

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Tentang Total Protein

2.1.1 Pengertian Protein

Protein (akar kata *proteios* dari bahasa Yunani yang berarti “pertama atau utama”) adalah senyawa organik kompleks berbobot tinggi yang merupakan polimer dari monomer-monomer asam amino yang dihubungkan satu sama lain dengan ikatan peptida. Protein merupakan makromolekul yang menyusun lebih dari separuh bagian sel. Protein menentukan ukuran dan struktur sel, sebagai komponen utama dari sistem komunikasi antar sel, serta sebagai katalis berbagai reaksi biokimia di dalam sel. Sebagian besar aktivitas penelitian biokimia tertuju pada protein khususnya hormon, antibodi, dan enzim (Rais, 2017).

Protein mengandung nitrogen yang berfungsi sangat penting dalam tubuh sehingga tidak mungkin ada kehidupan tanpa protein. Protein dihubungkan oleh ikatan peptida membentuk rantai peptida dengan panjang mulai dari 2 asam amino (dipeptida), 4-10 peptida (oligopeptida), dan lebih dari 10 asam amino (polipeptida). Tiap jenis protein mempunyai perbedaan jumlah dan distribusi asam amino. Berdasarkan susunan atomnya, protein mengandung 50-55% atom karbon (C), 20-23% atom oksigen (O), 12-19% atom nitrogen (N), 6-7% atom hidrogen (H), dan 0,2-0,3% atom sulfur (S) (Estiasih, *et al.*, 2016).

Protein dapat memerankan fungsi sebagai bahan struktural karena seperti halnya polimer lain, protein memiliki rantai yang panjang dan dapat mengalami *cross-linking*. Selain itu protein juga dapat berperan sebagai biokatalis untuk reaksi-

reaksi kimia dalam sistem makhluk hidup. Makromolekul ini mengendalikan jalur dan waktu metabolisme yang kompleks untuk menjaga kelangsungan hidup suatu organisme. Suatu sistem metabolisme akan terganggu apabila biokatalis yang berperan di dalamnya mengalami kerusakan (Syaputra, 2014).

Penetapan kadar protein dalam tubuh biasanya mengukur total protein. Tes total protein adalah tes yang menggambarkan kemampuan hati untuk mensintesa protein dan memetabolisme zat yang terdapat di dalam darah. Total protein adalah suatu plasma protein yang disintesa terutama di sel parenkim hati, sel plasma, kelenjar limfe, limpa dan sumsum tulang. Total protein terdiri dari albumin dan globulin. Pengukuran protein total berguna dalam mengidentifikasi berbagai gangguan pada tubuh. Penurunan konsentrasi protein total dapat terdeteksi pada penurunan sintesa protein dari hati, kehilangan protein karena fungsi ginjal terganggu, dan malabsorpsi atau defisiensi gizi. Peningkatan kadar protein juga terjadi pada gangguan inflamasi kronis, sirosis hati dan dehidrasi (Raharjo, 2017).

2.1.2 Metabolisme Protein

Metabolisme protein adalah deskripsi dari proses fisik dan kimia yang meliputi pembentukan atau sintesis asam amino menjadi protein dan pemecahan atau katabolisme protein menjadi asam amino. Asam amino yang beredar melalui darah dan masuk ke jaringan tubuh disintesis kembali menjadi protein. Keseimbangan antara sintesis protein dan katabolisme adalah suatu hal yang penting agar fungsi sel dapat dipertahankan. Jaringan lunak membutuhkan asam amino untuk memproduksi jenis protein yang. Sintesis asam amino diperlukan untuk membentuk senyawa penting lainnya dalam tubuh, seperti histamin, neurotransmitter, dan komponen nukleotida. Setiap asam amino yang tersisa

disimpan sebagai lemak atau dikonversi menjadi energi. Asam amino dapat diklasifikasikan sebagai esensial dan non esensial. Asam amino esensial tidak dapat dibuat oleh tubuh tetapi sangat penting untuk metabolisme protein. Asam amino ini harus diperoleh dari makanan. Asam amino non-esensial dapat disintesis dari asam amino lain dalam tubuh. Setelah asam amino yang tepat diperoleh, asam amino esensial dan non esensial bergabung untuk memberikan protein jaringan sehingga tubuh dapat menggunakannya (Syaputra, 2014).

2.1.3 Fungsi Protein

Menurut Ngili (2013) protein memiliki fungsi-fungsi biologis sebagai berikut:

1. Katalis enzim

Enzim merupakan protein katalis yang mampu meningkatkan laju reaksi sampai 10¹² kali laju awal.

2. Alat transport dan penyimpanan

Banyak ion dan molekul kecil diangkut dalam darah maupun di dalam sel dengan cara berikatan pada protein pengangkut. Contohnya, hemoglobin merupakan protein pengangkut oksigen. Zat besi disimpan dalam berbagai jaringan oleh protein ferritin.

3. Fungsi mekanik

Protein menjalankan perannya sebagai pembentuk struktur. Misalnya, protein kolagen yang menguatkan kulit, gigi, serta tulang. Membran yang mengelilingi sel dan organel juga mengandung protein yang berfungsi sebagai pembentuk struktur sekaligus menjalankan fungsi biokimia lainnya.

4. Pengatur pergerakan

Kontraksi otot terjadi karena adanya interaksi antara dua tipe protein filamen, yaitu aktin dan miosin. Miosin juga memiliki aktivitas enzim yang berfungsi untuk memudahkan perubahan energi kimia ATP menjadi energi mekanik. Pergerakan flagela sperma disebabkan oleh protein.

5. Pelindung

Antibodi merupakan protein yang terlibat dalam perusakan sel asing yang masuk ke dalam tubuh seperti virus, bakteri, dan sel-sel asing lain.

6. Proses informasi

Rangsangan luar seperti sinyal hormon atau intensitas cahaya dideteksi oleh protein tertentu yang meneruskan sinyal ke dalam sel. Contoh protein rodopsin yang terdapat dalam membran sel retina.

2.1.4 Pemeriksaan Total Protein

2.1.4.1 Sampel Pemeriksaan Total Protein

Sampel untuk pemeriksaan total protein adalah serum. Serum adalah cairan bening yang dipisahkan dari sel-sel darah menggunakan sentrifuge. Bagian cairan dari darah yang normalnya berisi sel darah merah, sel darah putih, dan trombosit. Serum juga tidak memiliki faktor pembekuan karena serum adalah plasma darah tanpa fibrinogen. Cara memperoleh serum yaitu dengan : Siapkan sampel darah dan tampung dalam tabung dan biarkan selama 15 menit yang akan mengalami proses pemisahan atau pembekuan selanjutnya disentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Lapisan jernih kuning muda pada bagian atas merupakan bentuk serum kemudian pisahkan serum pada tabung lain (Mutiara, 2018).

Stabilitas sampel selama 6 hari jika disimpan pada suhu 20-25 ° C, stabil selama 4 minggu jika disimpan pada suhu 4-8 ° C dan stabil sekurangnya 1 tahun jika disimpan pada suhu -20 ° C. Jangan menggunakan spesimen beku ulang atau terkontaminasi (Insert kit, 2016).

2.1.4.2 Metode Pemeriksaan Total Protein

Menurut Raharjo (2017) Analisa protein dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu secara kualitatif dan secara kuantitatif. Analisa protein secara kualitatif yaitu dengan reaksi Xantoprotein, reaksi Hopkins-Cole, reaksi Millon, reaksi Nitropusida dan reaksi Sakaguchi, sedangkan analisa protein secara kuantitatif yaitu dengan metode Kjeldahl, metode titrasi formol, metode Lowry, metode spektrofotometri *visible* (Biuret) dan metode spektrofotometri UV.

1. Reaksi Xantoprotein

Larutan asam nitrat pekat ditambahkan dengan hati-hati ke dalam larutan protein. Setelah dicampur terjadi endapan putih yang dapat berubah menjadi kuning apabila dipanaskan. Reaksi yang terjadi ialah nitrasi pada inti benzena yang terdapat pada molekul protein. Reaksi ini positif untuk protein yang mengandung tirosin, fenilalanin dan triptofan.

2. Reaksi Hopkins-Cole

Larutan protein yang mengandung triptofan dapat direaksikan dengan pereaksi Hopkins-Cole yang mengandung asam glioksilat. Pereaksi ini dibuat dari asam oksalat dengan serbuk magnesium dalam air. Setelah dicampur dengan pereaksi Hopkins-Cole, asam sulfat dituangkan perlahan-lahan sehingga membentuk lapisan di bawah larutan protein. Beberapa saat kemudian akan terjadi cincin ungu pada batas antara kedua lapisan tersebut.

3. Reaksi Millon

Pereaksi Millon adalah larutan merkuro dan merkuri nitrat dalam asam nitrat. Apabila pereaksi ini ditambahkan pada larutan protein, akan menghasilkan endapan putih yang dapat berubah menjadi merah oleh pemanasan. Pada dasarnya reaksi ini positif untuk fenol-fenol, karena terbentuknya senyawa merkuri dengan gugus hidroksifenil yang berwarna.

4. Reaksi Natriumnitroprusida

Natriumnitroprusida dalam larutan amoniak akan menghasilkan warna merah dengan protein yang mempunyai gugus $-SH$ bebas. Jadi, protein yang mengandung sistein dapat memberikan hasil positif.

5. Reaksi Sakaguchi

Pereaksi yang digunakan adalah naftol dan natriumhipobromit. Pada dasarnya reaksi ini memberikan hasil positif apabila ada gugus guanidin. Jadi, arginin atau protein yang mengandung arginin dapat menghasilkan warna merah.

6. Metode Kjeldahl

Metode ini merupakan metode yang sederhana untuk penetapan nitrogen total pada asam amino, protein, dan senyawa yang mengandung nitrogen. Sampel didestruksi dengan asam sulfat dan dikatalisis dengan katalisator yang sesuai sehingga akan menghasilkan amonium sulfat. Setelah pembebasan alkali dengan kuat, amonia yang terbentuk disuling uap secara kuantitatif ke dalam larutan penyerap dan ditetapkan secara titrasi.

7. Metode Spektrofotometri UV

Asam amino penyusun protein diantaranya adalah triptofan, tirosin dan fenilalanin yang mempunyai gugus aromatik. Triptofan mempunyai absorpsi

maksimum pada 280 nm, sedang untuk tirosin mempunyai absorpsi maksimum pada 278 nm. Fenilalanin menyerap sinar kurang kuat dan pada panjang gelombang lebih pendek. Absorpsi sinar pada 280 nm dapat digunakan untuk estimasi konsentrasi protein dalam larutan. Supaya hasilnya lebih teliti perlu dikoreksi kemungkinan adanya asam nukleat dengan pengukuran absorpsi pada 260 nm. Pengukuran pada 260 nm untuk melihat kemungkinan kontaminasi oleh asam nukleat. Rasio absorpsi 280/260 menentukan faktor koreksi yang ada dalam suatu tabel.

8. Metode Biuret

Larutan protein dibuat alkalis dengan NaOH kemudian ditambahkan larutan CuSO₄ encer. Uji ini untuk menunjukkan adanya senyawa-senyawa yang mengandung gugus amida asam yang berada bersama gugus amida yang lain. Uji ini memberikan reaksi positif yaitu ditandai dengan timbulnya warna merah violet atau biru violet. Pembentukan bahan – bahan kimia tertentu pada larutan protein kemungkinan dapat mengakibatkan larutan protein yang semula tidak berwarna menjadi berwarna. Reaksi pembentukan warna protein sering dipakai untuk menunjukkan adanya protein atau protein tertentu, walaupun beberapa diantara reaksi – reaksi tidak spesifik karena beberapa zat lain dengan reagen yang sama memberikan hasil yang sama. Pemeriksaan total protein menggunakan metode biuret prinsipnya yaitu ion kupri akan bereaksi dengan protein dalam suasana basa membentuk kompleks berwarna ungu. Absorbansi kompleks ini sebanding dengan konsentrasi protein dalam sampel.

2.1.4.3 Kesalahan dalam Pemeriksaan Total Protein

Raharjo (2017) menyatakan bahwa hasil pemeriksaan dapat dipengaruhi oleh beberapa hal berikut ini:

1. Pra-analitik

Merupakan kesalahan yang dapat mempengaruhi hasil sebelum spesimen pasien diperiksa.

a. Pengambilan sampel

Pengambilan sampel harus dilaksanakan secara benar agar sampel tersebut mewakili keadaan yang sebenarnya.

b. Kondisi sampel

Ada 2 jenis serum yang dapat mempengaruhi hasil, yaitu serum lipemik dan serum ikterik. Serum lipemik adalah serum yang keruh seperti susu dan dapat mempengaruhi pengukuran dengan alat spektrofotometri. Serum Ikterik adalah serum yang berwarna kuning coklat dan dapat mempengaruhi pengukuran pada panjang gelombang 400–500 nm akibat warna kuning coklat dari spesimen, sehingga tidak mampu dibaca oleh fotometer.

2. Analitik

Merupakan kesalahan yang dapat mempengaruhi hasil pada saat proses pengukuran.

a. Prosedur pemeriksaan

Dalam melakukan pemeriksaan harus sesuai dengan Standar Prosedur Operasional atau SPO.

b. Kompetensi Petugas

Petugas yang melakukan pemeriksaan harus sesuai dengan kompetensinya yaitu sudah mengikuti pelatihan serta lulus dan mendapatkan sertifikat kompetensi.

c. Reagen

Reagen yang digunakan harus sudah divalidasi, tersimpan sesuai dengan prosedur penyimpanan reagen dan belum melewati batas masa kadaluwarsa.

d. Alat

Peralatan yang digunakan harus sudah terkalibrasi dan dilakukan perawatan pemeliharaan secara rutin.

e. Kondisi lingkungan

Ruang laboratorium cukup menampung peralatan yang digunakan, aktifitas dan jumlah petugas yang berhubungan dengan spesimen / pasien untuk kebutuhan pemeriksaan laboratorium.

3. Pasca analitik

Merupakan kesalahan yang terjadi setelah proses pra-analitik dan analitik telah dilakukan.

a. Verifikasi hasil

Kesalahan dalam verifikasi hasil meliputi kesalahan proses penulisan hasil pemeriksaan dan penulisan identitas pasien.

b. Penyerahan hasil

Kesalahan yang terjadi dalam penyerahan hasil dapat terjadi pada saat penyerahan hasil tidak dilakukan pencocokan identitas pasien.

2.1.5 Masalah Klinis Total Protein

Penurunan kadar total protein dapat terjadi pada penderita yang mengalami malnutrisi berkepanjangan, kelaparan, diet rendah protein, sindrom malabsorpsi, kanker gastrointestinal, kolitis ulseratif, penyakit Hodgkin, penyakit hati yang berat, gagal ginjal kronis, luka bakar yang parah, dan intoksikasi air. Peningkatan kadar total protein dapat terjadi pada penderita yang mengalami dehidrasi (hemokonsentrasi), muntah, diare, mieloma multipel, sindrom gawat pernapasan, dan sarkoidosis (Kee, 2013).

2.2 Tinjauan Tentang Albumin

2.2.1 Pengertian Albumin

Albumin merupakan protein utama yang terdapat dalam tubuh manusia yang berkisar antara 55-60%. Menurut kamus kedokteran albumin merupakan protein yang larut dalam air dan juga dalam larutan garam konsentrasi sedang. Albumin terdiri dari rantai tunggal polipeptida dan 585 asam amino. Sekitar 40% albumin terdapat dalam plasma, dan 60% sisanya terdapat diruang ekstrasel. Albumin diproduksi oleh hepatosit yang ada pada hati. Protein ini dapat meningkatkan tekanan osmotik untuk mempertahankan cairan vaskuler. Albumin mengikat dan membawa berbagai macam molekul hidrofobik, seperti kolesterol, asam lemak, bilirubin, obat-obatan, racun, ion logam transisi, dan gas (Subiyanti, 2017).

Albumin terdiri mengandung 17 ikatan disulfida. Adanya protease berfungsi untuk membagi albumin menjadi tiga domain yang memiliki fungsi yang berbeda-beda. Albumin memiliki bentuk elips sehingga tidak meningkatkan viskositas plasma sebanyak peningkatan yang dilakukan oleh molekul panjang seperti filonirogen. arena konsentrasinya yang tinggi dan massa molekulnya yang relatif

rendah, albumin diperkirakan menentukan 75-80% tekanan osmotik plasma manusia (Susetyowati, *et al.*, 2017).

Kadar albumin serum ditentukan oleh fungsi laju sintesis, laju degradasi, dan distribusi antara kompartemen intravaskular dan ekstrasvaskular. Cadangan total albumin 3,5-5,0 g/kg BB atau 250-300 g pada orang dewasa sehat dengan berat 70 kg, dari jumlah ini 42% berada di kompartemen plasma dan sisanya di dalam kompartemen ekstrasvaskular. Albumin manusia dibuat dari plasma manusia yang diendapkan dengan alkohol. Albumin secara luas digunakan untuk penggantian volume dan mengobati *hypoalbuminemia* (Putri, *et al.*, 2016).

2.2.2 Metabolisme Albumin

Albumin disintesis di hati. Faktor-faktor utama yang mempengaruhi sintesis albumin, yaitu tekanan osmotik, hormon, dan penyakit tertentu. Hormon tiroid, hormon pertumbuhan, kortikosteroid, dan insulin dapat meningkatkan sintesis albumin. Albumin didistribusikan secara vaskuler dalam plasma dan secara ekstrasvaskuler dalam kulit, otot, dan beberapa jaringan lain. Sintesa albumin dalam sel hati dilakukan dalam dua tempat, yaitu pertama pada polisom bebas dimana albumin dibentuk untuk keperluan intravaskuler. Kedua, poliribosom yang berkaitan dengan retikulum endoplasma dimana albumin dibentuk untuk didistribusikan ke seluruh tubuh. Sintesa albumin pada orang normal memiliki kecepatan pembentukan 194 mg/kg/hari dan menghasilkan albumin 12-25 gram/hari (Harjanto, 2017).

2.2.3 Fungsi Albumin

Berdasarkan fungsi dan fisiologis, secara umum albumin di dalam tubuh mempertahankan tekanan onkotik plasma, peranan albumin terhadap tekanan onkotik plasma mencapai 80% yaitu 25 mmHg. Albumin mempunyai konsentrasi yang tinggi dibandingkan dengan protein plasma lainnya, dengan berat molekul 66,4 kDa lebih rendah dari globulin serum yaitu 147 kDa, tetapi masih mempunyai tekanan osmotik yang bermakna. Efek osmotik ini memberikan 60% tekanan onkotik albumin. Sisanya 40% berperan dalam usaha untuk mempertahankan intravaskular dan partikel terlarut yang bermuatan positif (Adriani, 2018).

Menurut Adriani (2018) Secara detail fungsi dan peran albumin dalam tubuh adalah sebagai berikut:

1. Albumin sebagai pengikat dan pengangkut

Albumin akan mengikat secara lemah dan reversibel partikel yang bermuatan negatif dan positif, dan berfungsi sebagai pembawa dan pengangkut molekul metabolit dan obat. Meskipun banyak teori tentang pentingnya albumin sebagai pengangkut dan pengikat protein, namun masih sedikit mengenai perubahan yang terjadi pada pasien dengan hipoalbuminemia.

2. Efek antikoagulan albumin

Albumin mempunyai efek terhadap pembekuan darah. Kerjanya seperti heparin, karena mempunyai persamaan struktur molekul. Heparin bermuatan negatif pada gugus sulfat yang berikatan antitrombin III yang bermuatan positif, yang menimbulkan efek antikoagulan. Albumin serum juga bermuatan negatif.

3. Albumin sebagai pendapar

Albumin berperan sebagai buffer dengan adanya muatan sisa dan molekul albumin dan jumlahnya relatif banyak dalam plasma. Pada keadaan pH normal albumin bermuatan negatif dan berperan dalam pembentukan gugus anion yang dapat mempengaruhi status asam basa. Penurunan kadar albumin akan menyebabkan alkalosis metabolik, karena penurunan albumin 1 g/dl akan meningkatkan kadar bikarbonat 3,4 mmol/L dan produksi basa >3,7 mmol/L serta penurunan anion 3 mmol/L.

4. Efek antioksidan albumin

Albumin dalam serum bertindak memblokir suatu keadaan neurotoxic oxidant stress yang diinduksi oleh hidrogen peroksida atau copper, asam askorbat yang apabila teroksidasi akan menghasilkan radikal bebas.

5. Selain yang disebut di atas albumin juga berperan mempertahankan integritas mikrovaskuler sehingga mencegah masuknya kuman-kuman usus ke dalam pembuluh darah, sehingga terhindar dari peritonitis bakterialis spontan.

2.2.4 Pemeriksaan Albumin

2.2.4.1 Sampel Pemeriksaan Albumin

Bahan pemeriksaan albumin adalah serum atau plasma yang diambil dari darah vena. Serum atau plasma yang digunakan harus dipisahkan dari sel-sel darah. Sampel yang tidak segera diperiksa sebaiknya disimpan di lemari es supaya kadar albumin tidak berubah. Sampel yang akan diperiksa hendaknya tidak lipemik, tidak hemolisis dan tidak ikterik karena dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan. Serum darah adalah plasma tanpa fibrinogen, sel dan faktor koagulasi lainnya. Fibrinogen menempati 4% alokasi protein dalam plasma dan merupakan faktor penting dalam

proses pembekuan darah. Serum merupakan cairan berwarna kuning muda yang didapat dengan cara mensentrifugasi sejumlah darah yang dibiarkan membeku tanpa antikoagulan (Subiyanti, 2017).

Serum adalah bagian darah yang tersisa setelah darah membeku. Pembekuan mengubah semua fibrinogen menjadi fibrin dengan menghabiskan faktor VIII, V dan protrombin. Faktor pembekuan lain dan protein yang tidak ada hubungannya dengan hemostasis tetap ada dalam serum dengan kadar sama seperti dalam plasma. Bila proses pembekuan tidak normal serum mungkin masih mengandung sisa fibrinogen, produk perombakan fibrinogen atau protrombin yang tidak diubah (Widada, *et al.*, 2016).

2.2.4.2 Metode Pemeriksaan Albumin

Menurut Subiyanti (2017) Terdapat beberapa macam metode pemeriksaan albumin, antara lain:

1. Metode Elektrophoresis

Metode elektroporesis dilakukan berdasarkan pemisahan protein atas dasar muatan listriknya. Prinsip metode ini, protein ditempatkan di suatu arus elektrik akan berpindah menurut gerakan dari aliran elektrik tersebut, dimana pergerakannya ditentukan oleh larutan penyangga. Arus pergerakan tergantung oleh muatan yaitu muatan positif atau negatif, kation yang mempunyai muatan positif bergerak ke kutub katode (terminal negatif), sedangkan anion yang bermuatan negatif bergerak ke kutub anode (terminal positif). Metode ini memisahkan protein plasma menjadi albumin, globuli alpha-1, globulin alpha-2, beta globulin, gamma globulin. Metode ini sangat akurat, namun membutuhkan waktu yang lama dalam proses pengerjannya.

2. *Dye binding*

a. BCG (*Bromcressol Green*)

Merupakan indikator yang mempunyai rumus kimia $C_{21}H_{14}Br_4O_5S$ (3,31.5,51-tetrabromo-m-cresol sulfophatelin) dengan pH asam (4.0-5.6) yang umum dipakai untuk pemeriksaan kadar albumin. Prinsip metode ini adalah pengikatan albumin oleh BCG pada pH 4.2 (asam) menghasilkan warna biru kehijauan (Duben, 1999). Metode BCG tidak spesifik untuk pemeriksaan kadar albumin, selain mengikat albumin BCG juga mengikat globulin yang reaksinya terjadi secara perlahan-lahan, dimana alpha globulin akan bereaksi dengan BCG dan memberikan intensitas warna pada pembacaannya sehingga memberikan hasil terlalu tinggi pada kadar albumin yang rendah.

Metode pemeriksaan ini dapat dipengaruhi oleh bilirubin yang tinggi dan trigliserida tinggi. Pemeriksaan metode secara *in vitro*, kadar terendah yang dapat dibaca 0,02 g/dl dan kadar tertinggi 6,27 g/dl.

b. BCP (*Bromcresol Purple*)

Metode BCP merupakan standar emas (gold standar) untuk pemeriksaan kadar albumin. Prinsip metode BCP adalah BCP mengikat albumin secara spesifik tanpa ada campur tangan unsur lain yang mengganggu dalam proses reaksi BCP tidak bereaksi dengan globulin. Bilirubin, trigliserida dan hemoglobin yang tinggi dapat mengganggu hasil pemeriksaan sehingga didapatkan nilai albumin yang lebih rendah dari yang seharusnya.

Metode ini lebih sensitif, linier dan tepat dibanding dengan BCG. Pemeriksaan metode secara *in vitro*, kadar terendah yang dapat dibaca 0,06 g/dl dan kadar tertinggi 8,0 g/dl.

3. Presipitasi

Metode presipitasi menempatkan serum ke suatu koloid yang cocok (reaksi koloid emas, timol, sefalin-kolesterol) albumin mempunyai daya kelarutan yang berbeda-beda didalam larutan garam pekat. Normalnya albumin dan alpha globulin menstabilkan sistem ini. Kelebihan immunoglobulin merusak stabilitas system ini dan timbul presipitasi atau flokulasi.

4. HPLC (High Performance Liquid Chromatography)

HPLC merupakan metode kromatografi yang menggunakan bahan kimia untuk mengidentifikasi dan memisahkan suatu campuran berdasarkan popularitasnya per satuan detik. Komponen dasar dari HPLC meliputi suatu reservoir bahan pelarut, pompa, injector, kolom analitik, detector, perekam dan pembuangan sisa-sisa pemeriksaan. Metode ini merupakan metode rujukan. Hal-hal yang perlu diperhatikan dalam metode ini adalah larutan penyangga dimana mempunyai pH yang stabil, biasanya dipakai larutan sodium phosphate. Metode ini merupakan metode paling akurat untuk pemeriksaan zat kimia. Harga normal albumin dengan metode ini adalah 2,7-3,8 g/dl.

2.2.4.3 Kesalahan dalam Pemeriksaan Albumin

Kesalahan dalam pemeriksaan kadar albumin dapat dipengaruhi oleh beberapa hal berikut ini:

1. Tabung penyimpanan

Tabung merupakan wadah atau tempat penampungan spesimen. Agar mudah untuk melakukan pemeriksaan di rumah sakit biasanya menggunakan tabung vakum dengan tutup warna merah untuk menampung bahan sampel serum. Tabung vakum tutup warna merah merupakan tabung tanpa additive, untuk darah

bekuan dan serum dengan cara sentrifuge. Tabung vakum terbuat dari bahan plastic atau kaca yang mudah ditembus oleh cahaya, sehingga mudah mempengaruhi konsentrasi di dalam serum. berdasarkan sifat cahaya yang mampu menembus benda bening, hendaknya pemeriksaan dilakukan segera dan apabila dilakukan penyimpanan ditempat gelap, tabung yang berisi serum dibungkus kertas gelap atau kertas alumunium foil pada suhu rendah/kulkas sehingga menjaga kestabilan kadar dalam serum (Mutiara, 2018).

2. Makanan atau gizi

Malnutrisi kronis akan menyebabkan berbagai masalah kesehatan seperti hipoalbumin. Kekurangan protein akan menyebabkan kadar albumin dalam darah menurun. Albumin memiliki peranan penting yakni mengatur tekanan onkotik dan mengikat ligan. Terdapat beberapa faktor yang meningkatkan menurunkan kadar albumin, faktor yang menurunkan kadar albumin salah satunya adalah malnutrisi kronis (Margaretha, 2017).

3. Fungsi hati dan ginjal

Albumin merupakan fraksi protein terbesar dalam tubuh manusia. Jumlah albumin dalam tubuh ditentukan oleh masukan dari sintesis hati yang kemudian difiltrasi di glomerulus dan sejumlah kecil direabsorpsi oleh tubulus. Jadi, pemeriksaan kadar albumin juga ditentukan oleh fungsi hati dan ginjal (Fauziah, 2017).

4. Penyakit yang menyertai

Penyakit yang diderita membutuhkan lebih banyak zat gizi dan oksigen untuk pembentukan energi guna penyembuhan penyakit yang diderita (Yudistiro, 2016).

2.2.5 Masalah Klinis Albumin

Peningkatan kadar albumin dalam serum disebut hiperalbuminemia. Hiperalbuminemia merupakan suatu keadaan yang jarang ditemukan. Hiperalbuminemia biasanya dijumpai apabila seseorang mengalami dehidrasi akut dan syok. Selain itu, hiperalbuminemia juga dapat disebabkan karena penerapan diet tinggi protein dan penggunaan tourniquet dalam waktu yang lama ketika proses pengambilan darah. Kadar albumin serum dikategorikan hiperalbuminemia apabila kadar albumin $>5,5$ gram/dl dimana kadar albumin serum normal yaitu 3,5-5,5 g/dl (Susetyowati, *et a .*, 2017).

Hipoalbuminemia adalah suatu keadaan kadar albumin dalam serum kurang dari normal. Kadar serum albumin yang kurang dibedakan menjadi tiga tingkatan, yaitu hipoalbuminemia ringan (kadar 3,2-3,5 g/dl), hipoalbumin sedang (2,8-3,2 g/dl). Kategori hipoalbuminemia berat ($<2,8$ g/dl). Kadar albumin dalam serum tergantung pada tiga proses yang dinamis, yaitu sintesis, degradasi, dan distribusi. Proses degradasi albumin terjadi pada keseimbangan dalam kolodial plasma, tetapi tidak terjadi di dalam plasma maupun pool ekstraseluler. Albumin yang disintesis di hati akan masuk ke dalam sirkulasi melalui dinding sel hati kr sinusoid, selanjutnya ke saluran limfe hati, ductus torasiikus, dan terakhir melalui aliran darah mencapai seluruh tubuh (Adriani, 2018).

Hipoalbuminemia dapat disebabkan oleh penurunan sintesis, yaitu pada keadaan malnutrisi dan penyakit hati, proses degradasi yang berlebihan pada kondisi nefrosis dan *gastrointestinalloss*, atau peningkatan kehilangan albumin dari vascular pada keadaan shock dan edema. Kadar albumin plasma <2 g/dl sering dijumpai pada sindroma nefrotik, gastroenteropati dan sepsis; kadar 2-2,3 g/dl

sering didapatkan pada pasien sirosis hati dan glomerulonefritis, sedangkan kadar 2,3-3 g/dl dijumpai pada reaksi fase akut, hepatitis virus, malnutrisi, carcinoma, arthritis rematik, dan infeksi berat (Susetyowati, *et al.*, 2017).

Penurunan kadar albumin atau hipoalbuminemia dapat terjadi pada penderita yang mengalami sirosis hati, gagal hati akut, luka bakar yang parah, malnutrisi berat, preeclampsia, gagal ginjal, malignansi tertentu, colitis ulseratif, imobilisasi, enteropati kehilangan protein, malabsorpsi, pengaruh obat penisilin, sulfonamide, aspirin, dan asam askorbat. Peningkatan kadar albumin atau hiperalbuminemia dapat terjadi pada penderita yang mengalami dehidrasi, muntah yang parah, dan diare berat (Fauziah, 2018).

2.3 Tinjauan Tentang Tabung Vacutainer

Tabung reaksi hampa udara yang terbuat dari plastik atau kaca adalah tabung vacutainer yang digunakan untuk mengambil darah apabila dilekatkan dengan jarum darah akan mengalir ke dalam tabung kemudian berhenti mengalir ketika jumlah volume telah tercapai. Warna tutup pada tabung vacutainer dibedakan untuk membedakan jenis antikoagulan dan kegunaannya dalam pemeriksaan laboratorium yaitu Tabung vakum tutup merah, tutup kuning, tutup hijau terang, tutup biru, tutup hijau, tutup biru gelap, tutup abu-abu terang, tutup hitam, tutup merah muda, tutup putih, tutup kuning dengan warna hitam di bagian atas dan tutup ungu atau lavender (Deviani, 2017).

2.3.1 Jenis-jenis Tabung Vacutainer

Menurut Marpiah (2017) Warna tutup tabung vacutainer digunakan untuk membedakan jenis antikoagulan dan kegunaannya dalam pemeriksaan laboratorium. Adapun jenis tabung vacutainer beserta kegunaannya sebagai berikut:

1. Tabung vakum tutup merah adalah tabung yang digunakan untuk menampung darah. tabung ini tanpa antikoagulan dan gel separator sehingga darah membeku secara alami. Waktu pembekuan sampel idealnya selama 60 menit dan disentrifuge dengan kecepatan 2500 rpm selama 10 menit. Pada umumnya tabung ini digunakan untuk pemeriksaan kimia darah, imunologi, serologi, dan bank darah
2. Tabung vakum tutup kuning adalah tabung yang digunakan untuk menampung darah. Tabung ini tanpa antikoagulan dan berisi gel separator. Sampel membeku dalam waktu 30 menit dan disentrifuge dengan kecepatan 3500 rpm selama 10 menit. Pada umumnya tabung ini digunakan untuk pemeriksaan kimia darah, imunologi, dan serologi. Tabung tutup kuning mudah digunakan, memerlukan waktu yang singkat, menghasilkan serum lebih banyak, membatasi bahaya aerosol, memerlukan satu tahap step, menggunakan tabung utama untuk sampling dan satu label
3. Tabung vakum tutup hijau terang, berisi gel separator (*plasma separator tube* / PST) dengan antikoagulan lithium heparin. Umumnya digunakan untuk pemeriksaan kimia darah, imunologi, dan serologi.
4. Tabung vakum tutup ungu atau lavender, berisi EDTA. Umumnya digunakan untuk pemeriksaan darah lengkap dan bank darah (*crossmatch*)

5. Tabung vakum tutup biru, berisi natrium sitrat. Umumnya digunakan untuk pemeriksaan koagulasi misalnya, PPT dan APTT
6. Tabung vakum tutup hijau, berisi natrium atau lithium heparin, umumnya digunakan untuk pemeriksaan fragilitas osmotik eritrosit dan kimia darah
7. Tabung vakum tutup biru gelap, berisi EDTA yang bebas logam, umumnya digunakan untuk pemeriksaan trace element (zink, copper, mercury) dan toksikologi
8. Tabung vakum tutup abu-abu terang, berisi natrium fluoride dan kalium oksalat, digunakan untuk pemeriksaan glukosa
9. Tabung vakum tutup hitam, berisi bufer sodium sitrat, digunakan untuk pemeriksaan LED (*ESR*)
10. Tabung vakum tutup pink, berisi potassium EDTA, digunakan untuk pemeriksaan imunohematologi.
11. Tabung vakum tutup putih, berisi potassium EDTA, digunakan untuk pemeriksaan molekuler / PCR dan bDNA
12. Tabung vakum tutup kuning dengan warna hitam dibagian atas, berisi media biakan, digunakan untuk pemeriksaan mikrobiologi-aerob, anaerob dan jamur.

2.3.2 Faktor Kesalahan Penggunaan Tabung Vakum Tutup Merah

Tabung vakum tutup merah terbuat dari kaca sehingga bisa dipakai secara berulang dengan cara dicuci, dikeringkan, dan digunakan kembali. Jika proses pencucian dan pengeringan tidak dilakukan dengan benar maka akan terjadi kontaminasi. Sisa-sisa sabun untuk pencucian dapat mempengaruhi hasil uji (Furqon, *et al.*, 2015).

2.3.3 Faktor Kesalahan Penggunaan Tabung Vakum Tutup Kuning

Tabung vakum tutup kuning atau *serum separator tubes* (SST) setelah disentrifuge, Gel pemisah berada diantara sel-sel darah dan serum yang dipengaruhi oleh berbagai karakteristik tabung seperti, berat jenis, tekanan, viskositas, densitas dan bahan tabung. Selain itu dapat pula disebabkan oleh suhu, kecepatan sentrifuge, aselerasi, deselerasi, penyimpanan dan faktor dari pasien misalnya sedang terapi heparin, hematokrit rendah, tingginya protein dan berat jenis serum. Berat jenis gel idealnya harus diantara 1,03-1,09 g/cm³. Berat jenis serum berada pada rentang 1,026-1,031 g/cm³ dan berat jenis bekuan berada pada rentang 1,092-1,095 g/cm³. Berat jenis serum meningkat dikarenakan hiperproteinemia atau warna *radio-contrast*, sehingga serum tersebut tidak akan terapung diatas gel. Disamping itu, penelitian Faught menunjukkan bahwa ada perbedaan berat jenis gel pemisah yang digunakan pada tabung SST maupun pada lot tabung. Gel juga dapat melepaskan bahan, seperti potongan gel dan minyak silikon ke dalam spesimen dan mengganggu pengujian (Bowen, *et al.*, 2014).

2.4 Tinjauan Tentang Pemantapan Mutu Internal

2.4.1 Pengertian Pemantapan Mutu Internal

Mutu internal adalah kegiatan pencegahan dan pengawasan yang dilaksanakan oleh masing-masing laboratorium secara terus menerus agar diperoleh hasil pemeriksaan yang tepat (Makhfudlotin, 2016).

2.4.2 Prinsip Pemantapan Mutu Internal

Hingga saat ini masih belum ada peraturan pemerintah yang mengatur pelaksanaan program pemantapan mutu internal, maka hal ini hanya berdasarkan kesadaran sendiri dan secara sukarela. Namun demikian untuk mengendalikan mutu

analisisnya pemantapan mutu internal harus dilakukan setiap hari. Prinsip pedoman pelaksanaan pemantapan mutu internal meliputi frekuensi pelaksanaan, kriteria mutu, serta interpretasi hasil (Makhfudlotin, 2016).

2.4.3 Tujuan Pemantapan Mutu Internal

Menurut Makhfudlotin (2016) tujuan pemantapan mutu internal sebagai berikut:

1. Pemantapan dan penyempurnaan metode pemeriksaan dengan mempertimbangkan aspek analitik dan klinis
2. Mempertinggi kesiagaan tenaga, sehingga hasil yang salah tidak terjadi dan perbaikan kesalahan dapat dilakukan segera
3. Memastikan bahwa semua proses mulai dari persiapan pasien, pengambilan, pengiriman, penyimpanan, dan pengolahan spesimen sampai dengan pencatatan dan pelaporan telah dilakukan dengan benar
4. Mendeteksi kesalahan dan mengetahui sumbernya
5. Membantu perbaikan pelayanan penderita melalui peningkatan mutu pemeriksaan laboratorium.

2.4.4 Manfaat Pemantapan Mutu Internal

Menurut Makhfudlotin (2016) manfaat pemantapan mutu internal sebagai berikut:

1. Meningkatkan kualitas laboratorium
2. Meningkatkan moral dalam kehidupan sumber daya manusia laboratorium
3. Merupakan suatu metode pengawasan yang efektif

4. Untuk melakukan pembuktian apabila terdapat hasil yang meragukan oleh pengguna jasa laboratorium karena sering dianggap tidak sesuai dengan gejala klinis
5. Mengurangi kesalahan hasil.

2.5 Potensi Penggunaan Tabung Vakum Tutup Merah dan Tutup Kuning Terhadap Perbedaan Hasil Pemeriksaan Kadar Total Protein dan Albumin

Ketidakstabilan gel dan ketidakcocokan analit disebabkan oleh flotasi gel yang tidak sesuai pada sampel pasien. Gel juga dapat melepaskan bahan kimia yang terkandung di dalamnya seperti minyak silikon, kandungan vinil, silika, nano silika, Aluminium oxide, Titanium dioxide, talk powder, Kalsium, Dicumyl peroxide, dan Methanol yang dapat mengganggu pengujian serta mempengaruhi konsentrasi analit. Dalam kondisi suhu ekstrim akan menyebabkan ketidakstabilan fisik dari poliester berbasis polimer, pelepasan pelumas dan surfaktan organosilicone yang dapat mengganggu pemeriksaan imunologi tertentu, adsorpsi gel penghalang terhadap sejumlah analit seperti antidepresan atau benzodiazepine, tiroksin bebas (fT4) dan transferin, total asam lemak bebas (FFA) dan testosterone serta terjadi peningkatan palsu terhadap kalium dan vitamin B12 setelah re-sentrifugasi (Babakhani, *et al.*, 2018).

2.6 Hipotesis

Ha: Ada Perbedaan hasil pemeriksaan kadar total protein dan albumin dengan menggunakan tabung vakum tutup merah dan tutup kuning.