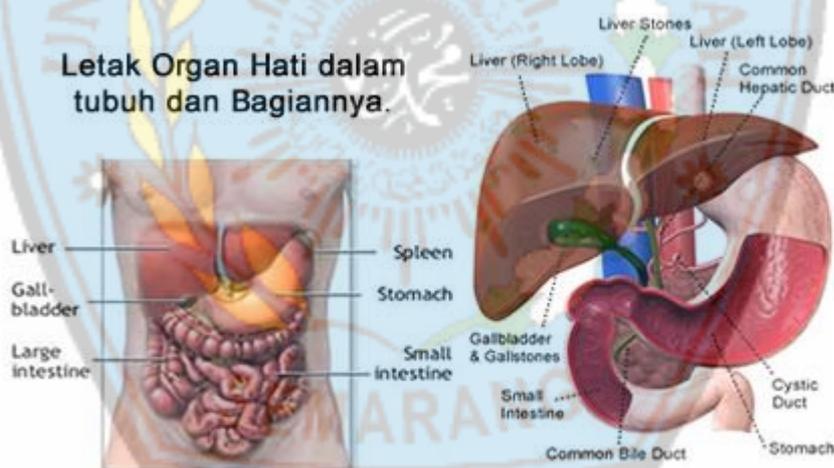


## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Organ Hati

Hati merupakan organ yang sangat penting dalam pengaturan hemostasis tubuh meliputi metabolisme, biotransformasi, sintesis, penyimpanan dan imunologi. Hati adalah kelenjar terbesar dalam tubuh, dengan bobot sekitar 1,2-1,8 kilogram. Hati adalah organ sentral dan merupakan pusat metabolisme dalam tubuh, hati berwarna merah coklat dan sangat lunak terletak dibagian kanan atas rongga abdomen dan tepat dibawah diafragma ( Ernawati & Panjaitan 2010 ).



Gambar 1. Letak dan bagian organ hati ( Sumber : Ernawati & Panjaitan, 2010 ).

##### 2.1.1. Fungsi Hati

Hati mempunyai fungsi sangat banyak dan kompleks untuk mempertahankan hidup serta berfungsi pada hampir setiap fungsi metabolisme.

Sacara garis besar fungsi hati dibagi dalam 3 macam:

1. Berhubungan dengan metabolisme karbohidrat, protein, lemak dan vitamin serta pembentukan dan ekskresi empedu.
2. Sebagai tempat sintesis albumin dan fibrinogen
3. Detoksifikasi dan ekskresi

Fungsi yang berhubungan dengan detoksifikasi dan ekskresi merupakan fungsi hati yang sangat penting dan dilakukan oleh enzim hati, melalui oksidasi, reduksi, hidrolisis atau konjugasi terhadap zat-zat yang kemungkinan membahayakan dengan cara mengubah menjadi zat yang secara fisiologis tidak aktif. Hasil detoksifikasi kemudian diekskresikan ke dalam empedu dan urin ( Price,S.A.2005 ).

### **2.1.2. Fungsi hati terkait dengan bilirubin**

Katabolisme heme dari semua hemeprotein terjadi dalam fraksi mikrosom sel retikuloendotel oleh sistem enzim yang kompleks yaitu heme oksigenase yang merupakan enzim dari keluarga besar sitokrom P450. Langkah awal pemecahan gugus heme ialah pemutusan jembatan  $\alpha$  metena membentuk biliverdin, suatu tetrapirrol linier. Besi mengalami beberapa kali reaksi reduksi dan oksidasi, reaksi-reaksi ini memerlukan oksigen dan Nikotinamida Adenosin Dinukleotida Hidrogen ( NADPH ), dan pada akhir reaksi dibebaskan  $Fe^{3+}$  yang dapat digunakan kembali, karbon monoksida yang berasal dari atom karbon jembatan metena dan biliverdin. Biliverdin, suatu pigmen berwarna hijau akan direduksi oleh biliverdin reduktase yang menggunakan NADPH sehingga rantai metenil

menjadi rantai metilen antara cincin pirol III – IV dan membentuk pigmen berwarna kuning yaitu bilirubin. Perubahan warna pada memar merupakan petunjuk reaksi degradasi ini. Dalam setiap 1 gr hemoglobin yang lisis akan membentuk 35 mg bilirubin. Pada orang dewasa dibentuk sekitar 250–350 mg bilirubin per hari, yang dapat berasal dari pemecahan hemoglobin, proses erythropoetik yang tidak efektif dan pemecahan hemprotein lainnya.

( Panil,Z.2008 ).

Bilirubin dari jaringan retikuloendotel adalah bentuk yang sedikit larut dalam plasma dan air. Bilirubin ini akan diikat nonkovalen dan diangkut oleh albumin ke hepar. Setiap 100 ml plasma hanya lebih kurang 25 mg bilirubin yang dapat diikat kuat pada albumin. Bilirubin yang melebihi jumlah ini hanya terikat longgar hingga mudah lepas dan berdiffusi ke jaringan. Bilirubin I ( indirek ) bersifat lebih sukar larut dalam air dibandingkan dengan biliverdin. Hasil akhir metabolisme heme pada reptil, amfibi dan unggas ialah biliverdin dan bukan bilirubin seperti pada mamalia. Bilirubin merupakan suatu antioksidan yang sangat efektif, sedangkan biliverdin tidak. Efektivitas bilirubin yang terikat pada albumin kira-kira 1/10 kali dibandingkan asam askorbat dalam perlindungan terhadap peroksida yang larut dalam air. Lebih bermakna lagi, bilirubin merupakan anti oksidan yang kuat dalam membran, bersaing dengan vitamin E .

( Panil,Z.2008 ).

Bilirubin I ( indirek ) yang terikat pada albumin yang ada di hati diambil pada permukaan sinusoid hepatosit oleh suatu protein pembawa yaitu ligandin. Sistem transport difasilitasi ini mempunyai kapasitas yang sangat besar tetapi

pengambilan bilirubin akan tergantung pada kelancaran proses yang akan dilewati bilirubin berikutnya bilirubin nonpolar ( I/indirek ) akan menetap dalam sel jika tidak diubah menjadi bentuk larut ( II/direk ). Hepatosit akan mengubah bilirubin menjadi bentuk larut ( II/direk ) yang dapat diekskresikan dengan mudah ke dalam kandung empedu. Proses perubahan tersebut melibatkan asam glukoronat yang dikonjugasikan dengan bilirubin, dikatalisis oleh enzim bilirubin glukoronosiltransferase. Hati mengandung sedikitnya dua isoform enzim glukoronosiltransferase yang terdapat terutama pada retikulum endoplasma. Reaksi konjugasi ini berlangsung dua tahap, memerlukan *Uridin Difosfat Glukosa* ( UDP ) asam glukoronat sebagai donor glukoronat. Tahap pertama akan membentuk bilirubin monoglukoronida sebagai senyawa antara yang kemudian dikonversi menjadi bilirubin diglukoronida yang larut pada tahap kedua. Eksresi bilirubin larut ke dalam saluran dan kandung empedu berlangsung dengan mekanisme transport aktif yang melawan gradien konsentrasi. Seluruh bilirubin pada keadaan fisiologis yang diekskresikan ke kandung empedu berada dalam bentuk terkonjugasi ( bilirubin II ) ( Panil,Z.2008 ).

Hati mempunyai multifungsi yang berkaitan dengan metabolisme karbohidrat, protein, lemak dan vitamin, maka gangguan faal hati dapat disebabkan oleh kelainan:

1. Prehepatik misalnya pada anemia hemolitik, pada keadaan ini faal hati pada umumnya normal kecuali bilirubin.

2. Intra hepatic atau hepatoseluler misalnya pada hepatitis, sirosis dan karsinoma hepatis. Tes faal hati pada keadaan ini umumnya ditandai dengan peninggian enzim SGOT, SGPT, ALP, GGT, protein abnormal, bilirubin dapat bervariasi.
3. Post hepatic atau obstruksi karena batu empedu dan tumor, dalam keadaan ini bilirubin dan alkali fosfatase meninggi, SGOT dan SGPT dapat meninggi ( Panil,Z.2008 ).

## 2.2. Bilirubin

Bilirubin adalah produk utama dari penguraian sel darah merah yang tua. Bilirubin disaring dari darah oleh hati, dan dikeluarkan pada cairan empedu. Bilirubin total akan meningkat, sebagaimana hati menjadi semakin rusak. Bilirubin langsung merupakan sebagian dari bilirubin total termetabolisme, bila bagian ini meningkat, penyebab biasanya di luar hati. Kerusakan pada hati atau pada saluran cairan empedu dalam hati ditunjukkan apabila kadar bilirubin langsung rendah sementara kadar bilirubin total tinggi. Bilirubin mengandung bahan pewarna yang memberi warna pada kotoran, bila tingkatnya sangat tinggi, kulit dan mata dapat menjadi kuning, yang mengakibatkan gejala ikterus. Bilirubin merupakan produk pemecahan sel darah merah. Pemecahan pertama dari sistem RES ( *Reticulo Endothelial System* ) yang diawali dengan pelepasan besi dan rantai peptida globulin. Bilirubin berawal dari turunan cicin porfirin yang terbuka dan menjadi rantai lurus ( Kosasih, 2008 ).

Turunan dalam sitem RES tersebut dikenal sebagai biliverdin yang kemudian dikeluarkan ke sirkulasi. Bilirubin di dalam plasma diikat oleh albumin

yang dikenal sebagai bilirubin indirek atau bilirubin I, sampai di hepar sebagian bilirubin I masuk kedalam sel, sedangkan yang lain tetap berada di sirkulasi tubuh melewati jantung, bilirubin yang masuk ke sel hepar dalam keadaan bebas, berikatan dengan asam glukuronida dan disebut dengan bilirubin II atau bilirubin terkonjugasi atau yang lebih dikenal dengan bilirubin direk. Bilirubin direk sebagian besar masuk ke dalam sirkulasi empedu dan sebagian lagi masuk ke dalam sirkulasi darah, sehingga dalam sirkulasi umum terdapat bilirubin I dan bilirubin II. Bilirubin I dalam keadaan normal <0,75 mg% dan bilirubin II <0,25mg%, dan total bilirubin tidak lebih dari 1 mg%. Bilirubin II yang memasuki jalur empedu akan terkumpul dalam kantong empedu dan akhirnya akan masuk kedalam usus. Bilirubin direk teroksidasi menjadi urobilinogen sampai dalam lumen usus, akibat flora usus ( Sutedjo.2009 ).

### **2.2.1. Jenis Bilirubin**

Bilirubin terbagi menjadi 2 jenis yaitu bilirubin indirek yang merupakan bilirubin yang belum mengalami konjugasi oleh hati dengan asam glukoronat dan bilirubin direk yang telah mengalami konjugasi dengan asam glukoronat di dalam hati. Pengukuran bilirubin di laboratorium untuk membedakan bilirubin direk dan indirek maka dilakukan juga pemeriksaan bilirubin total yang merupakan pengukuran total bilirubin direk dan indirek ( Wibowo, 2007 ).

#### **Rumus bilirubin:**

Bilirubin Total = Bilirubin Direk + Bilirubin Indirek

### 2.2.2. Sifat Bilirubin

Berdasarkan sifat bilirubin terdapat perbedaan antara bilirubin direk dan bilirubin indirek, perbedaannya adalah :

**Tabel 2. Perbedaan Bilirubin Indirek dan Direk**

<b>N0</b>	<b>Bilirubin Indirek</b>	<b>Bilirubin direk</b>
1.	Tidak larut dalam air	Larut dalam air
2.	Larut dalam alkohol	Tidak larut dalam alkohol
3.	Terikat oleh albumin	Tidak terikat oleh protein
4.	Tidak mewarnai jaringan	Mewarnai jaringan
5.	Dengan reagent Azo tidak bereaksi langsung perlu accelerator	Dengan reagent Azo langsung bereaksi, tidak accelerator
6.	Tidak terdapat dalam urine	Dapat ditemukan dalam urine
7.	Bilirubin yang belum dikonjugasi	Bilirubin yang dikonjugasi
8.	Tidak dapat difiltrasi oleh glomerulus	Dapat difiltrasi oleh glomerulus

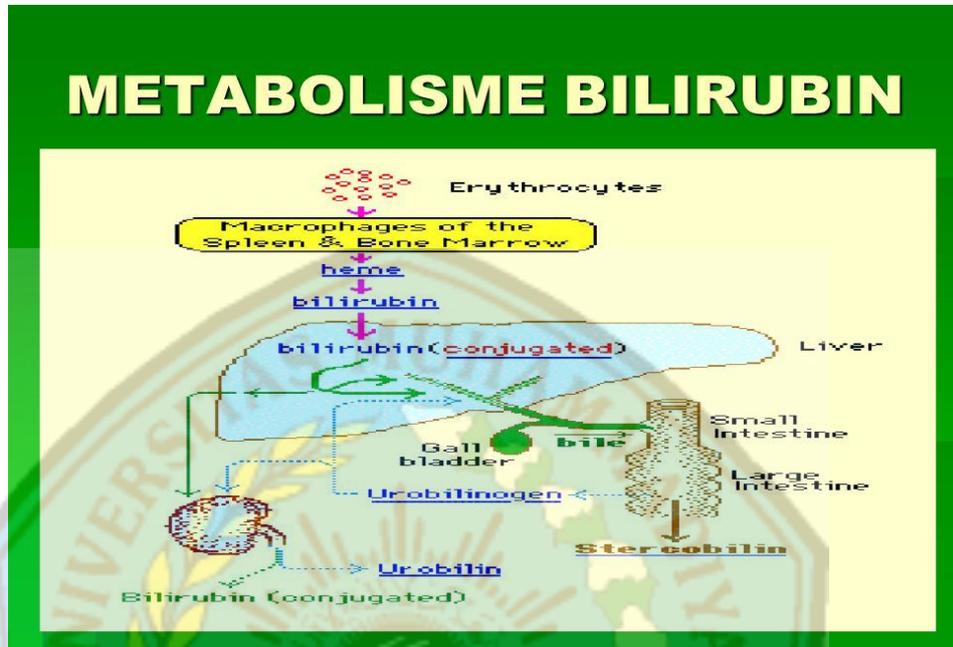
( Sumber : Sacher. Klinis Tinjauan Hasil Laboratorium. Jakarta 2004 )

### 2.2.3. Metabolisme Bilirubin

Metabolisme bilirubin diawali dengan rekasi proses pemecahan heme oleh enzim hemoksigenase yang mengunah biliverdin menjadi bilirubin oleh enzim reduksitase. Sel retikuloendotel membuat bilirubin tak larut air, bilirubin yang disekresikan kedalam darah diikat albumin untuk diangkut dalam plasma, dalam setiap 1 gr hemoglobin yang lisis akan membentuk 35 mg bilirubin. Bilirubin perhari dibentuk sekitar 250–350 mg pada seorang dewasa, berasal dari pemecahan hemoglobin, proses erythropoetik yang tidak efektif dan pemecahan hemprotein lainnya. Bilirubin dari jaringan retikuloendotel adalah bentuk yang sedikit larut dalam plasma dan air. Bilirubin ini akan diikat nonkovalen dan diangkut oleh albumin ke hepar. Bilirubin yang dapat diikat kuat pada albumin hanya lebih kurang 25 mg dalam 100 ml plasma. Bilirubin yang melebihi jumlah

ini hanya terikat longgar hingga mudah lepas dan berdiffusi ke jaringan. Bilirubin yang sampai di hati akan dilepas dari albumin dan diambil pada permukaan sinusoid hepatosit oleh suatu protein pembawa yaitu ligandin. Sistem transport difasilitasi ini mempunyai kapasitas yang sangat besar tetapi pengambilan bilirubin akan tergantung pada kelancaran proses yang akan dilewati bilirubin berikutnya. Bilirubin nonpolar akan menetap dalam sel jika tidak diubah menjadi bentuk larut. Hepatosit akan mengubah bilirubin menjadi bentuk larut yang dapat diekskresikan dengan mudah ke dalam kandung empedu. Proses perubahan tersebut melibatkan asam glukuronat yang dikonjugasikan dengan bilirubin, dikatalisis oleh enzim bilirubin glukuronosiltransferase. Hati mengandung sedikitnya dua isoform enzim glukuronosiltransferase yang terdapat terutama pada retikulum endoplasma. Reaksi konjugasi ini berlangsung dua tahap, memerlukan UDP asam glukuronat sebagai donor glukuronat. Tahap pertama akan membentuk bilirubin monoglukoronida sebagai senyawa antara yang kemudian dikonversi menjadi bilirubin diglukoronida yang larut pada tahap kedua. Bilirubin sebagian besar berasal dari pemecahan hemoglobin (sekitar 230 mg/hari), diambil oleh sel hati dan diikat oleh glukuronil transferase untuk membentuk bilirubin monoglukoronid dan bilirubin diglukoronid. Bilirubin terkonjugasi yang larut dalam air ini akan diekresikan ke dalam kanalikuli biliaris dan 85% diekresikan ke dalam feses, sisanya (15%) akan diglukuronase dan diabsorpsi di usus untuk rekurkusilasi enterohepatik. Konsentrasi bilirubin plasma yang normal adalah maksimal  $17 \mu\text{mol/L}$  (1 mg/dL), jika meningkat lebih dari

30  $\mu\text{mol/L}$ , sklera menjadi kuning dan jika konsentrasinya semakinmeningkat, kulit akan juga berubah menjadi kuning ( Wibowo,S.2007 ).



Gambar 2. Metabolisme Bilirubin ( Sumber : Wibowo, 2007 ).

#### 2.2.4. Ekskresi Bilirubin

Bilirubin direk diekskresikan ke usus dan sebagian dikeluarkan dalam bentuk bilirubin usus, misalnya pada pemberian makanan yang agak terlambat atau hal-hal lain maka oleh pengaruh enzim glukoronidasi, bilirubin sebagian diubah menjadi bilirubin indirek yang kemudian diserap ke sirkulasi darah. Bilirubin ini kemudian diangkut ke hepar untuk diproses lagi. Sirkulasi ini disebut sirkulasi enterohepatik. Sebagian bilirubin pada janin yang diserap kembali diekskresikan melalui plasenta. Bilirubin pada bayi baru lahir ekskresi melalui plasenta terputus, karena itu bila fungsi hepar belum matang atau terdapat gangguan dalam fungsi akibat hipoksia, asidosis atau bila terdapat kekurangan enzim glukoronil tranverase atau kekurangan glukosa, maka kadar bilirubin indirek dalam darah

dapat meninggi. Bilirubin indirek yang terikat pada albumin sangat tergantung pada kadar albumin dan serum. Kadar albumin pada bayi dimana biasanya rendah dapat dimengerti bila kadar bilirubin indirek yang bebas ini dapat berbahaya karena bilirubin bebas inilah yang dapat melekat pada sel. Sel otak inilah yang menjadi dasar pencegahan ikterus dengan pemberian albumin atau plasma, bila kadar bilirubin indirek mencapai 20 mg% pada umumnya kapasitas maksimal pengikat bilirubin oleh bayi baru lahir yang mempunyai kadar albumin normal telah tercapai ( Wibowo, S. 2007 ).

#### **2.2.5. Patologi**

Kadar bilirubin dalam serum dipengaruhi oleh metabolisme hemoglobin, fungsi hati dan kejadian-kejadian pada saluran empedu. Bilirubin akan terbentuk lebih banyak apabila destruksi eritrosit bertambah, mungkin menyebabkan bilirubin prehepatik naik sedikit, tetapi hati normal mempunyai daya ekskresi yang cukup besar, sehingga peningkatan bilirubin dalam serum tidak terlalu tinggi. Bilirubinemia tidak pernah lebih tinggi dari 4 atau 5 mg/dl kalau sebabnya hanya hemolisis saja. Fungsi hati yang lemah menyebabkan kenaikan kadar bilirubin dalam serum yang mengesankan ( cukup tinggi ). Uptake atau konjugasi yang kurang pada sel-sel hati mungkin menyebabkan kadar bilirubin indirek meningkat, melemahnya ekskresi bilirubin konjugat mendatangkan kadar bilirubin post hepatic meningkat. Konjugat bilirubin bersifat larut air dan mudah menembus filter glomeruli, bilirubin berbalik arah kembali ke aliran darah jika ada obstruksi saluran empedu dalam jaringan hati, pada saluran hepatic, kantong

empedu dan ductus choledochus. Disfungsi hepatoseluler yang sedang derajatnya menghambat penyaluran bilirubin konjugat ke dalam ductus colligentis, kadar bilirubin direk dalam darah dapat meningkat pada penyakit hepatoseluler, meskipun saluran-saluran empedu dapat dilalui dengan bebas. Pasien menderita ikterus apabila kadar bilirubin direk atau indirek sampai 2-4 mg/dl, yakni menguningnya kulit, selaput lendir dan sklera ( Joyce, 2007 ).

### 2.3. Ikterus

Ikterus adalah perubahan warna kulit, sklera mata atau jaringan lainnya (membran mukosa) yang menjadi kuning karena pewarnaan oleh bilirubin yang meningkat kadarnya dalam sirkulasi darah. Ikterus terjadi apabila terdapat akumulasi bilirubin dalam darah, sehingga kulit dan atau sklera tampak kekuningan. Ikterus pada orang dewasa akan tampak apabila serum bilirubin  $> 2$  mg/dL (  $>17 \mu\text{mol/L}$  ), sedangkan pada neonatus baru tampak apabila serum bilirubin  $> 5$  mg/dL (  $>86 \mu\text{mol/L}$  ). Hiperbilirubinemia adalah istilah yang dipakai untuk ikterus setelah ada hasil laboratorium yang menunjukkan peningkatan kadar serum bilirubin. Ikterus dapat dibedakan menjadi beberapa bentuk :

1. Ikterus hepatic terjadi akibat peningkatan pembentukan bilirubin, misalnya pada hemolisis ( anemia hemolitik dantoksin ) eritropoisis yang tidak adekuat (misalnya anemia megalosblastik ), tranfusi masif ( eritrosit ) yang ditransfusikan mempunyai masa hidup singkat atau penyerapan hematoma

yang besar. Bilirubin tidak terkonjugasi didalam plasma akan meningkat pada semua kondisi ini.

2. Ikterus intrahepatik disebabkan oleh defek spesifik pada ambilan bilirubin disel hati ( sindrom Gilbert Meulengracht ), konjugasi ( ikterus neonatorum dan sindrom Crigler-Najar ) atau sekresi bilirubin dikanalikuli biliaris. Kedua jenis kelainan yang pertama, terutama terjadi peningkatan pada bilirubin plasma yang tidak terkonjugasi, sedangkan pada tipe sekresi, bilirubin terkonjugasi yang akan meningkat. Ketiga langkah tersebut dapat dipengaruhi pada penyakit dan gangguan hati, misalnya hepatitis virus, penyalahgunaan alkohol efek samping obat, kongesti hati, sepsis, atau keracunan jamur Amanita.
3. Ikterus paska hepatic, duktus biliaris ekstrahepatik tersumbat, terutama oleh batu empedu, tumor, atau kolangitis dan pankreatitis. Bilirubin terkonjugasi terutama meningkat pada kondisi ini.

### **2.3.1. Diagnosis Ikterus**

Diagnosis ditegakkan berdasarkan gejala. Hiperbilirubinemia secara klinis terlihat sebagai gejala ikterus, yaitu pigmentasi kuning pada kulit dan sklera. Ikterus biasanya baru dapat dilihat kalau kadar bilirubin serum melebihi 34 hingga 43  $\mu\text{mol/L}$  ( 2,0 hingga 2,5 mg/dL ) atau sekitar dua kali batas atas kisaran normal. Gejala ini dapat terdeteksi dengan kadar bilirubin yang lebih rendah pada pasien yang kulitnya putih dan yang menderita anemia berat. Gejala ikterus sering tidak terlihat jelas pada orang-orang yang kulitnya gelap atau yang menderita edema. Jaringan sklera kaya dengan elastin yang memiliki afinitas yang tinggi

terhadap bilirubin, sehingga ikterus pada sklera biasanya merupakan tanda yang lebih sensitif untuk menunjukkan hiperbilirubinemia daripada ikterus yang menyeluruh. Tanda dini yang serupa untuk hiperbilirubinemia adalah warna urin yang gelap, yang terjadi akibat ekskresi bilirubin lewat ginjal dalam bentuk bilirubin glukuronid.

#### **2.4. Fotometer**

Fotometer berasal dari kata foto yang berarti cahaya dan meter yang berarti ukuran. Fotometer adalah alat untuk mengukur intensitas cahaya. Cahaya terbagi menjadi 3 golongan, yaitu :

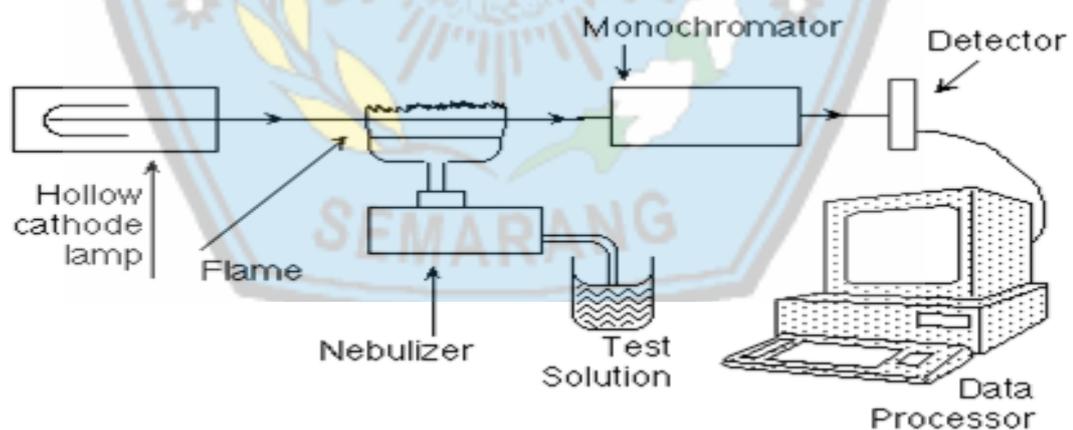
1. Cahaya tampak ( visible light ). Cahaya ini dapat dilihat langsung oleh mata dengan panjang gelombang 400-700 nm.
2. Ultra Violet ( UV ). Cahaya ini tidak dapat dilihat langsung oleh mata dengan panjang gelombang 280-400 nm. UV A memiliki panjang gelombang 300-400 nm, sedangkan UV B memiliki panjang gelombang 280-315 nm.
3. Inframerah ( Infrared/IR ). Cahaya ini juga tidak dapat dilihat oleh mata. Inframerah memiliki panjang gelombang  $> 700$  nm. Inframerah dekat memiliki panjang gelombang 700-3000 nm, sedangkan inframerah jauh memiliki panjang gelombang  $>3000$  nm.

Fotometer juga terbagi menjadi tiga, selain dari cahaya, yaitu:

1. Fotometer filter ( filter photometer ). Pengamatan hanya dilakukan pada range panjang gelombang tertentu dengan menggunakan filter spektrum. Filter

menyerap spektrum warna, kecuali spektrum yang akan digunakan berupa kaca berwarna.

2. Spektrofotometer, menggunakan prisma untuk mengurai sinar polikromatis dan spektrum yang ( monokromatis ) dilewatkan melalui suatu celah ( split ) yang bisa diatur.
3. Fotometer nyala ( flame photometer ). Pengukuran yang dilakukan pada pada cahaya nyala dari suatu zat melalui dispersi atom melalui proses pembakaran. Prinsip pengukuran adalah energi cahaya yang akan dirubah menjadi energi listrik oleh fotosel. Energi listrik yang dihasilkan akan dicatat oleh recorder yang besarnya akan sebanding dengan kuat lemahnya sinar atau cahaya yang masuk.



Gambar 3. Skema jalan sinar pada fotometer ( Sumber : Panil, 2008 ).

### **2.4.1. Prinsip Pengukuran**

Penggunaan fotometer dalam kimia klinik untuk pengukuran secara fotometri sangat banyak dan hampir semua pemeriksaan kimia darah selalu menggunakan fotometer untuk menentukan kadar suatu zat terlarut dalam serum. Fotometri merupakan teknik pengukuran menggunakan sinar, yang diukur adalah penyerapan sinar atau pelemahan sinar yang diberikan akibat interaksi reaksi antara sinar dengan panjang gelombang tertentu dilewatkan pada larutan zat warna yang akan ditentukan kadarnya. Penyerapan disini biasanya disebut absorpsi dan nilainya berupa absorben dalam angka desimal. Absorpsi dan transmisi sinar berbanding terbalik, semakin tinggi absorpsi maka semakin rendah nilai transmisi sinar yang diterima. Transmisi sinar biasanya disebut transmitted dan nilainya berupa transmittan dalam persen ( % ). Bilirubin total bereaksi dengan dichloaniline diazotized membentuk warna merah coloren azocompound didalam suasana asam. Detergen merupakan salah satu campuran yang menstabilkan penentuan kadar bilirubin total.

### **2.5. Pemeriksaan Laboratorium**

Laboratorium klinik sebagai salah satu bagian pelayanan kesehatan menempati posisi penting dalam diagnosis invitro. Beberapa alasan mengapa pemeriksaan laboratorium itu diperlukan, yaitu : skrining, diagnosis, pemantauan progresifitas penyakit, monitoring pengobatan dan prognosis penyakit. Laboratorium harus dapat memberikan data hasil pemeriksaan yang teliti cepat dan tepat. Proses pengendalian mutu laboratorium dikenal ada 3 tahap penting

yaitu praanalitik, analitik dan pasca analitik. Kesalahan pada proses pra analitik dapat memberikan kontribusi 61% dari total kesalahan sementara kesalahan pada tahap analitik memberikan kontribusi kesalahan 25% dari total kesalahan dan pada tahap pasca analitik sebesar 14%. Proses pra analitik meliputi persiapan pasien, pengambilan spesimen, pengiriman spesimen, penanganan spesimen, dan penyimpanan spesimen. Bentuk-bentuk kesalahan dalam antara lain :

1. Kesalahan kasar

Kesalahan ini terjadi karena kurang hati-hati, kurang pengalaman, dan kurang perhatian dari orang yang melakukan pengukuran tersebut. Kesalahan ini tidak boleh terjadi dan apabila diketahui ada kesalahan kasar maka segera ulangi kembali proses pengukurannya, sebagai contoh dari kesalahan pengukuran kasar adalah salah baca, salah mencatat, dan salah dengar. Untuk menghindari kesalahan kasar pengukuran, maka pengukuran dilakukan lebih dari satu kali, pengukuran menggunakan model dan teknik tertentu, dan pengukuran dilakukan oleh 2 orang atau lebih sebagai pembanding dan pengawas.

2. Kesalahan acak

Kesalahan acak adalah kesalahan dalam pengukuran yang mengarah pada nilai-nilai terukur yang tidak konsisten ketika berulang ukuran atribut konstan atau kuantitas yang diambil. Kata acak menunjukkan bahwa mereka secara inheren tidak terduga dan memiliki nilai yang diharapkan nol, yaitu mereka tersebar tentang nilai sebenarnya dan cenderung memiliki aritmatika nol berarti bila pengukuran diulang beberapa kali dengan instrumen yang

sama. Semua pengukuran rentan terhadap kesalahan acak. Kesalahan acak yang disebabkan oleh fluktuasi tak terduga dalam pembacaan alat pengukuran atau dalam penafsiran eksperimen terhadap pembacaan instrumen, fluktuasi ini mungkin sebagian karena gangguan dari lingkungan dengan proses pengukuran. Konsep kesalahan acak berkaitan erat dengan konsep presisi. Semakin tinggi ketepatan instrumen pengukuran, semakin kecil variabilitas ( standar deviasi ) dari fluktuasi pembacaannya. Kesalahan acak selalu hadir dalam pengukuran, hal ini disebabkan oleh fluktuasi inheren tak terduga dalam pembacaan alat pengukuran atau penafsiran eksperimen terhadap pembacaan instrumental. Kesalahan ini menyebabkan hasil sampel yang sama jika diperiksa berulang-ulang dan tidak akan memberikan hasil yang sama, pasti ada perbedaan. Kesalahan ini disebut *imprecision*. Kesalahan acak susah untuk dihilangkan, hanya dapat ditekan sekecil mungkin. Kesalahan hanya dapat diterima jika dalam batas toleransi yang nilainya ditetapkan berdasarkan kepentingannya.

### 3. Kesalahan Sistemik

Penyimpangan hasil dari nilai target atau nilai rata-rata bersifat searah, seperti nilai keseluruhan yang meninggi atau nilai seluruhnya merendah, hal ini terjadi pada kesalahan ukuran yang telah menyimpang pada prosedur kerja. Kesalahan sistemik ( *systematic error* ) menunjukkan tingkat ketepatan ( akurasi ) pemeriksaan. Hasil pemeriksaan selalu lebih besar atau selalu lebih kecil dari nilai seharusnya. Kesalahan sistemik umumnya disebabkan oleh hal-hal berikut ini:

- a. Spesifitas reagen atau metode pemeriksaan rendah ( mutu rendah )
- b. Blangko sampel dan blangko reagen kurang tepat ( kurva kalibrasi tidak linier )
- c. Mutu reagen dan kalibrasi kurang baik
- d. Alatbantu ( pipet ) yang kurang akurat
- e. Panjang gelombang yang dipakai

### **2.5.1. Serum**

Serum merupakan sejumlah darah yang tertampung dalam tabung jika dibiarkan selama 15 menit akan mengalami proses pemisahan atau pembekuan akibat terperasnya cairan dari dalam bekuan, selanjutnya disentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 5-10 menit. Lapisan jernih kuning muda dibagian atas merupakan bentuk serum. Fibrinogen dalam proses bekuan darah diubah menjadi fibrin, maka serum sudah tidak mengandung fibrinogen tetapi masih mengandung zat-zat lain didalamnya. Serum sering digunakan untuk pemeriksaan kimiawi, karena serum mengandung air, protein, enzim, hormon, antigen, oksigen dan karbondioksida. Kandungan lain merupakan bahan organik yaitu glukosa, lemak, urea, kreatinin, asam urat, asam amino, dan kolesterol ( Sacher,2004 ).

### **2.5.2. Faktor-faktor yang mempengaruhi hasil pemeriksaan**

Spesimen akan selalu berhubungan langsung dengan faktor luar dan dalam pada pemeriksaan bilirubin total, hal ini erat sekali dengan kestabilan spesimen yang akan diperiksa, sehingga dalam pemeriksaan tersebut harus memperhatikan

faktor–faktor yang mempengaruhi stabilitas kadar bilirubin total dalam spesimen tersebut. Faktor–faktor yang dapat mempengaruhi stabilitas spesimen untuk pemeriksaan bilirubin total berupa faktor dari luar dan dalam.

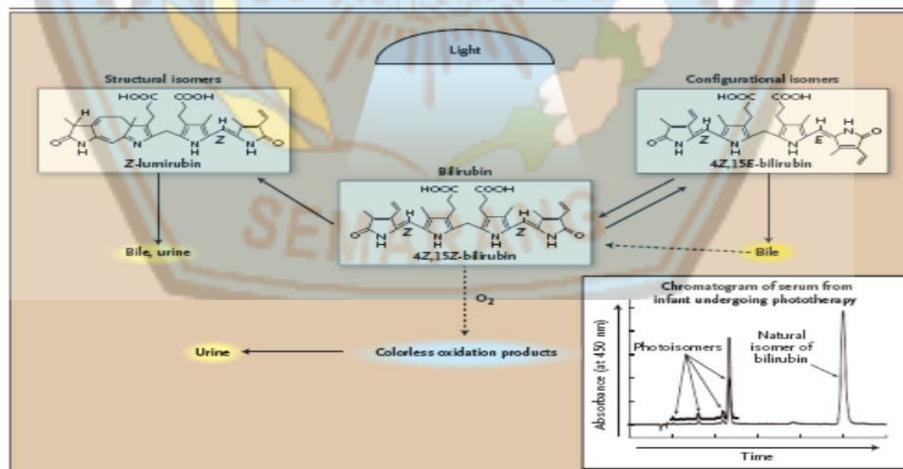
### **2.5.2.1. Faktor Luar**

#### **a. Cahaya lampu**

Cahaya adalah energi dalam bentuk gelombang elektromagnetik yang kasat mata dengan panjang gelombang sekitar 380-750 nm. Cahaya dapat dihasilkan oleh bermacam – macam sumber cahaya salah satunya lampu. Cahaya yang mengenai benda akan dipantulkan sehingga kita bisa melihat benda tersebut. Oleh sebab itu kita memerlukan cahaya untuk dapat melihat. Benda-benda yang ada di sekitar kita dapat kita lihat apabila ada cahaya yang mengenai benda tersebut, dan cahaya yang mengenai benda tersebut dipantulkan oleh benda ke mata. Cahaya dapat menembus benda bening yang memungkinkan cahaya matahari dapat menembus permukaan air yang jernih, sehingga tanaman yang hidup di dasar air dapat tetap tumbuh dengan baik. Sifat cahaya yang dapat menembus benda bening ini dapat dimanfaatkan orang untuk membuat berbagai peralatan misalnya kacamata, akuarium, kaca mobil, dan termometer. Sifat cahaya pada benda gelap adalah tidak tembus cahaya yaitu benda yang tidak dapat meneruskan cahaya yang diterimanya dan dapat meneruskan sebagian dari cahaya yang diterimanya ( David Pritchard, 1997 ).

Pengaruh cahaya lampu terhadap penurunan kadar bilirubin pertama sekali diperkenalkan oleh Cremer, pada tahun 1958. Sinar matahari atau lampu secara

langsung dapat menyebabkan penurunan kadar bilirubin 50% dalam satu jam dan pengukuran bilirubin total hendaknya dikerjakan dalam waktu 2 hingga 3 jam setelah pengumpulan spesimen. Spesimen yang dilakukan penundaan pemeriksaan disimpan ditempat gelap atau tabung spesimen dibungkus kertas hitam pada suhu yang rendah untuk menjaga kestabilannya. Molekul-molekul bilirubin yang terpapar sinar akan mengalami reaksi fotokimia yang relatif cepat menjadi isomer konfigurasi, dimana cahaya akan merubah bentuk molekul bilirubin dan bukan mengubah struktur bilirubin. Bentuk bilirubin 4Z dan 15Z akan berubah menjadi bentuk menjadi 4Z dan 15E yaitu bentuk isomer nontoksik yang bisa diekskresikan. Isomer bilirubin ini mempunyai bentuk yang berbeda dari isomer asli, lebih polar dan bisa diekskresikan dari hati ke dalam empedu tanpa mengalami konjugasi atau membutuhkan pengangkutan khusus untuk ekskresinya. Bentuk isomer ini mengandung 20% dari jumlah bilirubin serum.



Gambar 4. Reaksi Isomerisasi Pada Proses Fototerapi

( Sumber: Speicherdkk., 1999 ).

Tindakan yang dilakukan untuk menghindari pengaruh cahaya lampu di dalam laboratorium maupun di luar laboratorium pada saat proses pengambilan spesimen perlu dilakukan pembungkusan pada tabung spesimen sehingga spesimen tidak terpapar oleh cahaya lampu secara langsung ( Speicher dkk.1999 ).

a. Suhu penyimpanan

Suhu merupakan faktor luar yang selalu berhubungan langsung terhadap spesimen, baik saat pengambilan transportasi maupun saat pemeriksaan. Pemeriksaan kadar bilirubin total sebaiknya diperiksa segera, tapi dalam keadaan tertentu pemeriksaan kadar bilirubin total bisa dilakukan penyimpanan. Stabilitas serum dengan penyimpanan yang benar masih stabil dalam waktu satu hari bila disimpan pada suhu 15 °C-25°C, empat hari pada suhu 2°C-8°C, dan tiga bulan pada penyimpanan -20°C.

Lamanya spesimen kontak dengan faktor-faktor di atas berpengaruh terhadap kadar bilirubin didalam spesimen sehingga perlu upaya mengurangi pengaruh tersebut serta mengoptimalkan kadar bilirubin total di dalam serum agar dapat bereaksi dengan zat pereaksi secara sempurna, sedangkan reagen bilirubin total akan tetap stabil berada pada suhu 2-8°C dalam keadaan tertutup, terhindar dari kontaminan dan cahaya. Penurunan kadar bilirubin dalam hal ini dapat dimungkinkan dipengaruhi oleh kenaikan suhu dan pengaruh cahaya yang berintensitas tinggi.

b. Tabung vakum

Tabung vakum merupakan tempat penampungan spesimen, agar mudah untuk melakukan pemeriksaan. Tabung vakum yang digunakan di Rumah

Sakit Panti Wilasa Dr.Cipto adalah tabung vakum dengan gel ( tutup kuning ) berbahan plastik yang tembus cahaya. Berdasarkan sifat cahaya yang dapat menembus benda bening, maka pemeriksaan harus dilakukan segera / tanpa penundaan. Cara lain untuk mengatasi adanya cahaya yang tembus kedalam tabung vakum adalah dengan membungkus dengan kertas hitam atau gelap.

#### **2.5.2.2. Faktor Dalam**

Peningkatan kadar bilirubin menurut ( Joyce, 2007 ) yang berlebih dapat disebabkan oleh beberapa faktor antara lain :

##### **a. Hemolisis**

Hemolisis akibat inkompabilitas ABO atau isoimunisasi Rhesus, defisiensi G6PD, sferosit herediter dan pengaruh obat, infeksi, septicemia, sepsis, meningitis, infeksi intrauterine, polisitemia, extravasi sel darah merah, sefalhematom, konfusio, trauma lahir, ibu diabetes, sidosis, hipoksia atau afiksia, sumbatan trakfus digestif yang mengakibatkan peningkatan sirkulasi enterohepatik.

##### **b. Ikterik**

Peningkatan kadar bilirubin dapat terjadi akibat ikterik obstruktif, karena batu atau neoplasma empedu, hepatitis, sirosis hati, munonucleosis infeksiosa, metastasis hati, penyakit Wilson. Peningkatan kadar bilirubin selain terjadi akibat penyakit dapat pula terjadi akibat penggunaan obat, misalnya antibiotik ( amfoterisin B, klindamisin, eritrimisin, gentamisin, linkomisin, oksalisin, tetrasiklin )

sulfonamide, obat anti tuberculosis ( asam paraaminosalisilat, isoniazid ), alupurinol, diuretik ( asetazolamid, asametakrinat ), mitramisis, dextran, diazepam, barbiturat, narkotik ( kodein, morfin, meperidin, flurazepam, indometazin, metotekrat, metildolpa, steroid ), kontrasepsi oral, torbutamid, serta vitamin A,C dan K ( Joyce, 2007 ).

Berdasarkan penjelasan diatas tentang faktor yang mempengaruhi bilirubin, sehingga dalam pemeriksaan perlu penanganan spesimen dengan baik salah satunya dengan menjaga kualitas spesimen, sehingga perlu pengendalian terhadap pemeriksaan dengan menghindari faktor-faktor pengganggu agar mendapatkan hasil akurat dan dapat dipercaya ( Hardjoedo, 2003 ).

## **2.6. Metabolisme Penundaan Pemeriksaan Bilirubin Total**

Bilirubin ( bahasa Inggris: bilirubin, hematoidin ) adalah senyawa pigmen berwarna kuning yang merupakan produk katabolisme enzimatik biliverdin oleh biliverdin reduktase. Oksidasi bilirubin menghasilkan biliverdin kembali, hingga memberikan atribut antioksidan pada senyawa ini dalam fisiologi seluler selain *Glutathione* ( GSH ). Sekitar 20% bilirubin berasal dari perombakan zat-zat lain. Sel retikuloendotel membuat bilirubin tidak larut dalam air, bilirubin yang disekresikan dalam darah harus diikatkan kepada albumin untuk diangkut dalam plasma menuju hati, kemudian hepatosit di dalam hati melepaskan ikatan itu dan mengkonjugasinya dengan asam glukoronat sehingga bersifat larut air. Proses konjugasi ini melibatkan enzim glukoroniltransferase ( Sutedjo, 2009 ).

Sel retikuloendotel membuat bilirubin tidak larut dalam air, bilirubin yang disekresikan dalam darah harus diikat dengan albumin untuk diangkut dalam plasma menuju hati. Hepatosit melepaskan ikatan dan mengkonjugasikannya dengan asam glukoronat sehingga bersifat larut air sehingga disebut bilirubin direk atau bilirubin terkonjugasi. Proses konjugasi melibatkan enzim glukoroniltransferase, selain dalam bentuk diglukoronida dapat juga dalam bentuk monoglukoronida atau ikatan dengan glukosa, xyloza dan sulfat. Bilirubin terkonjugasi dikeluarkan melalui proses energi ke dalam system bilier. ( Sutedjo, 2009 ).

Kandungan cahaya matahari atau lampu yang dapat menurunkan kadar bilirubin adalah sinar biru. Mekanisme ini diawali bilirubin menyerap energi cahaya melalui fotoisomerisasi yaitu mengubah bilirubin bebas yang bersifat toksik menjadi isomernya dengan terjadi reaksi kimia. Fototerapi dapat memecah bilirubin menjadi dipirol yang tidak toksis dan diekskresikan dari tubuh melalui urine dan feses. Cahaya yang dihasilkan oleh lampu menyebabkan reaksi fotokimia dalam ( fotoisomerisasi ) yang mengubah bilirubin tak terkonjugasi ke dalam fotobilirubin, kemudian diekskresikan di dalam hati kemudian ke empedu, produk akhir reaksi adalah reversible dan diekskresikan ke dalam empedu tanpa perlu konjugasi. Energi sinar dari foto terapi mengubah senyawa 4Z-15Z bilirubin menjadi senyawa bentuk 4Z-15E bilirubin yang merupakan bentuk isomernya yang mudah larut dalam air. Sinar biru yang merupakan kandungan dalam sinar lampudapat mengikat bilirubin bebas sehingga mengubah sifat molekul bilirubin bebas yang semula terikat dalam lemak yang sukar larut dalam air diubah menjadi

mudah larut dalam air sehingga mengurangi konsentrasi bilirubin dalam serum.

Pengaruh cahaya lampu terhadap bilirubin dapat dijelaskan sebagai berikut :

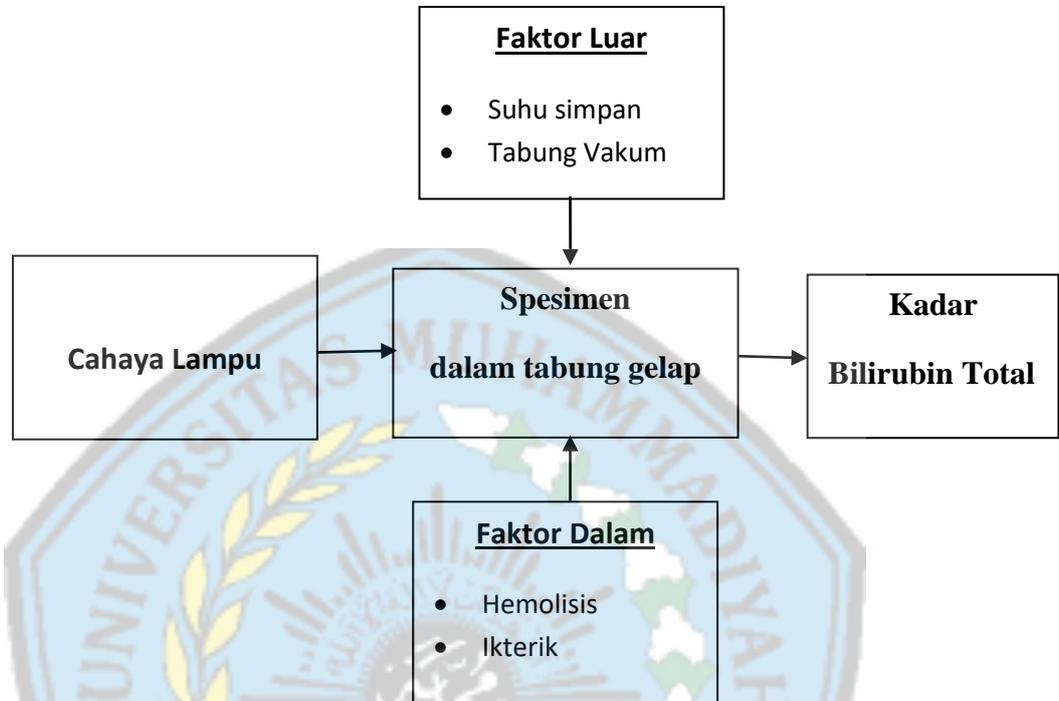
- a. Mengubah bilirubin menjadi bentuk yang mudah larut dalam air untuk diekskresikan melalui empedu atau urin, melalui reaksi isomerisasi.
- b. Terdapat konversi ireversibel menjadi isomer kimia lainnya bernama lumirubin yang dengan cepat dibersihkan dari plasma melalui empedu. Lumirubin adalah produk terbanyak degradasi bilirubin akibat cahaya lampu.
- c. Sejumlah kecil bilirubin plasma tak terkonjugasi diubah oleh cahaya menjadi dipyrole yang diekskresikan lewat urin. Fotoisomer bilirubin lebih polar dibandingkan bentuk asalnya dan secara langsung bisa diekskresikan melalui empedu dari empedu, kemudian diekskresi ke dalam deodenum untuk dibuang bersama feses tanpa proses konjugasi oleh hati ( Avery & Taeusch, 1984 ).

## **2.7. Pengelolaan Spesimen**

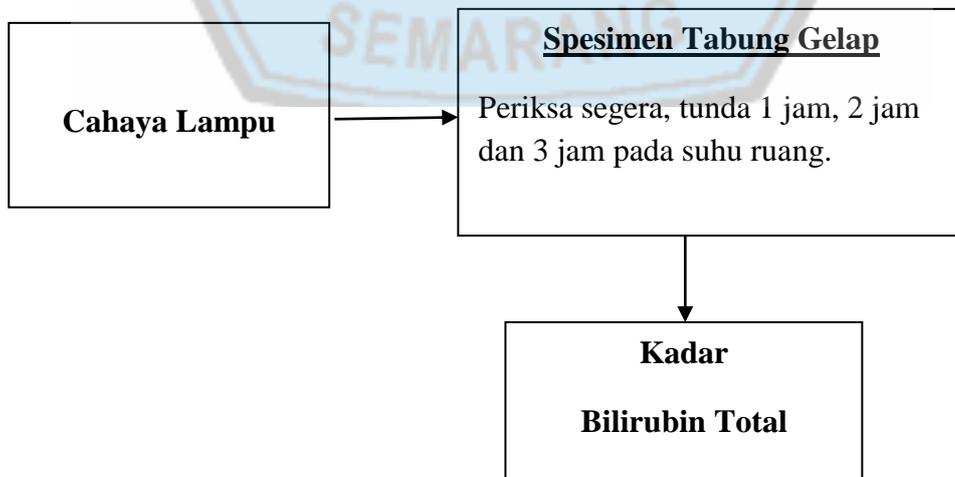
Pengelolaan spesimen untuk pemeriksaan laboratorium merupakan salah satu dari serangkaian proses pemeriksaan laboratorium. Pengelolaan spesimen harus dilakukan sesuai kaidah yang benar supaya spesimen memenuhi syarat untuk diperiksa. Upaya mempertahankan kondisi dan kestabilan spesimen dari pengaruh cahaya lampu adalah tabung spesimen yang digunakan untuk menampung spesimen dibungkus menggunakan plester hitam. Tabung spesimen yang dibungkus menggunakan plester hitam disebut tabung gelap. Plester hitam digunakan untuk membungkus atau menutup tabung spesimen karena mudah

diperoleh dan cara penggunaannya lebih cepat dan mudah, sehingga ketika jumlah pengambilan spesimen banyak tidak akan merepotkan petugas dibandingkan dengan menggunakan kertas karbon atau alumunium foil. Kandungan sinar lampu yang dapat memberikan pengaruh menurunkan kadar bilirubin adalah sinar biru, hal ini diawali dengan bilirubin menyerap energi cahaya dalam bentuk kalor, yang melalui fotoisomerisasi mengubah bilirubin bebas yang bersifat toksik melalui isomer-isomernya yaitu terjadi reaksi kimia. Sinar biru yang merupakan kandungan sinar lampu tersebut dapat mengikat bilirubin bebas sehingga merubah sifat molekul bilirubin bebas yang semula terikat dalam lemak yang sukar larut dalam air diubah menjadi mudah larut dalam air, sehingga mengurangi konsentrasi bilirubin dalam serum. Pemeriksaan bilirubin total harus segera diperiksa, hal ini disebabkan sifat bilirubin yang mudah berubah bila terpapar cahaya lampu ( Puspitosari,dkk.2013 )

## 2.8. Kerangka Teori



## 2.9. Kerangka Konsep



### **3.0. Hipotesa**

Berdasarkan landasan teori yang ada, dapat disusun hipotesa dalam penelitian ini yaitu “tidak ada pengaruh cahaya lampu terhadap kadar bilirubin total spesimen tabung gelap dengan penundaan 1, 2, dan 3 jam pada suhu ruang”

