

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Darah

Darah merupakan bagian penting dalam tubuh. Darah berfungsi sebagai pembawa oksigen dari paru-paru ke jaringan dan karbon dioksida dari jaringan ke paru-paru untuk dikeluarkan, membawa zat nutrien dari saluran cerna ke jaringan kemudian menghantarkan sisa metabolisme melalui organ sekresi seperti ginjal, menghantarkan hormon dan materi pembekuan darah (Sadikin, 2004).

Darah membentuk sekitar 8% berat tubuh total dan memiliki volume rata-rata 5 liter pada wanita dan 5,5 liter pada pria. Darah berwarna merah terang apabila mengandung banyak oksigen, berwarna merah tua apabila kekurangan oksigen. Keberadaan darah sangat penting karena terdapat mekanisme yang dapat memperkecil kehilangan darah bila terjadi kerusakan pembuluh darah. Tanpa darah, manusia tidak dapat melawan infeksi atau kuman penyakit dan bahan-bahan sisa yang dihasilkan tubuh tidak dapat dibuang (Evelyn, 2009). Darah dibagi menjadi 2 bagian besar, yaitu : Plasma darah dan Serum. Plasma darah merupakan cairan darah berwarna kekuning-kuningan yang mengandung 90% air dan zat-zat terlarut (protein, albumin, globulin, fibrinogen, dan protombin). Plasma ditambahkan antikoagulan untuk mencegah pembekuan dengan cara mengikat kalsium, kemudian langsung dicentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit sehingga sel-sel darah terpisah dari darah. Serum merupakan cairan yang tersisa setelah darah dibiarkan menggumpal di dalam tabung, akibat proses bekuan. Darah yang telah menggumpal kemudian dicentrifuge dengan

kecepatan 3000 rpm selama 15 menit. Serum berada di bagian atas, lapisan jernih berwarna kuning muda. Darah juga mengandung protein, air, mineral, dan bahan organik (Chandrasoma, 2005).

## **2.2. Protein**

Protein sebagai salah satu makronutrisi yang memiliki peranan penting dalam pembentukan biomolekul. Protein merupakan makromolekul yang menyusun >50% bagian sel. Protein menentukan ukuran, struktur sel, dan komponen utama dari enzim yaitu biokatalisator berbagai reaksi metabolisme dalam tubuh (Mustika, 2012).

Protein merupakan senyawa organik berbobot molekul besar yang merupakan polimer dari monomer-monomer asam amino yang saling terikat satu dengan lainnya yang dihubungkan oleh ikatan peptida serta mengandung unsur-unsur karbon, hidrogen, oksigen, nitrogen dan terkadang juga mengandung unsur-unsur lain seperti sulfur (Lubert, 2000). Protein mempunyai komposisi unsur kimia rata-rata yang ada di dalamnya yaitu karbon 52%, hidrogen 7%, oksigen 23%, nitrogen 16%, sulfur 1%, dan fosfor <1% (Sudarmadji, 2009).

### **2.2.1. Fungsi Protein**

#### **2.2.1.1. Fungsi Umum**

- a. Katalisis enzimatik, reaksi kimia yang ada dalam sistem biologi dikatalisis oleh enzim dan hampir semua enzim tersebut adalah protein.
- b. Transportasi dan penyimpanan, molekul-molekul kecil dan ion ditransport oleh protein spesifik, misalnya transportasi oksigen di dalam eritrosit oleh hemoglobin dan ditransportasi oksigen di dalam otot oleh mioglobin.

- c. Penunjang mekanisme, yaitu ketegangan kulit dan tulang disebabkan oleh kolagen yang merupakan protein fibrosa.
- d. Proteksi imun, antibodi merupakan protein yang spesifik dan dapat mengenal serta bercampur dengan benda asing seperti virus, bakteri dan organisme lainnya.
- e. Pengaturan pertumbuhan dan differensiasi, organisme tingkat tinggi pertumbuhan dan differensiasinya diatur oleh protein, misalnya faktor pertumbuhan saraf mengendalikan pertumbuhan jaringan saraf sehingga banyak hormon yang merupakan protein (Santoso, 2008).

#### **2.2.1.2. Fungsi Biologis**

Pembagian protein didasarkan pada fungsinya di dalam tubuh, antara lain : enzim (ribonuklease, tripsin), protein transport (hemoglobin, mioglobin, serum, albumin), protein nutrient dan penyimpan (gliadin/gandum, ovalbumin/telur, kasein/susu, feritin/jaringan hewan), protein kontraktil (aktin dan tubulin), protein struktural (kolagen, keratin, fibrin), protein pertahanan (antibodi, fibrinogen, dan trombin), protein pengatur (hormon insulin dan hormon paratiroid) (Satyanarayana, 2002).

#### **2.2.1.3. Fungsi berdasarkan daya larut**

- a. Albumin, larut dalam air dan mengendap dengan konsentrasi garam yang tinggi misalnya albumin telur dan albumin serum.
- b. Globulin Glutelin, tidak larut dalam air tetapi larut dalam larutan asam dan basa yang encer. Misalnya glutenin (gandum) dan orizenin (padi).

- c. Gliadin (prolamin), larut dalam etanol 70-80%, tidak larut dalam air dan etanol 100%. Misalnya gliadin (gandum) dan zein (jagung).
- d. Histon, bersifat basa dan cenderung berikatan dengan asam nukleat di dalam sel. Globin bereaksi dengan heme (senyawa asam menjadi hemoglobin). Tidak larut dalam air, garam encer dan pekat (jenuh 30-50%). Misalnya globulin serum dan lobulin telur.
- e. Protamin, larut dalam air dan bersifat basa serta dapat berikatan dengan asam nukleat menjadi nukleoprotamin (spema ikan) contoh salmin (Lubert, 2000).

### 2.2.2. Metabolisme Protein

Proses pencernaan memecah protein menjadi asam-asam amino yang kemudian masuk ke dalam aliran darah. Protein teroksidasi secara sempurna menjadi  $\text{CO}_2$  dan  $\text{H}_2\text{O}$  oleh tubuh menghasilkan energi sekitar 4 kkal/g (Marks & Smith, 2000). Bila kelebihan protein maka asam amino akan dipecah di dalam hati untuk mengeluarkan nitrogen, karbon, hidrogen, dan oksigen yang dapat digunakan untuk memproduksi panas dan energi (Lubert, 2000).

Protein yang tidak mencukupi, seperti pada kelaparan bukan hanya simpanan karbohidrat dan lemak yang akan habis dipakai tetapi protein dalam tubuh juga akan hilang dan menimbulkan pengecilan otot, misalnya pada penderita kwashiorkor (Roesli, 2008).

### **2.2.3. Akibat Kekurangan dan Kelebihan Protein**

#### **2.2.3.1. Akibat Kekurangan Protein**

##### **1. Kwashioskor**

Penyakit Kwashioskor lebih banyak terdapat pada usia dua hingga tiga tahun yang komposisi gizi makanannya tidak seimbang terutama dalam hal protein (Yuniastuti, 2008). Adapun gejala yang timbul akibat penyakit Kwashioskor diantaranya : pertumbuhan terhambat, otot-otot berkurang dan lemah, bengkak (edema) terutama pada perut dan tangan, serta nafsu makan berkurang (Widodo, 2009). Ciri-ciri penyakit Kwashioskor, yaitu :

- a. Rambut halus, jarang dan pirang kemerahan kusam
- b. Kulit tampak kering
- c. Perut anak membuncit karena pembesaran hati

##### **2. Marasmus**

Marasmus umumnya merupakan penyakit pada bayi (12 bulan pertama), karena terlambat diberi makanan tambahan. Marasmus adalah penyakit kelaparan yang terdapat pada kelompok social ekonomi rendah di sebagian besar negara berkembang dan lebih banyak dari kwashioskor (Yuniasuti, 2008).

#### **2.2.3.2. Akibat Kelebihan Protein**

Terlalu berlebihan mengkonsumsi protein juga akan sangat membebani kerja ginjal. Protein secara berlebihan tidak menguntungkan tubuh. Makanan yang tinggi proteinnya biasanya tinggi lemak sehingga menyebabkan obesitas. Kelebihan protein juga dapat menyebabkan dehidrasi, diare, kenaikan ammonia darah, kenaikan ureum darah dan demam (Ellya, 2010).

### 2.3. Metode Pemeriksaan

Adapun metode yang digunakan untuk mengukur kadar total protein, diantaranya :

#### a. Metode *Lowry*

Metode *lowry* merupakan pengembangan dari metode *Biuret*. Prinsip metode ini adalah kompleks Cu(II) dalam suasana alkalis akan tereduksi menjadi Cu (I). Ion Cu<sup>+</sup> kemudian akan mereduksi reagen Folin-Ciocalteu dan kompleks phospholibdat-phosphotungstat (phosphomolybdotungstate), menghasilkan hetero-polymolybdenum blue akibat reaksi oksidasi gugus aromatik (rantai samping asam amino) terkatalis oleh Cu, yang memberikan warna biru intensif yang dapat dideteksi secara kolorimetri (Sudarmanto, 2008). Metode *Lowry* menggunakan dua reagen yaitu reagen A yang terdiri dari campuran Folin-ciocalteu dengan Aquadest (1:1) dan reagen B terdiri dari campuran 50 ml larutan (2% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> + 0,1 N NaOH) + 1 ml larutan (1% CuSO<sub>4</sub> + 1% Sodium Pottasium Tartrat) dalam air (Goretti dan Purwanto, 2014).

#### b. Metode *Bradford*

Metode *Bradford* merupakan metode pengukuran konsentrasi total protein yang melibatkan pewarna *Coomassie Brilliant Blue* (CBB). CBB akan berikatan dengan protein pada sampel larutan dalam suasana asam. Absorbansi protein dapat diukur menggunakan spektrofotometri pada panjang gelombang 465-595 nm (Caprette, 2005).

c. Metode *Biuret*

Metode *Biuret* merupakan metode spektrofotometri yang menggunakan pereaksi biuret yaitu campuran R1 : *Sodium hydroxide, Potassium sodium tartrate* dengan R2 : *Sodium hydroxide, Potassium sodium tartrate, Potassium Iodide, Copper Sulphate*. Metode *Biuret* adalah metode yang biasa digunakan untuk penetapan kadar protein dibidang kesehatan (Isaac, 1990). Prinsip metode ini yaitu ion-ion tembaga (Cu) dalam suasana alkalis akan membentuk senyawa kompleks yang berwarna ungu dan intensitas warnanya diukur dengan fotometer, menggunakan panjang gelombang 540–560 nm (Suryanto & Banundari, 2001). Photometer yang digunakan adalah photometer 4010 dengan panjang gelombang 546 nm, program C/St, dan faktor 005,0.

**2.4. Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Hasil Pemeriksaan**

**2.4.1. Kondisi Pasien**

- a. Usia, kadar total protein normal cenderung menurun dengan adanya penambahan usia.
- b. Ukuran dan komposisi tubuh, obesitas mempunyai metabolisme energi (jaringan aktif) yang rendah dibandingkan orang yang kurus sehingga kadar total protein pada orang yang obesitas cenderung lebih tinggi dibandingkan dengan orang yang kurus.
- c. Aktivitas Fisik, aktivitas fisik yang berat dapat menurunkan kadar total protein karena banyaknya energi yang keluar (Kusharto & Suhardjo, 2010).

#### 2.4.2. Kesalahan Pemeriksaan Laboratorium

Pemeriksaan laboratorium merupakan pemeriksaan yang membutuhkan ketelitian, tetapi adakalanya terjadi kesalahan berupa kekeliruan dalam penanganan sampel atau sampel yang tertukar. Terjadi hasil pemeriksaan yang berbeda meski dilakukan berulang-ulang, tapi hal ini sulit untuk dihindari hanya dapat diminimalisir tingkat kesalahannya. Kesalahan ini disebut *imprecision*. Terjadi pula kesalahan pengukuran, berupa pemipetan yang kurang tepat ataupun kesalahan dalam pemograman alat sehingga mempengaruhi hasil (Gandasoebrata, 2008).

#### 2.4.3. Hemolisis Sampel

Hemolisis atau lisis adalah kerusakan atau penghancuran sel darah merah atau juga pecahnya membrane eritrosit, sehingga hemoglobin bebas ke dalam medium plasma/serum. Lisis dapat terjadi melalui cara-cara alami yaitu infeksi virus. Darah lisis dapat dilihat visual dengan adanya warna merah dalam plasma/serum. Hemolisis merupakan kejadian umum yang terjadi dalam sampel serum sehingga dapat mengganggu parameter laboratorium seperti pada pemeriksaan kadar total protein darah (Yasin, 2015).

#### 2.4.4. Penundaan Sampel

Ada beberapa temuan di laboratorium yang menyebabkan sampel tidak dapat diperiksa dengan segera. Sampel tidak segera diperiksa karena kesibukan tak terhindarkan. Penundaan sampel yang tidak sesuai prosedur dapat mempengaruhi hasil kadar total protein darah (Gandasoebrata, 2005; Charlian, 2011). Penundaan pemeriksaan total protein juga beresiko terjadinya kontaminasi

mikroorganisme pada sampel (Irawan, 2007). Penundaan yang terlalu lama akan menyebabkan perubahan fisik dan kimiawi sehingga dapat menjadi sumber kesalahan dalam pemeriksaan total protein (Darwis, 2005).

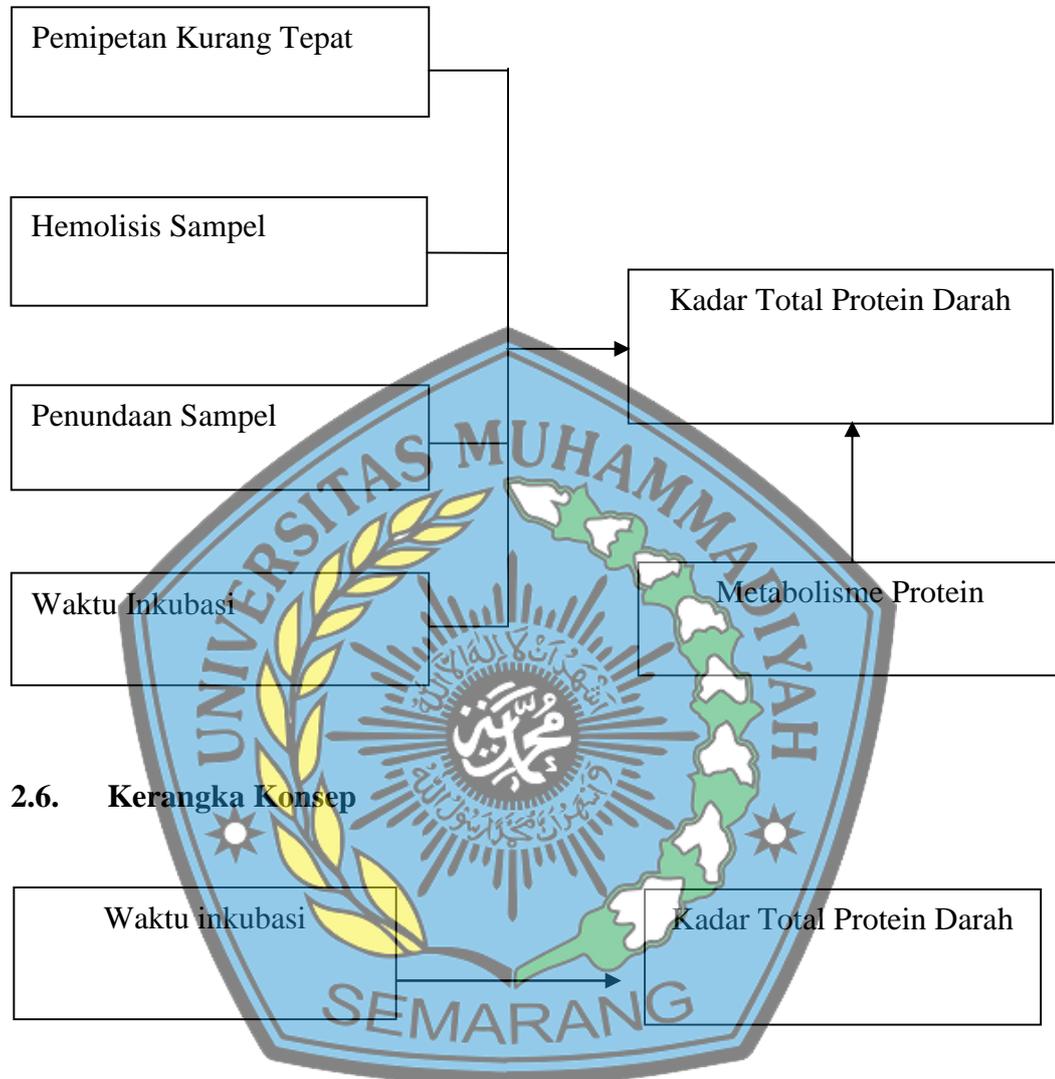
#### **2.4.5. Inkubasi**

Kondisi inkubasi yang meliputi waktu dan suhu inkubasi dapat mempengaruhi kecepatan tercapainya kesetimbangan reaksi. Kesetimbangan reaksi dapat diartikan sebagai kondisi larutan dari pencampuran reagen dan serum dalam keadaan yang optimum. Waktu dan suhu inkubasi tergantung pada aktivitas antibodi dan kadar suatu zat yang ditentukan (Susilo & Yulianti, 2005).

Suhu inkubasi yang sesuai dengan prosedur yang digunakan akan menjaga stabilitas sampel total protein (Irawan, 2007). Waktu inkubasi pemeriksaan total protein yang tidak sesuai prosedur dapat mempengaruhi hasil, hal itu dikarenakan terjadinya perubahan zat-zat terlarut di dalamnya (Hardjoeno, 2003).



## 2.5. Kerangka Teori



## 2.6. Kerangka Konsep



## 2.7. Hipotesis

Ada perbedaan hasil pemeriksaan kadar total protein metode Biuret berdasarkan waktu inkubasi selama 5, 60, dan 90 menit.