rantai protein yang disebut globin dan empat unit yang lebih kecil yang disebut heme, yang mengandung zat besi. Besi mengikat dan melepaskan oksigen (O₂). Penurunan hemoglobin mengurangi jumlah O₂ yang dibawa oleh darah ke sel. Kapasitas pembawa oksigen dari hemoglobin dapat dipengaruhi oleh pembentukan gas yang dapat

mencegah O₂ mencapai sel dan oleh kelainan produksi dan penghancuran hemoglobin.

Nilai hemoglobin dapat diperoleh dengan beberapa cara. Metode yang paling umum adalah dengan penambahan KCN kalium sianida (atau senyawa serupa) untuk mengubah Hb menjadi sianmethemoglobin, yang diukur dengan spektrofotometer dengan maksimal panjang gelombang 540 nm. Hasilnya, dicatat sebagai gram per desiliter (g / dL), menunjukkan kapasitas pembawa oksigen dari sel darah merah.

Tabel 6. Nilai Hemoglobin

Nilai Normal Hb : 12.0-17.5 g/dl	
Tinggi : Polisitemia, dehidrasi berat, trauma, pembedahan, luka bakar	Rendah : Anemia, perdarahan, asupan cairan berlebihan

6. Indeks Sel Darah Merah(RBC)

Indeks Sel Darah Merah terbagi dalam (1) *Mean Cell Volume* (MCV), (2) *Mean Cell Hemoglobin* (MCH), dan (3) *Mean Cell Hemoglobin Concentration* (MCHC). Pengukuran ini menunjukkan volume dan karakter hemoglobin dan dapat membantu dalam diagnosis jenis-jenis anemia.

MCV adalah volume rata-rata sel darah merah; dihitung dari hematokrit (volume sel darah merah yang dikemas) dan jumlah eritrosit. Ini adalah indeks RBC yang paling penting dalam membedakan diagnosis anemia.

Tabel 7. Nilai Normal MCV

Nilai Normal MCV: 80.00-100 fl	
Tinggi : Anemia pernisiiosa, manifestasi cacing pita, penggunaan obat-obatan tertentu	Rendah : Anemia, perdarahan, asupan cairan berlebihan

Mean Cell Hemoglobin (MCH) adalah perhitungan rasio hemoglobin dengan jumlah eritrosit. Rumus untuk perhitungan adalah:

$$\text{MCH} = \text{Hb (g/dL)} / \text{RBC (x } 10^6 / \mu\text{L)} \times 10$$

Tabel 8. Nilai Normal MCH

Nilai Normal MCH: 26-34 pg
Rendah : Anemia, defisiensi besi, penyakit hati, perdarahan

Mean Cell Hemoglobin Concentration (MCHC). Perhitungan rasio hemoglobin terhadap hematokrit ini menunjukkan konsentrasi rata-rata hemoglobin dalam sel darah merah. Perhitungannya adalah:

$$\text{MCHC} = [\text{Hb (g/dL)} / \text{Hct (\%)}] \times 100$$

Tabel 9. Nilai Normal MCHC

Nilai Normal MCHC : 31-37 pg
Rendah : Anemia karena pembentukan RBC yang tidak memadai, anemia pernisiiosa, cacing pita, penggunaan obat-obatan tertentu

7. Perhitungan Retikulosit

Untuk hitungan sel darah merah muda ini, beberapa tetes darah dioleskan pada slide, diwarnai dengan metilen biru, dan counterstain dengan pewarnaan Wright sebelum dihitung di bawah mikroskop. Seribu sel darah merah dihitung dan jumlah sel yang memiliki retikulum berwarna biru dinyatakan sebagai persentase.

Tabel 10. Nilai Retikulosit

Nilai Normal Retikulosit : 0.5%-1.5% dari jumlah sel darah merah	
Tinggi : Reticulocytosis menunjukkan aktivitas sumsum tulang sebagai respons terhadap: kehilangan darah, terapi untuk anemia, anemia hemolitik pada kehamilan, berada pada ketinggian	Rendah : Jumlah yang rendah atau normal pada pasien anemia menunjukkan kegagalan sumsum tulang, infeksi, peradangan, anemia aplastik, defisiensi besi berat, anemia megaloblastik

8. Perhitungan Trombosit

Platelet atau trombosit adalah benda kecil berbentuk butiran dengan berbagai bentuk (bulat, oval, gelendong, diskoid). Megakaryocytes merupakan sel raksasa di sumsum tulang, membentuk trombosit dengan menjepit dan mengekstrusi potongan sitoplasma.

Trombosit berperan dalam fungsi Hemostasis, proses menghentikan perdarahan, adalah fungsi utama trombosit. Untuk mencapai hal ini, trombosit mengandung lisosom (bahan kimia yang mampu memecah zat lain), faktor pembekuan, dan faktor pertumbuhan yang merangsang penyembuhan. Saat berada dalam sirkulasi, trombosit bergabung dengan komponen darah lainnya untuk membatasi kehilangan darah. Trombosit juga dapat membantu menjaga integritas lapisan pembuluh darah dan menstimulasi proliferasi otot polos pembuluh darah.

Karena angka normalnya sangat tinggi, perhitungan trombosit sering diperkirakan. Perhitungan trombosit saat ini bersifat otomatis dengan memberikan jumlah trombosit dari berbagai metode (mis., Impedansi, optik, dan immuno-platelet).

Tabel 11. Nilai Trombosit

Nilai Normal Trombosit : $140-440 \times 10^3/\mu\text{l}$	
Tinggi : Reumatoid Arthritis, beberapa kanker, perdarahan, polisitemia, beberapa anemia	Rendah : Penyakit limpa, leukemia, anemia aplastik, alkoholisme, infeksi parah, operasi jantung, transfusi darah

Gangguan Hemorrhagik disebabkan oleh kelainan hemostasis, yaitu pasien dengan kelainan ini cenderung mengalami pendarahan. Beberapa gangguan hemoragik melibatkan pembuluh darah, tetapi sebagian besar melibatkan kemampuan tubuh untuk menghentikan atau menahan pendarahan. Trombositopenia adalah keadaan dimana jumlah

trombosit yang berkurang. Tabel 12 mencantumkan jenis dan penyebab kondisi ini.

Tabel 12. Thrombocytopenia

THROMBOCYTOPENIA	
Tipe	Penyebab
Penurunan produksi trombosit	Agen toksik, infeksi, radiasi, anemia, kelainan genetik
Distribusi trombosit yang tidak normal	Limpa membesar (yang menjebak trombosit), berbagai kanker
Hilangnya trombosit	Transfusi darah masif
Penghancuran trombosit yang tidak normal	Diseminasi Koagulasi intravaskular (DIC), vaskulitis (radang pembuluh darah), trombotik trombositopenia purpura (TTP), heparin, kina, beberapa antibiotik, leukemia, limfoma

Trombositosis, peningkatan jumlah trombosit, dapat menyebabkan perdarahan atau trombosis. Kondisi ini terjadi pada kanker, peradangan, splenektomi, defisiensi besi, dan gangguan kualitatif trombosit. Pola perdarahan sering menunjukkan jenis masalah yang perlu diselidiki. Jenis-jenis perdarahan meliputi:

- a. Ekimosis (memar), perdarahan difus ke dalam kulit
- b. Petekie, perdarahan tepat di kulit tanpa trauma
- c. Pendarahan mukosa: epistaksis (mimisan), menoragia (perdarahan menstruasi berlebih), gusi berdarah, atau perdarahan gastrointestinal

PUSTAKA:

- Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE, Sawyer BG. TIETZ Fundamental of Clinical Chemistry, sixth edition. Elsevier Inc. Philadelphia. 2008
- Dipiro JT, Talbert RL, Yee GC, Matzke GR, Wells BG, Posey LM. Pharmacotherapy A Pathophysiologic Approach 7th edition. McGraw-Hill Companies, Inc. New York. 2008
- Harris N. Basic Hematology. Professional Practice in Clinical Chemistry. Presented by AACC and NACB.
- NHANES 2007-2008. Complete Blood Count using HMX. Tersedia pada [URL]: https://wwwn.cdc.gov/nchs/data/nhanes/2007-2008/labmethods/cbc_e_met.pdf, diakses pada 25 Desember 2019
- Roberta Reed. Clinical Chemistry Learning Guide Series. Abbot Laboratpries. USA. 2017



BAB V

PEMERIKSAAN FUNGSI HATI

PENGANTAR KIMIA KLINIK DAN DIAGNOSTIK



BAB V

PEMERIKSAAN FUNGSI HATI

A. Pendahuluan

Hati atau biasa disebut liver melakukan berbagai jenis fungsi antara lain biokimia, fungsi sintetis dan ekskretoris, sehingga sampai saat ini tidak ada uji biokimia tunggal yang dapat mendeteksi fungsi hati keseluruhan. Terminologi tes fungsi hati biasa (*Liver Function Test*) disebut *Liver Panel*, *Liver Injury Tests*, *Liver Profil*.

Tes Fungsi Hati yang dilakukan untuk indikasi gejala non spesifik seperti demam, kelelahan, mual, perut nyeri, nyeri otot, nyeri sendi, dan penurunan berat badan atau sebagai bagian dari skrining kesehatan umum. Dokter juga dapat meminta kepada pasien untuk melakukan pemeriksaan fungsi hati untuk mengkonfirmasi dugaan pra-klinis terkait penyakit hati dan non-hati spesifik.

Penyakit pada hati umumnya dikategorikan sebagai berikut:

- **Inflamasi:** infeksi virus, obat-obatan hepatotoksik dan penyalahgunaan alkohol dapat menyebabkan hepatitis, cedera hepatosit, yang berakibat pada peradangan hati. Peradangan hati kronis (misalnya virus hepatitis atau hemochromatosis) sering berakhir menjadi sirosis yaitu suatu kondisi yang ditandai dengan jaringan hati luka dan fibrosis yang ireversibel, dan risiko meningkat menjadi kanker hati.
- **Gangguan metabolisme** yang dapat mempengaruhi fungsi hati antara lain defisiensi antitripsin alfa-1 hereditas, penyakit Wilson dan hemokromatosis.
- **Neoplastik:** Kanker di hati dapat timbul de novo di hati, berkembang dari sirosis atau menyebar dari kanker di tempat lain.

Beberapa indikasi untuk dilakukan tes fungsi hati tertera pada tabel 13.

Tabel 13 . Indikasi-indikasi untuk pemeriksaan Fungsi Hati

INDIKASI	CONTOH
Temuan riwayat atau pemeriksaan menyarankan penyakit hati	<ul style="list-style-type: none">• Riwayat keracunan (mis. Parasetamol)• Ikterus saat pemeriksaan• Riwayat penyalahgunaan alkohol• Tanda-tanda penyakit hati kronis termasuk asites• Riwayat keluarga hemokromatosis
Skrining untuk populasi yang memiliki risiko tinggi infeksi virus yang ditularkan melalui darah	<ul style="list-style-type: none">• pelacakan dalam kasus hepatitis• Pasien lokal• Penggunaan narkoba• Transfusi sebelumnya
Penyakit nonliver yang signifikan yang dapat mempengaruhi fungsi hati	<ul style="list-style-type: none">• Malignansi• Hipoxia
Monitoring pengobatan	<ul style="list-style-type: none">• Valproat• Metotrexat

Pemeriksaan fungsi hati memiliki beberapa keterbatasan antara lain :

1. Sensitivitas lemah: Pemeriksaan fungsi hati mungkin normal di penyakit hati tertentu seperti sirosis, fibrosis portal non sirosis, fibrosis hati bawaan, dan lainnya
2. Spesifisitas lemah : Pemeriksaan fungsi hati tidak memiliki kekhususan dan tidak spesifik pada penyakit tertentu. Albumin serum mungkin mengalami penurunan kadar pada penyakit kronis dan juga pada sindroma nefrotik. Aminotransferase dapat meningkat pada penyakit jantung dan penyakit hati. Kecuali untuk asam empedu serum, LFT tidak spesifik pada penyakit hati dan semua parameter mungkin meningkat untuk proses patologis di luar hati.

B. Pemeriksaan Fungsi Hati

1. Tes kapasitas hati untuk transport anion organik dan pemetabolisme obat: Serum bilirubin, urin bilirubin, urobilinogen dll.

- a. Serum Bilirubin

Bilirubin adalah anion endogen yang berasal dari produk pemecahan hemoglobin pada sel darah merah. Bilirubin tersedia dalam bentuk tidak langsung atau tidak terkonjugasi, yang merupakan lemak larut, terikat pada albumin, dan diangkut ke hati. Bentuk langsung atau terkonjugasi, yang dikonjugasi oleh hati menjadi bentuk yang larut dalam air dan terutama diekskresikan ke dalam empedu.

Total bilirubin adalah jumlah dari keduanya dan cenderung tidak menjadi indikator sensitif fungsi hati; ini lebih merupakan ukuran ekskresi dari metabolisme. Bilirubin dapat berubah oleh paparan cahaya sehingga sampel serum dan plasma serta harus disimpan dalam kondisi gelap sebelum pengukuran dilakukan. Ketika hasil tes fungsi hati abnormal dan kadar bilirubin serum lebih dari $17 \mu\text{mol} / \text{L}$ perlu diduga adanya penyakit hati.

Tipe Bilirubin

- **Bilirubin Total** : Hasil pengujian diukur sebagai total, yang bereaksi dalam 30 menit setelah penambahan alkohol. **Kisaran Normal 0,2-0,9 mg / dl (2-15 $\mu\text{mol} / \text{L}$).** Hasil akan sedikit lebih tinggi 3-4 $\mu\text{mol} / \text{L}$ pada pria dibandingkan dengan wanita. Hasil ini merujuk pada faktor penyebab yang membantu untuk mendiagnosis sindrom Gilbert pada laki-laki dengan mudah.
- **Bilirubin Langsung**: merupakan fraksi bilirubin yang larut dalam air. Pengujian ini diukur dengan reaksi terhadap diazotisasi asam sulfanilat dalam 1 menit dan memberikan perkiraan bilirubin terkonjugasi. **Kisaran normal 0.3mg / dl (5.1 $\mu\text{mol} / \text{L}$)**
- **Bilirubin tidak langsung**: Fraksi ini dihitung oleh perbedaan bilirubin total dan langsung dan merupakan ukuran fraksi bilirubin tak terkonjugasi.

Nilai diagnostik kadar bilirubin: Bilirubin dalam tubuh adalah keseimbangan yang cermat antara produksi dan penghapusan pigmen dalam tubuh. Hiperbilirubinemia terlihat pada virus hepatitis akut yang secara langsung berbanding lurus dengan derajat cedera histologis hepatosit dan perjalanan penyakit yang lebih lama

b. Urin Bilirubin

Adanya bilirubin urin mengindikasikan penyakit hepatobilier. Bilirubin tak terkonjugasi terikat erat pada albumin dan tidak disaring oleh glomerulus dan karenanya tidak terdapat dalam urin. Jumlah bilirubin terkonjugasi yang terukur dalam serum hanya ditemukan pada penyakit hepatobilier.

Karena ambang ginjal untuk bilirubin terkonjugasi berada pada level rendah dan metode laboratorium dapat mendeteksi tingkat kadar rendah bilirubin dalam urin sehingga bilirubin terkonjugasi dapat ditemukan di urin saat kadar serum bilirubin normal. Hal ini menjadi tanda awal kasus pada virus hepatitis akut.

Tes strip yang diresapi dengan pereaksi diazo mudah digunakan dan mendeteksi 1-2 μmol bilirubin/L.

c. Urobilinogen

Peningkatan urobilinogen dalam urin merupakan indikator sensitif keadaan disfungsi hepatoseluler. Parameter ini digunakan pada indikasi kerusakan hati alkoholik, sirosis atau penyakit hati ganas. Pada keadaan terinfeksi virus hepatitis muncul lebih awal dalam urin. Hal ini sebagai penanda dalam hemolisis. Pada ikterus kolestatik, urobilinogen menghilang dalam urin. Kemungkinan akan kembali ada pada kasus batu empedu.

2. Tes yang mendeteksi cedera hepatosit (enzim serum tes) - Aminotransferase, alkaline phosphatase, α glutamyl transpeptidase, 5 nucleotidase, leucine aminopeptidase dll.

a. Aminotransferase

Aminotransferase (sebelumnya transaminase) adalah indikator yang paling sering digunakan dan spesifik terhadap nekrosis hepatoseluler. Enzim-aspartat ini aminotransferase (AST, sebelumnya serum glutamate oxaloacetic transaminase-SGOT) dan alanin amino transferase (ALT, sebelumnya serum glutamat piruvat transaminase-SGPT) mengkatalisis transfer asam alfa amino dari aspartat dan alanin masing-masing ke kelompok alfa keto dari asam alfa ketoglutarat. ALT terutama berada di hati tetapi AST terdapat dalam berbagai jaringan seperti jantung, otot rangka, ginjal, otak dan hati

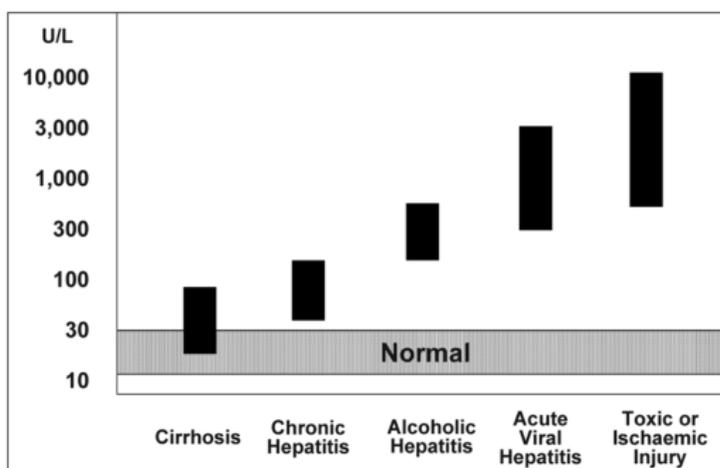
AST: alanine + α ketoglutarate = oxaloacetate + glutamat

ALT: alanin + α ketoglutarate = piruvat + glutamate

Tingkat elevasi dari kadar aminotransferases :

- **Parah (> 20 kali, 1000 U / L):** Kadar AST dan ALT meningkat sampai batas tertentu di hampir semua penyakit hati. Peningkatan tertinggi terjadi pada hepatitis virus yang parah, obat atau racun yang menginduksi nekrosis hati dan syok sirkulasi. Meskipun kadar enzim mungkin mencerminkan sejauh mana nekrosis hepatoseluler, namun peningkatan ini tidak berkorelasi dengan hasil akhirnya. Bahkan AST dan ALT menurun dapat mengindikasikan prognosis yang buruk pada kegagalan fungsi hati
- **Sedang (3-20 kali):** Kadar AST dan ALT cukup tinggi pada kondisi hepatitis akut, hepatitis neonatal, hepatitis kronis, hepatitis autoimun, hepatitis terinduksi obat, hepatitis alkoholik dan obstruksi saluran empedu akut. ALT biasanya lebih sering meningkat dibandingkan dengan AST kecuali pada penyakit hati kronis. Pada virus hepatitis akut tanpa komplikasi, nilai yang paling tinggi akan mendekati normal dalam waktu 5 minggu setelah onset penyakit dan kadar normal diperoleh pada 8 minggu pada 75% kasus.
- **Ringan (1-3 kali):** Peningkatan kadar ini biasanya terlihat pada hepatitis neonatal terinduksi sepsis, bilier ekstrahepatik atresia (EHBA), perlemakkan hati, sirosis,

steato non-alkohol hepatitis (NASH), toksisitas obat, myositis dan bahkan setelah olahraga berat. Sepertiga bahkan setengah dari individu sehat dengan peningkatan kadar adalah normal.



Gambar 8. Nilai serum AST dan ALT untuk beberapa keadaan hati

- b. Enzim Alkaline Fosfatase (ALP) sebagai penanda deteksi Cholestasis

Alkaline phosphatases (ALP) adalah keluarga zinc metaloenzim, dengan serin di pusat akti, enzim ini melepaskan fosfat anorganik dari berbagai ortofosfat organik dan terdapat di hampir semua jaringan. Di hati, alkali fosfatase ditemukan secara histokimia dalam mikrovili dari canaliculi empedu dan pada permukaan sinusoidal dari hepatosit. Alkaline phosphatase yang berasal dari hati, tulang dan ginjal dianggap berasal dari gen yang sama tetapi enzim yang berasal dari usus dan plasenta berasal dari gen berbeda

Di hati terdapat dua bentuk alkali fosfatase yang berbeda namun belum diketahui fungsinya. Pada orang sehat, alkaline phosphatase yang paling banyak beredar berasal dari hati atau tulang.

Dalam identifikasi kadar ALP menggunakan p-nitrophenol fosfat sebagai substrat, dalam buffer alkali. Serum murni yang belum dihemolisis dan plasma yang

diheparinisasi merupakan specimen yang dugunkan. Hal ini disebabkan karena terdapatnya sitrat, oksalat atau EDTA sebagai antikoagulan, dapat membentuk kompleks dengan seng dan alkali fosfatase sehingga menyebabkan inaktivasi enzim ireversibel.

Nilai rata-rata alkali fosfatase bervariasi sesuai usia dan tinggi pada masa kanak-kanak dan pubertas; dan lebih rendah di usia pertengahan; serta lebih tinggi lagi di usia tua. Laki-laki pada umumnya memiliki nilai ALP yang lebih tinggi dibandingkan dengan wanita. Kadar ini berhubungan dengan berat badan seseorang dan berbanding terbalik dengan tinggi badan. Tingkat alkali fosfatase tertinggi terjadi pada gangguan kolestatik. Pada virus hepatitis akut, biasanya alkali fosfatase baik normal atau sedang meningkat.

Metastasis di hati dan tulang juga dapat menyebabkan peningkatan kadar alkali fosfatase. Penyakit lain seperti penyakit hati infiltratif, abses, penyakit hati granulomatosa dan amiloidosis juga dapat menyebabkan peningkatan alkali fosfatase. Kadar alkali fosfatase yang sedikit meningkat dapat dilihat pada kondisi sirosis dan hepatitis gagal jantung kongestif.

Kadar alkali fosfatase yang rendah terjadi pada keadaan hipotiroidisme, anemia pernisiiosa, defisiensi zinc dan hipofosfataia bawaan. Penyakit Wilson yang merupakan komplikasi oleh hemolisis dan FHF juga menghasilkan kadar alkali fosfatase yang sangat rendah. Terlepas dari penyebab gagal hati akut, rasio alkali fosfatase yang rendah terhadap bilirubin dikaitkan dengan prognosis yang buruk. Alkaline phosphatase meningkat secara tidak proporsional ke level bilirubin (bilirubin <1,0 mg / dl, alkaline phosphatase > 1.000 IU / mL). Obat-obatan seperti simetidin, frusemid, fenobarbiton dan fenitoin dapat meningkatkan kadar alkaline phosphatase.

c. Enzim Gamma Glutamyl Transpeptidase

γ Glutamyl transpeptidase (GGT) adalah glikoprotein terikat membran yang mengkatalisis transfer kelompok γ

glutamyl ke peptida lain, asam amino dan air. GTT sejumlah besar ditemukan di ginjal, pankreas, hati, usus dan prostat dimana pada pria memiliki nilai GTT yang lebih tinggi. Anak-anak lebih dari 4 tahun memiliki nilai serum yang sama dengan orang dewasa normal. **Kisaran normal adalah 0-30 IU / L.**

Pada hepatitis virus akut, kadar γ glutamyl transpeptidase dapat mencapai puncaknya pada minggu ketiga penyakit dan pada beberapa pasien tetap tinggi selama 6 minggu. Seringkali dokter dihadapkan dilema kasus, dimana kompilasi pasien mengalami peningkatan kadar alkali fosfatase dan tidak mampu membedakan antara penyakit hati dan gangguan tulang. Pada kasus ini, pengukuran nilai γ glutamyl transferase dapat membantu karena hanya muncul pada keadaan gangguan kolestatik dan bukan pada penyakit tulang.

Kondisi lain yang menyebabkan peningkatan kadar γ glutamyl transpeptidase termasuk diabetes mellitus tanpa komplikasi, pankreatitis akut dan infark miokard. Obat-obatan seperti fenobarbiton, fenitoin, parasetamol, trisiklik antidepresan dapat meningkatkan kadar γ glutamyl.

Sebagai tes diagnostik kegunaan utama γ glutamyl transpeptidase terbatas pada pengecualian penyakit tulang, karena γ glutamyl transpeptidase tidak ditemukan pada tulang. Enzim lainnya yang juga diduga berperan dalam kolestasis adalah 5-Nucleotidase dan Leucine aminopeptidase, namun kedua enzim ini tidak rutin diperkirakan untuk mendeteksi kolestasis.

3. Tes kapasitas biosintesis Hati – Serum protein, albumin, prealbumin, serum seruloplasmin, procollagen III peptide, 1 antitrypsin, waktu protrombin dll.
 - a. Serum Protein

Hati merupakan sumber utama sebagian besar serum protein. Sel-sel parenkim bertanggung jawab terhadap sintesis albumin, fibrinogen dan faktor koagulasi lainnya dan pada sebagian besar a dan b globulin.

- **Albumin:** Albumin adalah protein yang paling penting secara kuantitatif yang disintesis oleh hati dan bermanfaat sebagai indikator fungsi hati. Kadar serum albumin bukan merupakan indikator protein hati yang dapat digunakan pada sintesis penyakit hati akut dikarenakan waktu paruh dari albumin adalah 20 hari. Sintesis albumin dipengaruhi penyakit hati, tetapi juga oleh status nutrisi, keseimbangan hormon dan tekanan osmotik. Hati merupakan satu-satunya tempat sintesis albumin.

Kadar serum albumin biasanya rendah pada pasien dengan sirosis dan asites. Pada pasien dengan atau tanpa asites, kadar albumin serum berkorelasi dengan prognosis. Nilai serum normal berkisar dari 3,5 g / dl hingga 4,5 g / dl. Rata-rata orang dewasa memiliki sekitar 300 hingga 500 g albumin. Tingkat serum setiap saat mencerminkan tingkat sintesis, degradasi dan volume distribusi.

Kortikosteroid dan hormon tiroid merangsang sintesis albumin dengan meningkatkan konsentrasi mRNA dan tRNA albumin dalam hepatosit.

Kadar serum albumin cenderung normal pada penyakit seperti virus hepatitis akut, hepatotoksitas terkait obat, dan ikterus obstruktif.

kadar albumin di bawah 3g / dl pada hepatitis menindikasikan dugaan penyakit hati kronis seperti sirosis dimana terjadi penurunan sintesis albumin. Pada keadaan ascites terjadi sintesis albumin secara normal, tetapi kadarnya kemungkinan berkurang karena peningkatan volume distribusi. Hipoalbuminemia tidak spesifik pada penyakit hati dan dapat terjadi pada malnutrisi protein, sindrom nefrotik dan protein kronis kehilangan enteropati.

- **Prealbumin**

Kadar serum prealbumin adalah 0,2 - 0,3 g/L.
Kadar ini dapat mengalami penurunan pada penyakit hati

akibat sintesis prealbumin yang berkurang. Kadar prealbumin dapat berubah karena waktu paruh yang singkat. Penentuan prealbumin dianggap sangat berguna dalam hepatotoksitas yang diinduksi obat.

- Serum ceruloplasmin

Kadar normal plasma adalah 0,2-0,4 g / L. ceruloplasmin disintesis dalam hati dan merupakan protein fase pada akut. Peningkatan konsentrasi plasma terjadi pada infeksi, artiritis reumatoid, kehamilan, penyakit hati non Wilson dan penyakit kuning obstruktif. Pemeriksaan ini penting dilakukan karena merupakan penanda diagnostik pada penyakit Wilson di mana kadar plasmanya rendah. Kadar rendah juga dapat dilihat pada neonatus, penyakit Menke, kwashiorkor, marasmus, protein yang kehilangan enteropati, defisiensi tembaga dan aceruloplasminemia.

- Procollagen III Peptida

Konsentrasi serum peptida ini tampaknya meningkat tidak hanya pada keadaan fibrosis hati tetapi juga dengan peradangan dan nekrosis. Pengukuran serial prokolagen III dapat membantu dalam menindaklanjuti penyakit hati kronis.

- Alpha-1 Antitrypsin

Alpha-1 Antitrypsin adalah glikoprotein yang disintesis oleh hati dan merupakan penghambat proteinase serin, terutama elastase. **Kadar normalnya adalah 1- 1.6g/L.** Alpha-1 Antitrypsin adalah sebuah protein fase akut dimana kadar serumnya meningkat dengan kondisi gangguan radang, kehamilan dan setelah penggunaan pil oral kontrasepsi. Penyakit hati biasanya terlihat dengan defisiensi Alpha-1 Antitrypsin, kelainan bawaan.

- Alpha Feto Protein

Protein ini merupakan protein utama yang terdapat dalam plasma janin di awal kehamilan dan dengan kadar yang sangat rendah. ($<25\mu\text{g} / \text{L}$), kadar protein ini dapat meningkat pada karsinoma hepatoseluler (HCC) namun tidak mengalami peningkatan pada HCC non sirosis. Kadar yang meningkat juga ditemukan pada penyakit hati lainnya seperti hepatitis kronis, fase regenerasi hepatitis akut dan metastasis hati. Kadar ini juga meningkat pada adenoma yang terkait dengan tyrosinemia.

- Prothrombin Time (PT)

Hati adalah tempat utama untuk sintesis 11 protein pembekuan darah: fibrinogen, protrombin, faktor labil, faktor stabil, faktor natal, faktor prouart pru, prekallikrein dan kininogen dengan berat molekul tinggi.

Metode standar untuk mengevaluasi jalur ekstrinsik koagulasi untuk menilai laju waktu protrombin (PT). Hasil tes ini dapat dinyatakan dalam detik atau sebagai rasio waktu protrombin plasma untuk mengontrol waktu plasma. Kontrol normal biasanya di kisaran 9-11 detik. Kelebihan 2 detik dianggap PT-nya tidak normal.

Panjangnya PT tidak spesifik untuk menandakan adanya penyakit hati karena terlihat pada berbagai kekurangan faktor koagulasi, DIC, dan konsumsi obat-obatan tertentu. Pada penyakit hepatoseluler akut dan kronis, PT dapat berfungsi sebagai indikator prognostik.

Pada penyakit hepatoselular akut, memburuknya PT menunjukkan suatu peningkatan kemungkinan gagal hati akut. PT adalah prediktor hasil dalam kasus overdosis acetoaminophen dan hepatitis alkoholik akut. Panjangnya PT juga menunjukkan hasil jangka panjang yang buruk pada penyakit hati kronis.

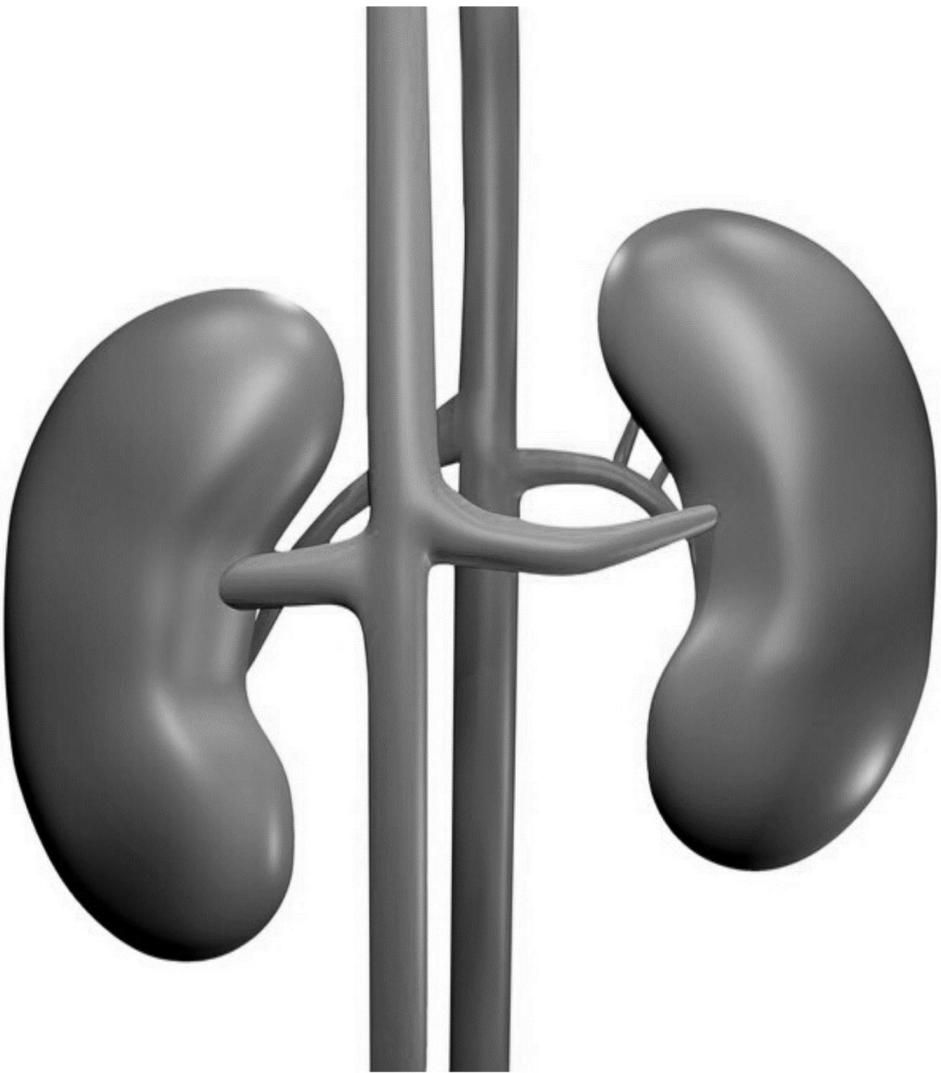
Tabel 14. Signifikansi Klinis Tes Fungsi Hati

Normal	Abnormalitas	Penyakit Hati yang terkait	Sumber Extrahepatik
Bilirubin 0-1mg/dl	Penurunan klirens hepatic	Elevasi ringan: Penyakit hati, ikterus fisiologis, Hyperbilirubinaemia bawaan Elevasi sedang: EHBA, IHBA, obat-obatan, virus hepatitis, hiperbilirubinemia bawaan	Hemolysis, ineffective erythropoiesis, hematoma, myoglobinemia
Aminotransferases ALT 10-55 U/L AST 10-40 U/L	Kebocoran jaringan yang rusak	Peningkatan yang ditandai: Hepatitis, autoimun, toksik, hepatitis neonatal, iskemik AST / ALT > 2 di CLD AST / ALT <1 hepatitis/ cedera akut	ALT spesifik untuk hepatositik nekrosis. AST untuk kerangka, jantung, otot, ginjal, otak.
Alkaline phosphatase 45-115 U/L	Overproduksi dan kebocoran darah	Elevasi ringan: Penyakit hati Elevasi sedang: EHBA, IHBA, gangguan infiltrasi, granulomatosa hepatitis	Penyakit tulang, plasenta, usus, tumor
γ glutamyl transpeptidase 0-30 U/L	Overproduksi dan kebocoran darah	Sama seperti alkaline phosphatase, Ditingkatkan di EHBA, PFIC	Ginjal, limpa, pankreas, jantung, paru-paru, otak

5-nucleotidase 0-11 U/ml	Overproduksi dan kebocoran darah	Sama seperti alkaline phosphatas	Khusus untuk hati
Prothrombin time 10-14sec	Penurunan kapasitas sintetis	Penyakit hati akut / kronis - tidak responsif terhadap Vit K EHBA / obstruksi bilier- responsif terhadap Vit K	Defisiensi Vit K sekunder untuk MAS, PEM, DIC
Serum albumin 3.5-5.5g/dl	Penurunan sintetis	CLD, Sirosis	Sindrom nefrotik, kehilangan protein enteropati, PEM, IBD, Malignansi

PUSTAKA :

- B.R. Thapa and Anuj Walia, Liver Function Tests and their Interpretation, Indian Journal of Pediatrics, Volume 74—July, 2007 : India : 67-75
- Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE, Sawyer BG. Tietz Fundamental of Clinical Chemistry, sixth edition. Elsevier Inc. Philadelphia. 2008
- Rosalki SB, McIntyre N. Biochemical investigations in the management of liver disease. *Oxford textbook of clinical hepatology*, 2nd ed. New York; Oxford university press, 1999; 503-521.
- Tarchoon Aw, Liver function tests (LFTs), Proceedings of Singapore Healthcare, Volume 19, Number 1, 2010 : Singapore : 80-82
- Penelope Coates, Liver function tests, AustraliAn Family PhysiCiAn Vol.40, no. 3, mARch 2011 : Australia : 113-115
- Krier M, Ahmed A. The asymptomatic outpatient with abnormal liver function tests. *Clin Liver Dis.* 2009;13(2):167-77.



BAB VI

PEMERIKSAAN FUNGSI GINJAL

PENGANTAR KIMIA KLINIK DAN DIAGNOSTIK

BAB VI

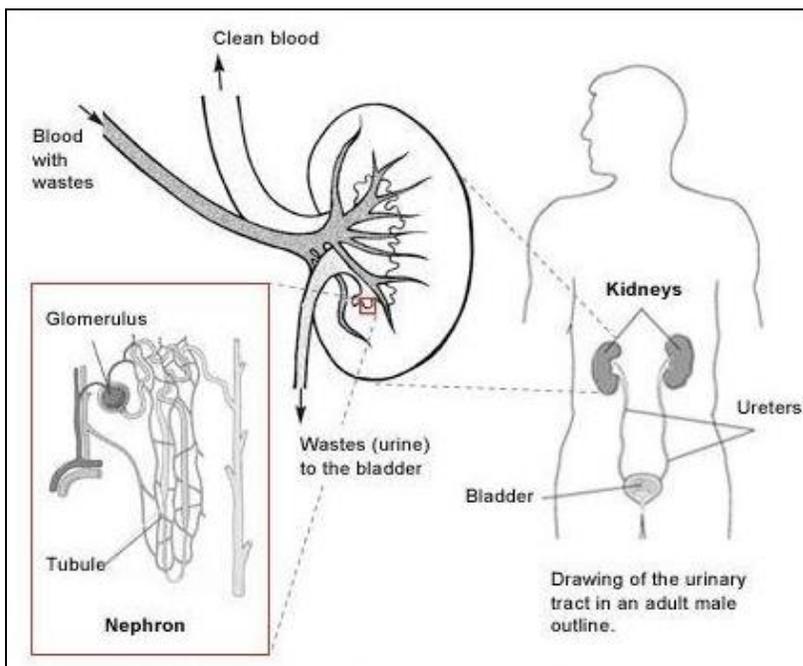
PEMERIKSAAN FUNGSI GINJAL

A. Pendahuluan

Ginjal berperan dalam menjaga keseimbangan homeostatis dan regulasi cairan dalam tubuh. Fungsi utama dari ginjal adalah ekskresi, regulasi dan homeostatis, dan menghasilkan hormon serta fungsi metabolik. Nefron merupakan bagian ginjal yang terdiri dari glomerulus, tubulus proksimal dan distal, dan duktus pengumpul, yang berfungsi dalam menjalankan fungsi ginjal ini.

1. Fungsi ekskresi, terdapat proses filtrasi, sekresi, dan reabsorpsi meregulasi pembuangan air, keseimbangan elektrolit, keseimbangan pH dan zat terlarut sehingga menjaga homeostatis tubuh.
2. Fungsi endokrin, yaitu ginjal mensintesis dan mensekresikan berbagai hormone yang terlibat dalam menjaga homeostatis cairan dan elektrolit. Hormon-hormon yang tersintesis di ginjal adalah prostaglandin (Pg), kinin, rennin, kortisol, dll.
3. Fungsi metabolik yang dilakukan oleh ginjal adalah aktivasi vitamin D₃, glukoneogenesis, dan metabolisme senyawa endogen seperti insulin, steroid, dan xenobiotik.

Menurunnya fungsi ginjal disebabkan oleh menurunnya kemampuan dari nefron. Penilaian fungsi ginjal penting dalam penatalaksanaan pasien dengan penyakit ginjal atau patologi yang memengaruhi fungsi ginjal. Tes fungsi ginjal memiliki kegunaan dalam mengidentifikasi keberadaan penyakit ginjal, memantau respons ginjal terhadap pengobatan, dan menentukan perkembangan penyakit ginjal.



Gambar 9. Glomerulus dan Tubulus pada Ginjal

B. Pemeriksaan Fungsi Ginjal

Pengujian yang dilakukan dalam pengujian fungsi ginjal adalah mengukur fungsi glomerular, mengecek kadar protein dalam urin (albuminuria dan protenuria), dan fungsi tubular.

1. Pengujian Fungsi Glomerular

Indikator yang paling baik dalam menguji fungsi glomerular adalah laju filtrasi glomerulus (*glomerular filtrate rate/ GFR*). GFR merupakan volume plasma yang secara lengkap telah terfiltrasi dari zat-zat darah oleh glomerulus dalam satuan waktu. GFR normal pada pria dewasa adalah berkisar 90 hingga 120 mL per menit.

Pengukuran GFR penting untuk mengidentifikasi penyakit gagal ginjal kronis (*Chronic Kidney Disease/ CKD*) dalam rangka menentukan target terapi untuk mencegah perkembangan dan komplikasi, serta untuk memonitoring perkembangan dan memprediksi kapan waktu yang tepat untuk menggunakan terapi pengganti ginjal (*renal replacement*

therapy/ RRT). Selain itu, GFR digunakan sebagai panduan dalam penentuan dosis obat yang dieksresikan di ginjal untuk menghindari kejadian toksisitas obat yang potensial.

GFR ditentukan dengan mengukur klirens marker atau penanda dari luar tubuh (eksogen) seperti inulin dan iohexol maupun dalam tubuh (endogen) seperti kreatinin oleh ginjal. Selain menggunakan inulin dan iohexol, marker eksogen yang dapat digunakan adalah radioisotop seperti chromium-51 ethylene-diamine-tetra-acetic acid ($^{51}\text{Cr-EDTA}$), dan technetium-99-labeled diethylene-triamine-pentaacetate ($^{99}\text{Tc-DTPA}$).

Zat yang terukur merupakan zat yang stabil konsentrasinya dalam darah, bersifat *inert*, secara bebas difiltrasi oleh glomerulus, dan tidak disekresikan, reabsorpsi, disintesis, dan dimetabolisme oleh ginjal, sehingga jumlah yang tersaring sama dengan jumlah yang dieksresikan melalui urin.

Pengujian yang dapat dilakukan untuk menilai fungsi glomerular adalah pengujian klirens kreatinin, kadar urea dalam darah (*Blood Urea Nitrogen/ BUN*), dan cystatin C

Hubungan antara stadium CKD dengan nilai GFR dapat dilihat pada Tabel 15 .

Tabel 15. Hubungan Stadium Penyakit Ginjal Kronis dengan GFR

Stadium	Deskripsi	Nilai GFR (mL/menit/1.73 m ²)
1	Kerusakan ginjal dengan GFR normal atau tinggi	≥90
2	Kerusakan ginjal dengan penurunan GFR ringan	60 - 89
3	Penurunan GFR sedang	30 - 59
4	Penurunan GFR berat	15 - 29
5	Gagal ginjal	< 15 (atau dialysis)

Pengujian fungsi glomerylar dapat dilakukan dengan pengujian klirens kreatinin, Blood Urea Nitrogen (BUN), Pengujian Klirens Urea, dan Pengujian Kadar Cystatin C.

a. Pengujian Klirens Kreatinin

Kreatinin merupakan produk sisa yang terbentuk dari kreatin fosfat dimana pengubahan ini terjadi secara spontan, non enzimatik, dan tergantung dengan total massa otot tubuh. Kreatinin merupakan marker indogen dalam pengukuran GFR. Penggunaan marker eksogen yang invasif dan kesulitan dalam penggunaannya, marker endogen yang paling sering digunakan. Rumus dari pengukuran GFR dengan menggunakan marker kreatinin adalah:

$$\text{GFR} = (\text{US} \times \text{V}) / \text{PS}$$

Dimana, **GFR** merupakan klirens kreatinin dalam satuan mL plasma zat per menit; **US** merupakan konsentrasi zat dalam urin, **V** merupakan volume laju alir urin dalam mL per menit; dan **PS** merupakan konsentrasi zat dalam plasma. Pada orang dewasa, GFR dikoreksi sesuai dengan luas permukaan tubuh (*body surface area/ BSA*) yang dibandingkan dengan nilai 1.73 m², yaitu rata-rata BSA orang dewasa umur 25 tahun. Hal ini dikarenakan nilai kreatinin dipengaruhi oleh diet (daging merah meningkatkan kreatinin sebesar 30%), status kehamilan (pada ibu hamil, nilai GFR meningkat dan nilai kreatinin menurun).

$$\text{GFR}_{\text{koreksi}} = \text{GFR}_{\text{terukur}} \times (1.73/\text{BSA m}^2)$$

Selain menggunakan kliren kreatinin, serum kreatinin dapat digunakan untuk mengestimasi nilai GFR menggunakan rumus Modified Diet in Renal Disease (MDRD) dan CKD-EPI. Nilai ini dipengaruhi oleh ras, usia, dan jenis kelamin.

Pengukuran kadar kreatinin dilakukan secara kalorimetrik dengan reaksi Jaffe menggunakan asam pikrat

dalam kondisi basa. Selain itu pengukuran kreatinin juga dilakukan dengan metode enzimatis.

b. Pengujian Blood Urea Nitrogen (BUN)

BUN atau urea merupakan nitrogen yang terkandung dalam senyawa yang dihasilkan oleh hati sebagai produk sisa atau hasil metabolisme protein dan siklus urea. 85% urea dieksresikan melalui ginjal dan sisanya melalui saluran pencernaan.

Serum urea meningkat pada kondisi klirens ginjal yang menurun (pada gangguan atau gagal ginjal), selain itu dapat meningkat pada kondisi yang tidak berhubungan dengan penyakit ginjal seperti pendarahan saluran pencernaan bagian atas, dehidrasi, status katabolik, dan diet tinggi protein. Serum urea dapat turun pada kondisi kelaparan, diet rendah protein, dan gangguan ginjal berat. Serum kreatinin lebih akurat dibandingkan serum urea dalam pengukuran fungsi ginjal.

Rasio BUN antara kreatinin dan BUN adalah 20:1 pada penyakit pre-renal, sedangkan pada penyakit renal intristik yaitu 10:1.

Metode pengukuran BUN dapat dilakukan dengan metode isotope-dilution mass spectrometry, metode enzimatis seperti metode GLDH Coupled Enzymatic, metode Barthelot, metode konduktimetri, metode ion selective electrode, dan dengan metode dengan indikator warna, dan metode kimia seperti diacetyl monoxyme dan o-phtaldehyde.

c. Pengujian Klirens Urea

Klirens urea merupakan jumlah darah yang dibersihkan dari urea oleh ginjal dalam 1 menit. Pengukuran ini dilakukan dengan mengukur konsentrasi urea dalam serum, konsentrasi urea dalam urin, dan jumlah urin yang dieksresikan dalam 1 jam. Standar klirens urea adalah 54 m/menit, dimana nilai klirens urea di bawah 60% menggambarkan terdapat kerusakan ginjal.

Rumus pengujian klirens urin jika volume lebih dari 2 ml per menit adalah:

$$\frac{\textit{konsentrasi urea dalam urin} \times \textit{volume urin/menit}}{\textit{konsentrasi urea dalam serum}}$$

Sedangkan pada volume urin kurang dari 2 ml/menit adalah:

$$\frac{\textit{konsentrasi urea dalam urin} \times \sqrt{\textit{volume urin/menit}}}{\textit{konsentrasi urea dalam serum}}$$

Metode pengukuran klirens urea sama dengan melakukan pengukuran kadar urea dalam BUN. Metode yang dapat dilakukan dengan metode isotope-dilution mass spectrometry, metode enzimatik seperti metode GLDH Coupled Enzymatic, metode Barthelot, metode konduktimetri, metode ion selective electrode, dan dengan metode dengan indikator warna, dan metode kimia seperti diacetyl monoxyme dan o-phtaldehyde.

d. Pengujian Kadar Cystatin C

Cystatin C merupakan protein bermolekuler rendah yang berfungsi sebagai inhibitor protease yang dihasilkan oleh sel nukleat. Cystatin C terukur dalam serum dan urin. Kadar serum cystatin C berkorelasi terbalik dengan GFR dimana nilai serum cystatin C yang tinggi mengindikasikan nilai GFR yang rendah dan nilai serum cystatin C yang rendah mengindikasikan nilai GFR yang tinggi. Cystatin C terukur dalam serum dan urin. Konsentrasi cystatin C dapat dipengaruhi oleh kanker, penyakit tiroid, dan merokok. Pengukuran kadar cystatin C dilakukan dengan metode imunoturbidimetry atau immunonephelometric.

Tabel 16. Kadar Normal Zat dalam Pemeriksaan Fungsi Glomerular

Konstituen	Kadar Normal
Kreatinin	<i>Darah:</i> Pria: 0.7-1.4 mg/dL Wanita : 0.4-1.3 mg/dL <i>Urine:</i> 1-2 g/hari
Urea	<i>Darah:</i> 15-40 mg/dL <i>Urin:</i> 15-30 g/hari
Cystatin C	0.8-1.2 mg/dL

2. Pengukuran Kadar Protein dalam Urin

Pengujian protein dalam urin (proteinuria) merupakan penilaian penting dalam pengujian fungsi ginjal, dimana semakin tingginya kadar protein dalam urin berkaitan dengan progresivitas gagal ginjal. Selain itu juga meningkatkan resiko kejadian kardiovaskular dan kematian pada populasi diabetes maupun tidak. Memonitoring kadar proteinuria juga penting dalam evaluasi respon terhadap pengobatan.

Proteinuria didefinisikan sebagai kondisi dimana kadar protein dalam urin lebih dari 150 mg per hari (30% albumin, 30% globulin, dan 40% protein Tamm Horsfall). Peningkatan kadar protein dalam urin dapat disebabkan adanya glomerulonefritis atau sindrom nefrotik, nefritis interstitial, dan myoglobinuria atau adanya inflamasi pada saluran kemih atau adanya tumor. Urin protein dapat diukur dalam 24 jam atau secara random dengan mengandalkan endapat yang terbentuk atau pengukuran kekeruhan dengan fotometer atau nephelometer. Selain itu, beberapa jenis dipstick dapat digunakan untuk mengukur kadar proteinuria secara semi kuantitatif.

Proteinuria dan albuminuria merupakan hal yang berbeda. Proteinuria mengindikasikan kadar protein dalam urin, sedangkan albuminuria hilangnya albumin dalam urin secara abnormal. Albumin adalah jenis protein plasma yang biasanya ditemukan dalam urin dalam jumlah yang sangat kecil. Albuminuria adalah temuan yang sangat umum (meskipun tidak universal) pada pasien CKD. Albuminuria menjadi adalah indikator awal penyakit glomerulus, seperti diabetik

glomerulosklerosis; dan biasanya hadir bahkan sebelum penurunan laju filtrasi glomerulus (GFR) atau peningkatan kreatinin serum.

Kondisi seseorang dikatakan mengalami albuminuria jika albumin yang terdapat di urin berkisar antara 30 hingga 300 mg per hari. Albuminuria digunakan sebagai marker untuk deteksi nefropati pada diabetes. Urin albumin dapat diukur dalam 24 jam pengambilan sampel atau urin pagi/ random. Albuminuria yang terjadi selama 3 bulan atau lebih diindikasikan terkena penyakit ginjal kronis. Metode pemeriksaan urin dipstik atau reagent stick telah tersedia untuk pemeriksaan yang spesifik terhadap albumin, yaitu 3'3'5'5' tetrachlorophenol - 3,4,5,6 tetrabromosulphophthalein (buffer) dengan protein akan membentuk senyawa berwarna hijau muda sampai hijau tua. Selain itu, metode dengan mengandalkan endapan yang terbentuk dan mengukur kekeruhan urin dengan fotometer atau nephelometer juga dapat dilakukan.

KDIGO (*Kidney Disease Improving Global Outcomes*) mengklasifikasikan 3 stadium dari albuminuria, yaitu:

- A1 : < 30 mg/g kreatinin
- A2 : 30 hingga 300 mg/g kreatinin
- A3 : > 30 mg/g kreatinin

3. Pengujian Fungsi Tubular

Uji fungsi tubular perlu diperhatikan dikarenakan tubular berfungsi dalam reabsorpsi elektrolit, air, mineral dan menjaga keseimbangan asam basa tubuh. Pengujian yang dilakukan adalah pengukuran elektrolit, natrium, kalium, klorida, magnesium, kalsium, fosfor, fosfat, glukosa, dan osmolalitas.

Pengukuran kadar kalsium dilakukan pada kalsium yang berada dalam sirkulasi. Pengujian ini dilakukan untuk mendeteksi gangguan pada kelenjar paratiroid dan ginjal, beberapa jenis kanker dan tulang, inflamasi pada pancreas (pancreatitis), dan batu ginjal. Nilai normal kalsium dalam darah adalah 8.5 hingga 10.2 mg/dl.

Pengukuran kadar fosfor dalam darah perlu dilakukan untuk menentukan ada atau tidaknya gangguan ginjal berat atau

gangguan pada regulasi kalsium. Kadar yang tinggi menggambarkan kondisi tersebut. Nilai normal fosfor dalam darah tidak tersedia.

Pengujian kadar elektrolit dan mineral dalam darah (serum) untuk memastikan bahwa ginjal berfungsi menjaga keseimbangan elektrolit dalam tubuh. Elektrolit secara aktif direabsorpsi atau diekskresikan untuk menjaga keseimbangan.

Elektrolit yang diukur adalah: kadar serum natrium/ Na (135 hingga 145 mmol/liter; serum kalium/ K (3.5 hingga 5 mmol/liter; dan serum klorida/ Cl (95 hingga 105 mmol/liter). Metode yang digunakan dalam menganalisis kadar elektrolit adalah metode elektroda ion selektif (*Ion selective Electrode/ ISE*). Selain itu, untuk analisis kadar mineral dapat menggunakan metode spektrofotometri serapan atom (*Atomic absorption spectroscopy/ AAS*).

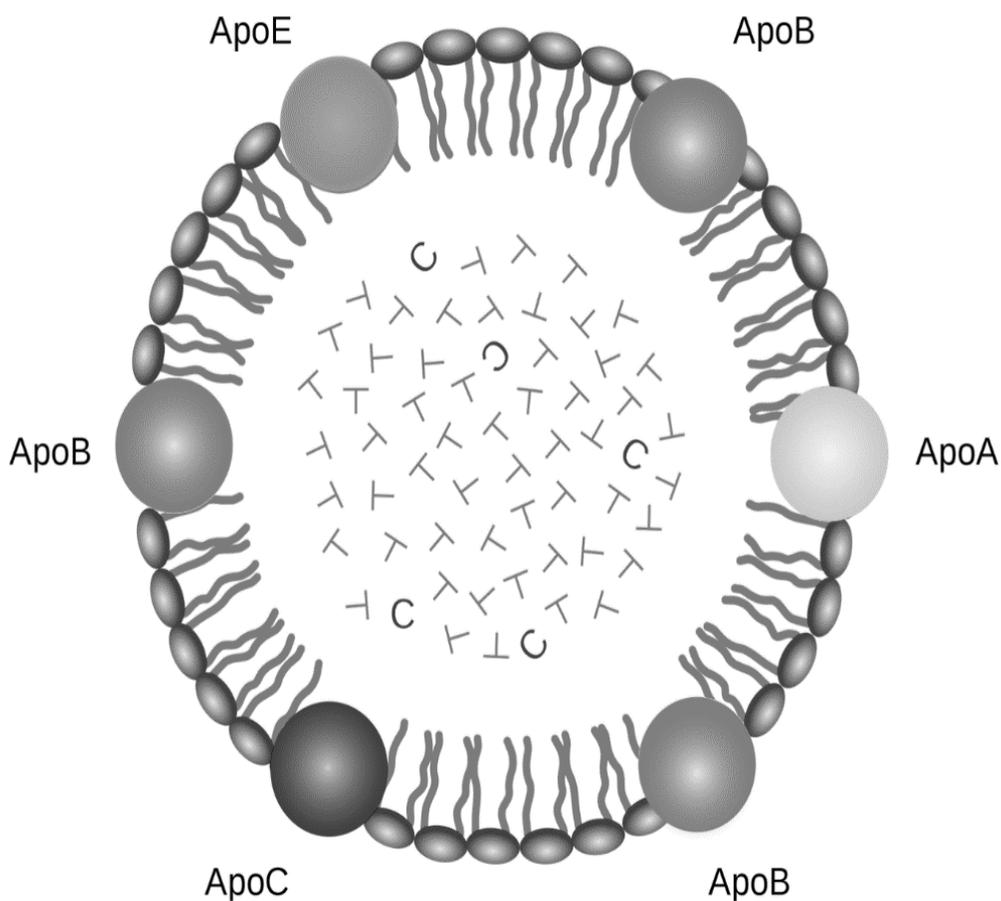
PUSTAKA:

- Ahmed N. Clinical Biochemistry. Oxford Univeristy Press. New York. 2011
- Bjornstad P, Karger AB, Maahs DM. Measured GFR in Routine Clinical Practice – The Promise of Dried Blood Spots. *Adv Chronic Kidney Dis.* 2018; 25(1):76-83
- Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE, Sawyer BG. TIETZ Fundamental of Clinical Chemistry, sixth edition. Elsevier Inc. Philadelphia. 2008
- Dipiro JT, Talbert RL, Yee GC, Matzke GR, Wells BG, Posey LM. Pharmacotherapy A Pathophysiologic Approach 7th edition. McGraw-Hill Companies, Inc. New York. 2008
- Gounden V, Jialal I in StatPearls [internet]. Renal Functiion Test. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2019 Jan-.
- McIntyre NJ, Taal MW. How to measure proteinuria?. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension.* 2008; 17(6), 600–603.
- Roberta Reed. Clinical Chemistry Learning Guide Series. Abbot Laboratpries. USA. 2017
- Smith, CA. Proteinuria and Albuminuria: What’s the Difference?. *Clinical Reviews.* 2019; 29(10):8e-9e
- Verdiansyah. Pemeriksaan Fungsi Ginjal. *CDK-237.* 2016; 43(2):148-154

BAB VII

PEMERIKSAAN

LIPID DAN LIPOPROTEIN

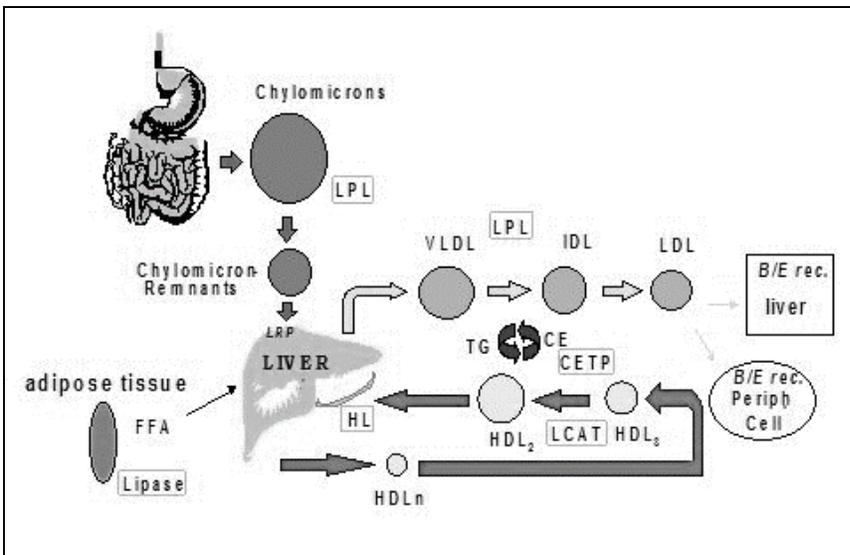


BAB VII

PEMERIKSAAN LIPID DAN LIPOPROTEIN

A. Pendahuluan

Lipid seperti kolesterol dan trigliserida merupakan molekul tidak larut dalam air, sehingga lipid harus diangkut oleh protein di dalam sirkulasi. Protein ini disebut dengan lipoprotein. Lipid diproduksi di hati dan juga didapatkan dari makanan seperti daging dan produk susu.



Gambar 10. Jalur Metabolisme lipoprotein VLDL, LDL, dan HDL

Profil lipid dan lipoprotein secara umum digunakan sebagai evaluasi rutin dimana tingginya kadar kolesterol dalam darah (hiperkolesterolemia) dan tingginya kadar trigliserida dalam darah (hipertrigliserida) berhubungan dengan peningkatan resiko penyakit kardiovaskular.

B. Pemeriksaan Lipid dan Lipoprotein

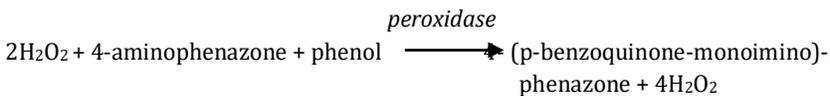
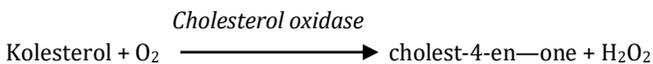
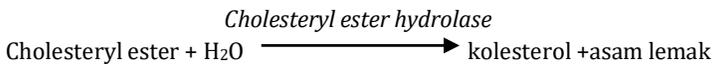
1. Kolesterol Total

Kolesterol total merupakan lipid steroid penting dimana kolesterol total diproduksi di hati dan digunakan dalam produksi hormone steroid dan dinding sel. Kolesterol tinggi berimplikasi dengan faktor resiko penyakit arteri koroner. Kondisi yang dapat meningkatkan kadar kolesterol total adalah hipotiroid, diabetes yang tidak terkontrol, dan penyakit ginjal. Selain itu, kadar kolesterol total dapat menurun jika terdapat kondisi penyakit hati, kelaparan, ataupun anemia.

Total kolesterol yang bersirkulasi dalam darah berupa 3 fraksi utama yaitu VLDL (*very low density lipoprotein*), LDL, dan HDL.

$$[\text{total cholesterol}] = \text{VLDL} + \text{LDL} + \text{HDL}$$

Kolesterol diukur secara enzimatis dalam serum atau plasma dengan menghidrolisis cholesteryl ester dan mengoksidasi grup 3-OH kolesterol. Salah satu hasil produk reaksi yaitu H_2O_2 , secara kuantitatif diukur dalam suatu reaksi yang dikatalisis oleh peroksidase menghasilkan warna. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 500 nm. Intenstitas warna yang dihasilkan sebanding dengan konsentrasi kolesterol. Reaksi tersebut adalah:

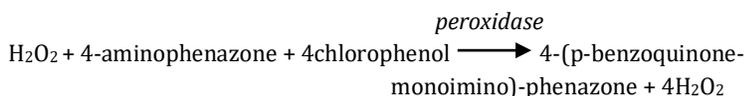
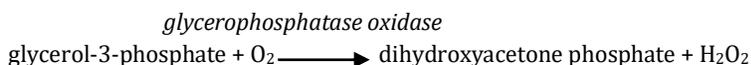
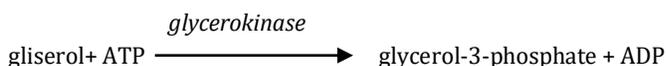
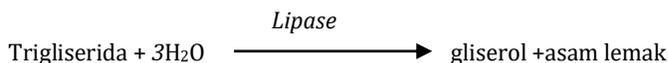


2. Trigliserida (Tg)

Trigliserida merupakan bentuk kimia dari asam lemak ketika diangkut oleh lipoprotein dan disimpan di jaringan adipose. Tg juga menjadi bagian dari parameter untuk mengetahui resiko kardiovaskular. Kadar Tg dalam darah

meningkat pada kondisi hipotiroid, pecandu alkohol, penyakit hati, dan diabetes yang tidak terkontrol.

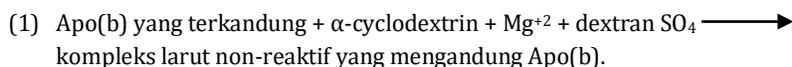
Trigliserida diukur secara enzimatis dalam serum atau plasma dalam rangkaian reaksi dimana trigliserida dihidrolisis menghasilkan gliserol. Gliserol dioksidasi menggunakan glycerol oxidase dan menghasilkan H₂O₂. H₂O₂ yang dihasilkan diukur dengan metode yang sama dengan pengukuran kolesterol total. Reaksi tersebut adalah:



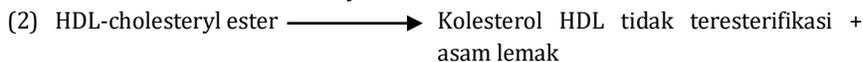
3. HDL-C (*High Density Lipoprotein-associated cholesterol*)

HDL merupakan lipoprotein yang membawa kelebihan kolesterol dari pembuluh darah untuk dibawa kembali ke hati untuk diekskresikan. HDL menjadi parameter untuk mengetahui resiko kardiovaskular. Peningkatan kadar HDL dapat disebabkan oleh terapi estrogen ataupun konsumsi alkohol, sedangkan penurunan kadar HDL disebabkan oleh merokok.

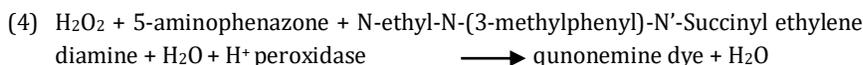
Pengukuran kadar HDL dapat dilakukan dengan metode *direct* HDL. Metode ini dilakukan dengan mengukur kadar HDL langsung dalam serum. metode ini dilakukan dengan mengekskludkan Apo(b) yang terkandung dalam serum. absorbansi dibaca pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 nm. Metode tersebut adalah sebagai berikut.



PEG-cholesteryl esterase



PEG-cholesterol oxidase



4. LDL-C (*Low Density Lipoprotein-associated cholesterol*)

LDL merupakan lipoprotein yang membawa kolesterol dari hati menuju jaringan perifer, yang dalam jumlah tinggi dapat berkontribusi dalam pembentukan plak yang dapat menyumbat arteri sehingga dapat menyebabkan penyakit jantung koroner. Sama dengan HDL, LDL juga menjadi parameter dalam mengetahui resiko kardiovaskular. Peningkatan kadar LDL disebabkan karena konsumsi makanan tinggi lemak jenuh atau memiliki kondisi gangguan metabolisme kolesterol, selain itu kadar LDL dapat turun jika mengkonsumsi makanan tinggi serat atau menggunakan agen-agen penurun kadar LDL. Pengukuran kadar LDL dilakukan melalui perhitungan nilai total kolesterol, trigliserida, dan HDL.

$$\text{LDL} = \text{total kolesterol} - \text{HDL koletserol} - [\text{TG}/5]$$

5. VLDL-C (*Very Low Density Lipoprptein Associated Cholesterol*)

VLDL merupakan lipoprotein kaya trigliserida yang disekresikan oleh hati dan merupakan precursor dari LDL. VLDL juga menjadi bagian dari parameter untuk mengetahui resiko kardiovaskular. Konsumsi makanan tinggi lemak jenuh atau mengalami gangguan metabolisme kolesterol merupakan penyebab tingginya kadar VLDL. Di lain sisi, konsumsi makanan tinggi serat dapat menurunkan kadar VLDL dalam darah.

6. Lipoprotein(a) (Lp(a))

Lipoprotein(a) merupakan bentuk bagian dari LDL yang memiliki tambahan rantai protein Apolipoprotein A (apo(a)). Tingginya kadar Lp(a) berhubungan dengan tingginya resiko

penyakit kardiovaskular. Tingginya kadar Lp(a) dipengaruhi oleh faktor genetik dan tidak dipengaruhi oleh faktor lingkungan.

Pengukuran kadar Lp(a) dilakukan dengan *immunoassay* yang mengenali protein pada Lp(a) yang termasuk *enzyme-linked-immunoabsorbant* (ELISA), *immunoturbidometric* dan *immunonephelometric* yang menggunakan antibodi spesifik apo(a).

7. Apolipoprotein A

Apolipoprotein A (Apo(a)) merupakan protein yang dibawa oleh HDL. Konsumsi alkohol atau terapi estrogen dapat meningkatkan kadar apo(a), sedangkan merokok dapat menurunkan kadarnya. Pengukuran kadar Apo(a) dilakukan dengan *immunonephelometric* yang menggunakan antibodi spesifik apo(a).

8. Apolipoprotein B

Apolipoprotein B (Apo(B)) merupakan protein yang terikat pada LDL dan VLDL. Sama dengan LDL dan VLDL, tingginya kadar ApoB disebabkan oleh tingginya asupan makanan tinggi lemak jenuh atau adanya gangguan pada metabolisme kolesterol. Sedangkan kadar apo(b) dapat mengalami penurunan jika mengkonsumsi makanan tinggi serat atau dalam kondisi terapi obat.

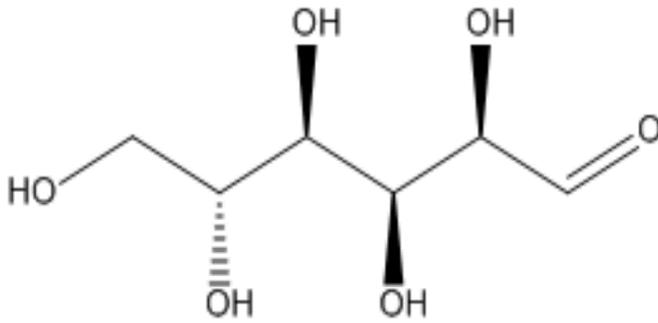
Pengukuran kadar Apo(b) dilakukan dengan menggunakan *immunonephelometric* yang menggunakan antibodi spesifik apo(b).

Tabel 17. Kadar Normal Lipid dan Lipoprotein

Lipid dan Lipoprotein	Kadar Normal
Kolesterol total	<200 mg/dL atau 5.18 mmol/L
Trigliserida (Tg)	<250 mg/dL atau 2.83 mmol/L
HDL-C	Pria: >37 mg/dL atau >0.96 mmol/L wanita: >40 mg/dL atau >1.04 mmol/L
LDL-C	<130 mg/dL atau <3.37 mmol/L
VLDL-C	<30 mg/dL atau 0.77 mmol/L
Lipoprotein(a)/ Lp(a)	<30 mg/dL atau 1.07 umol/L (28 hingga 53% dari total lipoprotein)
Apolipoprotein A	Pria: 94-178 mg/dL atau 0.94-1.78 g/L Wanita: 101-199 mg/dl atau 1.01-1.99 g/L
Apolipoprotein B	Pria: 63.133 mg/dL atau 0.63-133 g/L Wanita: 60-126 mg/dL atau 0.60-1.26 g/L.

PUSTAKA:

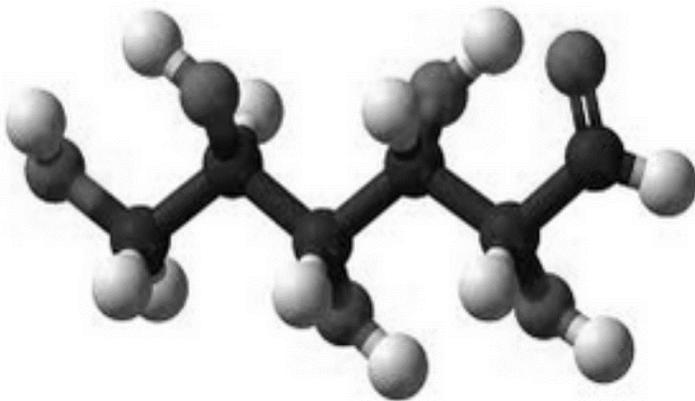
- Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE, Sawyer BG. TIETZ Fundamental of Clinical Chemistry, sixth edition. Elsevier Inc. Philadelphia. 2008
- Dipiro JT, Talbert RL, Yee GC, Matzke GR, Wells BG, Posey LM. Pharmacotherapy A Pathophysiologic Approach 7th edition. McGraw-Hill Companies, Inc. New York. 2008
- Hafiane A, Genest J. High Density Lipoproteins: Measurement Techniques and Potential Biomarkers of Cardiovascular Risk. BBA Clinical. 2015;3:175-188
- NHANES 2003-2004. Total Cholesterol, Direct HDL, Precipitated HDL, Triglycerides, and LDL. Tersedia pada [URL]: https://www.cdc.gov/nchs/data/nhanes/nhanes_03_04/113_c_met_lipids.pdf, diakses pada: 25 Desember 2019
- Roberta Reed. Clinical Chemistry Learning Guide Series. Abbot Laboratpries. USA. 2017
- Stone NJ. Advances in Lipid Testing: A Practical Step Forward. Clinical Chemistry. 2016; 62(7): 905-906



BAB VIII

PEMERIKSAAN

KADAR GLUKOSA DARAH



BAB VIII

PEMERIKSAAN KADAR GLUKOSA DARAH

A. Pendahuluan

Glukosa merupakan sumber utama penghasil energi yang digunakan oleh jaringan. Pengaturan penggunaan glukosa ini sebagai energi diatur oleh hormon, seperti insulin, kortisol, dan glukagon. Kebanyakan jaringan dan organ, terutama otak, membutuhkan glukosa secara konstan sebagai sumber energi.

Glukosa didapatkan dari makanan, dimana diangkut melalui dinding sel menuju sel hati atau jaringan lain, lalu diubah menjadi asam lemak, asam amino, dan glikogen, atau dioksidasi dalam berbagai jalur katabolik sel.

Diabetes mellitus (DM) merupakan manifestasi klinik dari gangguan metabolik yang ditandai dengan tingginya kadar glukosa darah (hiperglikemia) yang berhubungan dengan abnormalitas pada metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein. DM dapat menyebabkan komplikasi kronis termasuk gangguan mikrovaskular, makrovaskular, dan neuropati. DM terbagi menjadi:

- DM Tipe 1, yaitu DM yang terjadi pada masa kanak-kanak atau dewasa awal. Hal ini berhubungan dengan gangguan autoimun yang menyerang sel beta (β) pancreas.
- DM Tipe 2, yaitu DM yang diakibatkan oleh resistensi insulin dan sekresi insulin yang rendah.
- DM gestasional, yaitu intoleransi glukosa pada kehamilan.
- MODY (*Maturity-onset diabetes of youth*), yaitu terganggunya sekresi insulin dengan adanya resistensi insulin minimal atau tanpa resistensi pada usia muda.

Hipoglikemia merupakan abnormalitas dimana terjadinya kadar glukosa mengalami penurunan dibawa kadar normal. Hal ini dapat mengganggu sistem fungsi organ. Gejala terjadinya

hipoglikemia adalah merasa lemah, pusing, bingung, lapar. Selain itu, pusing, sakit kepala, gemetar, keringat, peningkatan debaran jantung, dan demam.

B. Pemeriksaan Glukosa Darah

Dalam melakukan pemeriksaan uji diabetes, terdapat 4 pemeriksaan yang dilakukan untuk dapat menegakkan diagnosis berdasarkan American Diabetes Association yaitu glukosa puasa, Tes toleransi glukosa oral (OGTT), glukosa sewaktu, dan uji HbA1C. Tujuan dilakukannya pengukuran ini adalah:

- Pengukuran glukosa puasa dilakukan untuk mengukur konsentrasi glukosa tanpa asupan makanan dan minuman selama 12 jam kecuali air putih.
- OGTT dilakukan untuk mengukur perubahan kadar glukosa darah setelah sejumlah glukosa diberikan
- Glukosa sewaktu dilakukan untuk memastikan apakah kadar gula darah tinggi atau tidak tanpa memperhatikan ada atau tidaknya asupan makanan atau minuman.
- HbA1C tidak mengukur kadar glukosa darah secara langsung, namun HbA1C mengukur kadar rata-rata glukosa 2-3 bulan sebelumnya.

1. Glukosa

Glukosa diukur untuk menguji status diabetes pasien artinya kadar glukosa darah yang tinggi menggambarkan defisiensi insulin atau resistensi insulin.

Kadar glukosa dapat meningkat pada kondisi diabetes, penyakit *Cushing*, atau dapat disebabkan oleh stress dan kadar glukosa dapat berada di bawah batas normal jika mengalami kelaparan, produksi hormon insulin berlebih, dan insufisiensi adrenal.

Pengukuran kadar glukosa dilakukan dengan berbagai macam metode enzimatik. Metode hexokinase/ glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) merupakan metode yang dikembangkan oleh American Association for Clinical Chemistry yang telah diterima sebagai metode standar penentuan kadar glukosa. Selain itu metode reduksi tembaga, metode o-toluidine,

uji glukosa oksidase, dan uji glukosa oksidase dan peroksidase (GOD-POD).

Pengukuran kadar glukosa dengan metode G6PD dilakukan dengan kandungan glukosa akan dikatalisis untuk fosforilasi oleh enzim hexokinase menjadi glucose-6-phosphate. Kecepatan pembentukan NADPH selama proses reaksi berbanding lurus dengan konsentrasi glukosa.

2. HbA1C

HbA1C merupakan molekul glukosa yang terikat secara kovalen dengan hemoglobin. Pengukuran kadar HbA1C dilakukan untuk mengukur kadar glukosa darah rata-rata 2- 3 bulan sesuai dengan waktu hidup eritrosit. Kadar HbA1C yang berada di atas 6.5% merefleksikan kadar glukosa yang tinggi dalam darah selama rata-rata 3 bulan, sehingga HbA1C menjadi marker dalam penegakkan diagnosis diabetes mellitus.

Pengukuran kadar HbA1C dapat dilakukan dengan cara: immunoassay, HPLC (*High Performance Liquid Chromatography/* kromatografi cair kinerja tinggi), dan uji enzimatik. Immunoassay bekerja dengan menggunakan antibodi spesifik yang mengenali struktur N-terminal glycated amino acid dari rantai Hb β ; HPLC bekerja dengan memisahkan HbA1C dengan hemoglobin lainnya; dan metode enzimatik demngukur HbA1C dengan menggunakan enzim yang secara spesifik memecah N-terminal valine HbA1C.

Tabel 18. Kadar Glukosa terhadap kondisi pasien

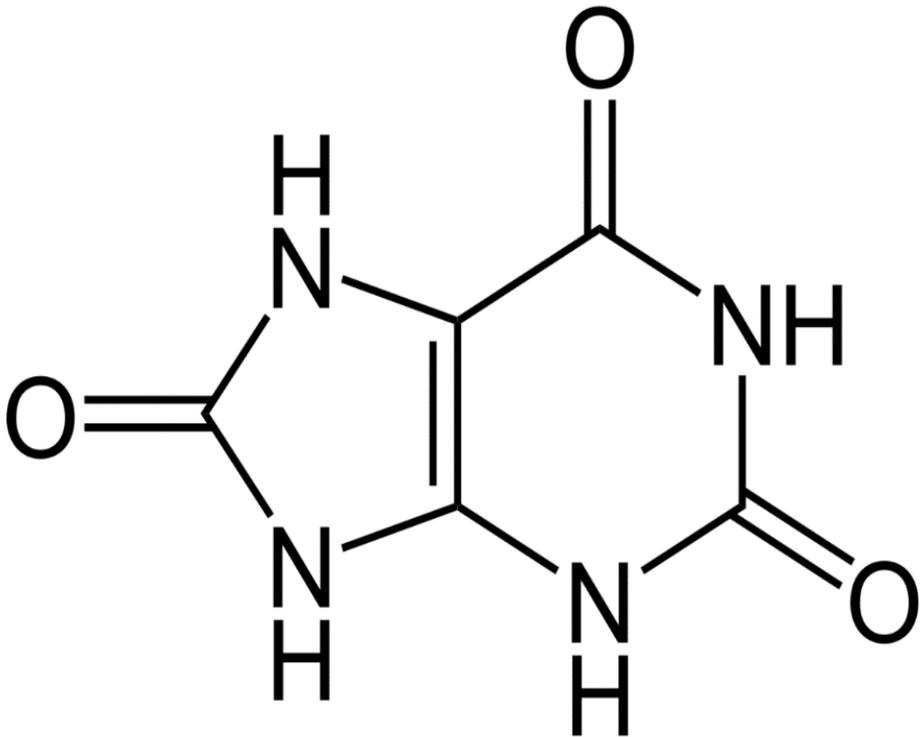
	Hasil	Kadar Glukosa
Glukosa puasa	Normal	<100 mg/dL
	Pre-diabetes	100 -125 mg/dL
	Diabetes	>126 mg/dL
Tes toleransi glukosa oral (oral glucose tolerance test/ OGTT)	Normal	< 140 mg/dL
	Pre-diabetes	140-199 mg/dL
	Diabetes	\geq 200 mg/dL
Glukosa sewaktu	Normal	80-140 mg/dL
	Pre-diabetes	140-200 mg/dL
	Diabetes	\geq 200 mg/dL
HbA1C	Normal	<5.7%
	Pre-diabetes	5,7% - 6.4%
	Diabetes	>6.5%

PUSTAKA:

- Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE, Sawyer BG. Tietz Fundamental of Clinical Chemistry, sixth edition. Elsevier Inc. Philadelphia. 2008
- Dipiro JT, Talbert RL, Yee GC, Matzke GR, Wells BG, Posey LM. Pharmacotherapy A Pathophysiologic Approach 7th edition. McGraw-Hill Companies, Inc. New York. 2008
- Juarez DT, Demaris KM, Goo R, Mbatzaganian CL, Smith HW. Significance Of Hb_{a1c} and Its Measurement in the Diagnosis Of Diabetes Mellitus: Us Experience. Diabetes Metab Syndr Obes. 2014; 7: 487-494.
- Little RR, Roberts WL. A Review of Variant Hemoglobins Interfering with Hemoglobin A1C Measurement. J Diabetes Sci Technol. 2009; 3(3):44-451
- Makaroff LE, Cavan D. Which biochemical assay is best for measuring diabetes prevalence? The Lancet. 2015; 3(8): 582-583
- NHANES 2013-2014. Fasting Glucose in Plasma. Tersedia pada [URL]: https://www.cdc.gov/Nchs/Data/Nhanes/Nhanes_13_14/GLU_H_MET_Fasting_Glucose.pdf, diakses pada: 25 Desember 2019
- Roberta Reed. Clinical Chemistry Learning Guide Series. Abbot Laboratories. USA. 2017
- Sacks DB, Arnold M, Bakris GL, Bruns DE, Horvath AR, Kirkman MS, Lernmark A, Metzger BE, Nathan DM. Guidelines and Recommendations for Laboratory Analysis in the Diagnosis and Management of Diabetes Mellitus. Diabetes Care. 2011; 34(6): e61-e99.

BAB IX

PEMERIKSAAN ASAM URAT



BAB IX

PEMERIKSAAN ASAM URAT

A. Pendahuluan

Asam urat merupakan produk sisa dari pemecahan purin, termasuk komponen dari DNA, yang diekskresikan oleh ginjal. Purin ini dapat berupa purin endogen yaitu seperti adanya kerusakan sel atau jaringan; dan purin eksogen yaitu berasal dari pola makan.

Tabel 19. Penyebab Utama Tingginya Kadar Asam Urat

Asam Urat	Primer	Sekunder
Overproduksi asam urat	<ul style="list-style-type: none">• Defisiensi HGPRT (Hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase) atau APRT (adenine phosphoribosyl transferase)• Idiopatik	<ul style="list-style-type: none">• Nutrisi• Kelebihan asupan• Metabolic• Peningkatan metabolisme ATP• Obat-obatan sitotoksik• Obat-obatan• Alkohol• Hematological• Penyakit myeloproliferatif• Polisitemia
Menurunnya ekskresi asam urat	<ul style="list-style-type: none">• Idiopatik	<ul style="list-style-type: none">• Penyakit ginjal• Gagal ginjal kronis• Hipertensi• Obat-obatan (diuretic tiazid dan salisilat)• metabolik

Kadar asam urat yang tinggi (hiperuricemia) dapat menyebabkan penumpukan Kristal urat pada persendian (gout) atau ginjal (batu ginjal).

Tabel 20. Kadar Normal Asam Urat

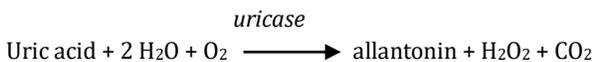
Asam Urat	Kadar Normal
Pria	3.5-7.2 mg/dL atau 0.21-0.42 mmol/L,
Wanita	2.6-6.0 mg/dL atau 0.15-0.35 mmol/L.

B. Pemeriksaan Asam Urat

Pemeriksaan asam urat perlu dilakukan untuk mengevaluasi inflamasi yang terjadi pada persendian akibat gout atau untuk memonitori pembentukan asam urat pada pasien yang melakukan kemoterapi atau terapi radiasi. Tingginya kadar asam urat terjadi pada kondisi gout, penyakit ginjal, ataupun leukemia.

Metode yang dapat dilakukan untuk mengukur kadar asam urat adalah dengan metode kalorimetrik dan metode enzimatik. Metode kalorimetrik dilakukan dengan pengurangan kromogen seperti natrium tungstat oleh asam urat akan menghasilkan warna yang dapat diukur pada pajang gelombang 650-700 nm.

Metode enzimatik dilakukan dengan mengoksidasi dengan agen pengoksidase spesifik yaitu uricase. Reaksi tersebut adalah:



Konsentrasi asam urat dibaca dengan menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 293 nm.



Gambar 11. Bentuk Kristal monosodium urat

Pengukuran Kristal urat (Kristal monosodium urate) dalam cairan synovial dilakukan dengan mikroskop dengan mengidentifikasi bentuk Kristal dari Kristal urat yang berbentuk seperti jarum.

PUSTAKA:

- Association for Clinical Biochemistry. Urate (Serum, Plasma). Tersedia pada:
<http://www.acb.org.uk/Nat%20Lab%20Med%20Hbk/Uric%20acid.pdf>; diakses 29 Desember 2019
- Barr WG. Chapter 165 Uric Acid In Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations. 3rd edition. Walker HK, Hall WD, Hurst JW, editors. Boston: Butterworths; 1990.
- Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE, Sawyer BG. Tietz Fundamental of Clinical Chemistry, sixth edition. Elsevier Inc. Philadelphia. 2008
- Dipiro JT, Talbert RL, Yee GC, Matzke GR, Wells BG, Posey LM. Pharmacotherapy A Pathophysiologic Approach 7th edition. McGraw-Hill Companies, Inc. New York. 2008
- Roberta Reed. Clinical Chemistry Learning Guide Series. Abbot Laboratpries. USA. 2017



BAB X
PENGUJIAN DIAGNOSTIK
MOLEKULER



BAB X

PENGUJIAN DIAGNOSTIK MOLEKULER

A. Pendahuluan

Istilah “diagnostik molekuler” mengacu pada tes laboratorium yang digunakan untuk mengidentifikasi penyakit, atau kecenderungan terhadap suatu penyakit, dengan menganalisis DNA- (asam deoksiribonukleat) atau RNA (asam ribonukleat) atau proteinnya, pada manusia atau, pada kasus infeksi, pada mikroba. Ruang Lingkupnya meliputi alat uji klinis dan reagensinya yang digunakan di rumah sakit, klinik, laboratorium laboratorium rujukan, lembaga penelitian dengan tujuan untuk mendeteksi sel dan protein dalam rangka diagnosis dan pemantauan penyakit. Teknologi diagnostik molekuler telah dan akan terus memainkan peran penting dalam praktik kedokteran, kesehatan masyarakat, industri farmasi, forensik dan biologi. Beberapa teknologi ini termasuk amplifikasi asam nukleat seperti reaksi polimerase berantai (PCR), hibridisasi fluoresen in situ (FISH), asam nukleat peptide (PNA), deteksi elektrokimia DNA, biochip, nanoteknologi dan teknologi proteomik. Kebanyakan penerapan diagnostik molekuler untuk infeksi, gangguan genetik, skrining pra-implantasi dan kanker.

B. Pengujian Diagnostik Molekuler

1. Pengujian Molekuler Penyakit Infeksi
Pengujian melibatkan desain DNA probe yang diarahkan melawan urutan spesifik virus, bakteri, atau parasit.
2. Pengujian Molekuler Penyakit Kanker

Pengujian molekuler ini didasarkan pada penanda kanker secara individu dan melibatkan pendeteksian segala gangguan atau perubahan baik urutan DNA maupun ekspresi gen yang dapat ditemukan di tumor dan tempat lain di tubuh.

3. Pengujian Molekuler Penyakit Turunan

Pengujian molekuler ini didasarkan penyakit bawaan (Penyakit genetik) di mana hasil uji dapat menemukan mutasi di tubuh yang diwarisi dari orang tua (induk).

4. Identifikasi DNA – Fingerprint

Pengujian ini berdasar pada variasi benign pada urutan DNA yang ada antara orang dalam suatu populasi seperti, pengujian forensic untuk mengatasi kejahatan, pengujian paternitas, memonitor transplantasi sumsum tulang karena dapat digunakan untuk membedakan donor dari sel penerima.

5. Pengujian Tipe Jaringan (Human Leukocyte Antigen)

Tes darah yang mengukur zat yang disebut antigen pada permukaan sel dan jaringan tubuh. Dengan memeriksa antigen dapat mengetahui apakah jaringan donor aman (kompatibel) untuk

transplantasi ke orang lain. Dalam beberapa kasus, tes tipe jaringan dapat dilakukan untuk melihat apakah seseorang memiliki peluang untuk mengembangkan penyakit tertentu yang dapat menyebabkan tubuh menyerang selnya sendiri, seperti penyakit autoimun

6. Pengujian Farmakogenetik

Pengujian ini akan berguna sebelum memulai terapi untuk memilih terapi yang terbaik atau paling tepat untuk pasien. Dikenal dengan istilah personalized medicine.

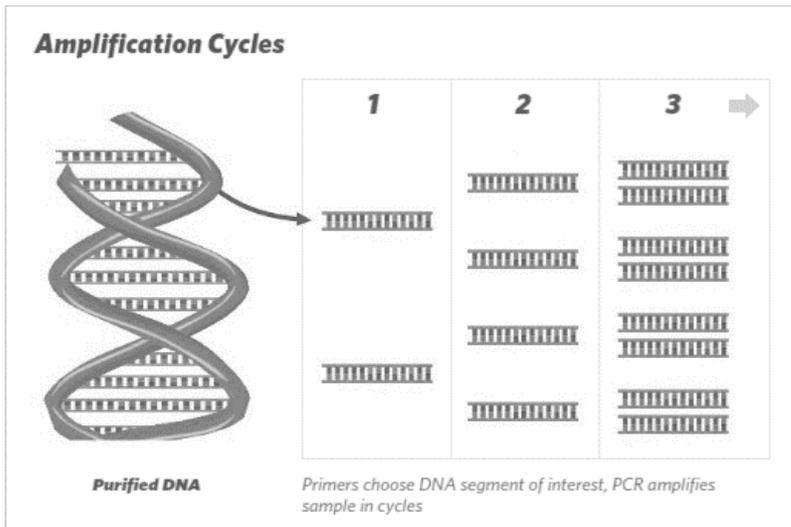
7. Deteksi DNA Sekuens menggunakan Polymerase Chain Reaction (PCR)

C. Metode Pengujian Diagnostik Molekuler

Salah satu metode penting yang mendasari beberapa pengujian diagnostik molekuler adalah amplifikasi, proses amplifikasi merupakan proses membuat salinan dari urutan DNA atau RNA tertentu yang spesifik ditemukan dalam sampel (misalnya

darah atau tumor) selanjutnya akan banyak salinan sehingga dapat dideteksi dan diukur.

Polymerase Chain Reaction (PCR) merupakan pengujian yang paling banyak digunakan dalam diagnostik molekuler. PCR adalah alat yang ampuh untuk menemukan segmen pendek dari gen di mana diketahui mutasi atau varian kritis dapat menyebabkan perubahan fungsi sel yang terkait dengan penyakit atau perubahan fungsi. Pengujian menggunakan PCR untuk mengetahui adanya sebagian dna yang memiliki urutan basa yang diketahui, menggunakan proses enzimatik yang sama yang digunakan oleh replikasi DNA alami untuk dengan cepat memperkuat, atau menyalin urutan ibasa tersebut sampai ribuan atau jutaan salinan. Karena PCR bergantung pada amplifikasi, berarti sangat sensitive sehingga dapat mendeteksi spesifikasi segmen DNA tertentu yang mungkin ada di level yang sangat rendah dalam sampel.



Gambar 12. PCR untuk amplifikasi DNA dengan pengulangan siklus

Seiring waktu, penggunaan PCR berevolusi dari diagnostik untuk mutasi gen tunggal, ke amplifikasi berbasis pengujian viral load HiV, untuk pengujian multipleks (pengujian untuk beberapa urutan sekaligus), hingga pengujian pengujian penyakit menular. Sebagian besar tes PCR menggunakan reaksi bahan kimia yang bergantung pada siklus suhu yang cepat berubah untuk menghasilkan untai

baru DNA. Pertama, DNA harus diekstraksi dan dimurnikan dari sampel manusia (mis. darah, jaringan, air liur, dll). Hal ini dilakukan dengan menggunakan berbagai metode ilmiah tergantung pada jenis sampel. Misalnya, mengekstrak DNA dari darah, darah dipisahkan untuk mengisolasi sel dari cairan di sekitarnya, disuspensikan dalam larutan untuk menstabilkan sel-sel dan sel-sel kemudian dipecah terbuka dengan penambahan deterjen. Bahan kimia tambahan ditambahkan untuk menghilangkan protein dan untuk menjaga agar DNA tidak pecah. Akhirnya, DNA dipisahkan dari semua produk lain dalam serangkaian langkah pemisahan. Beberapa perusahaan telah mengembangkan kit yang mudah digunakan untuk pemurnian DNA yang menggabungkan beberapa tahapan.

D. Istilah Terkait Diagnostik Molekuler

1. *Allele* adalah salah satu dari dua atau lebih bentuk urutan DNA gen tertentu. Perbedaan urutan DNA dapat menghasilkan sifat yang berbeda, seperti warna kulit, rambut atau mata. Jika kedua alel adalah sama, orang tersebut disebut homozigot. Jika alel berbeda, orang itu heterozigot.
2. Amplifikasi adalah suatu proses di mana PCR diulang untuk sejumlah siklus atau suhu yang berubah dengan cepat dengan maksud meningkatkan jumlah salinan wilayah target spesifik gen secara eksponensial.
3. *Biomarker* adalah zat biologis yang merupakan tanda dari proses normal atau abnormal, atau suatu kondisi atau penyakit. Suatu biomarker digunakan untuk menentukan bagaimana pasien merespon pengobatan.
4. Diagnostik adalah penggunaan tes klinis untuk menginformasikan keputusan klinis yang telah dibuat. Mencakup kedua tes yang dilakukan pada spesimen dari tubuh (mis., diagnostik *in vitro*) dan tes pencitraan (mis., diagnostik *in vivo*), untuk tujuan prediksi penyakit, skrining, diagnosis, pemilihan pengobatan, prognosis dan pemantauan.
5. DNA adalah singkatan dari deoxyribonucleic acid, merupakan kode yang digunakan dalam sel untuk membentuk protein. Dalam sel, DNA biasanya merupakan dua rantai panjang yang saling

terkait menjadi heliks ganda dan bergabung melalui ikatan hydrogen antara basa adenine, timin atau sitosin dan guanin. Rantai ini tersusun atas nukleotida (kombinasi salah satunya dari urutan asam nukleat dari nukleotida di DNA yang menentukan karakteristik hereditas individu)

6. Gen adalah suatu unit bawaan yang terdiri dari urutan DNA yang menempati lokasi tertentu pada kromosom dan menentukan karakteristik tertentu dalam suatu organisme. Gen mengalami mutasi ketika urutan DNA berubah selama pembelahan sel.
7. *In Vitro Diagnostic (IVD)* adalah reagen diagnostic, instrumen, dan sistem yang dimaksudkan untuk digunakan dalam diagnosis penyakit atau kondisi lain, termasuk penentuan kondisi kesehatan, untuk menyembuhkan, mengurangi, mengobati, atau mencegah penyakit atau gejala sisa. Produk tersebut dimaksudkan untuk digunakan saat pengumpulan, persiapan, dan pemeriksaan spesimen yang diambil dari tubuh manusia.
8. Mutasi adalah perubahan dalam urutan genomik: urutan DNA dari genom sel atau urutan DNA atau RNA sebuah virus. Mutasi disebabkan oleh radiasi, virus dan bahan kimia mutagenik, serta kesalahan yang terjadi selama replikasi DNA. Mutasi dapat mengakibatkan beberapa jenis perubahan dalam urutan DNA.
9. Asam Nukleat merupakan salah satu dari berbagai asam organik kompleks (mis., DNA atau RNA) yang tersusun dari rantai nukleotida.
10. RNA adalah akronim untuk asam ribonukleat. RNA adalah rantai unit fosfat dan ribosa bolak-balik dengan basa adenin, guanin, sitosin, dan urasil terikat pada ribosa. Molekul RNA biasanya merupakan untai tunggal dan terlibat dalam sintesis protein.
11. *Sequencing* adalah teknik yang digunakan untuk memetakan urutan nukleotida yang terdiri dari untai DNA.
12. *Thermocycler* adalah instrumen laboratorium yang digunakan untuk amplifikasi segmen DNA menggunakan PCR. Instrumen memiliki blok termal yang memegang peranan dalam amplifikasi untuk setiap reaksi. *Thermocycler* menaikkan dan menurunkan suhu pada tahapan yang diprogram untuk melakukan reaksi.

PUSTAKA:

- Anonim, Introduction to Molecular Diagnostics AdvaMedDx and DxInsight, 2013 : 1-15
- Debnath Mousumi, Prasad GBKS, Bisen PS. Molecular Diagnostics: Promises and Possibilities Translational Research. *Clin Chem* 55:601.
- Dennis, Lo, Y.M., Wittwer, C.T., 2009, Molecular Diagnostics: At the Cutting Edge of Dordrech Heidelberg, London, Springer, 2010 pp 1-10.
- Lisa F. P. Ng and Raymond Lin Tzer Pin, Asia Pacific Biotech News. 2007; 11(21) :1399-1403

TENTANG PENULIS



Dr.rer.nat. Adryan Fristiohady, S.Farm., M.Sc.,Apt.

Lahir di Kendari, 30 Desember 1984. Gelar kesarjanaannya didapatkan di Fakultas Farmasi Universitas Muslim Indonesia Makassar pada tahun 2007. Melanjutkan program Double Degree di Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Gelar Apoteker diraih di UGM pada tahun 2008 dan pada tahun yang sama menyelesaikan program S-2 dan mendapatkan gelar *Master of Science* dibidang Manajemen Farmasi. Penulis saat ini adalah staf pengajar dengan tugas tambahan sebagai Ketua Senat Akademik Fakultas Farmasi Universitas Halu Oleo dan Ketua Ikatan Apoteker Indonesia Pengurus Cabang Kota Kendari masa bakti 2018-2022

Pada tahun 2018, penulis meraih gelar Doktor der Naturwissenschaften (Dr.rer.nat.) dibidang Farmasi Klinik dan Diagnostik dari Wien Universitaet, Vienna – Republik Austria. Selama studi di Wina, Austria, penulis ditempatkan selama 2 tahun sebagai tim riset di Allgemeines Krankenhaus der Stadt Wien atau *Vienna General Hospital* dan melakukan penelitian dibidang Diagnostik Molekuler Metastasis Kanker Payudara pada *Institute of Clinical Pathology, Medical University of Vienna*.

TENTANG PENULIS



Dr. Ruslin, M.Si.

Lahir di Latugho, 31 Desember 1974. Menyelesaikan S1 di Universitas Halu Oleo pada tahun 2000 dan Master Sains di bidang Kimia Analitik Universitas Padjajaran Bandung di tahun 2004. Gelar Doktor dibidang Farmakokimia dari Sekolah Farmasi, Institut Teknologi Bandung diperoleh pada tahun 2015. Penulis saat ini adalah Dekan Fakultas Farmasi Universitas Halu Oleo dan juga sebagai pembina Resimen Mahasiswa Universitas Halu Oleo.

Penulis juga sebagai anggota majelis LAM-PTKes dan aktif mempublikasikan karya ilmiahnya pada jurnal internasional yang bereputasi maupun pada jurnal nasional terakreditasi. Penulis saat ini aktif melakukan riset pemanfaatan tanaman tradisional suku Muna yakni Lansau sebagai obat tradisional dan juga menekuni riset di bidang Kimia Medisinal.