

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Albumin

Albumin merupakan jenis protein globular yaitu protein yang berbentuk bola larut dalam larutan asam dan garam encer, mudah berubah (denaturasi) di bawah pengaruh suhu. Protein ini banyak terdapat pada bahan pangan seperti susu, telur, daging, enzim dan hormon. Albumin merupakan protein terbanyak dalam plasma yang berperan dalam proses penyembuhan penyakit dan pemulihan setelah tindakan pembedahan/ operasi (Supriyanta, 2010).

Albumin diproduksi di hati dengan kecepatan 9-12 gram/hari (130-200 mg/kg/hari). Kondisi katabolik akan meningkatkan penghancuran albumin menyebabkan hipoalbuminemia yang dipacu oleh stres. Stres dan kerusakan akibat trauma akut akan menurunkan sintesa albumin sekaligus memacu diproduksinya protein reaktan fase akut (globulin, fibrinogen dan haptoglobulin) (Soemantri, 2009).

Serum albumin pada manusia merupakan satu molekul unik yang merupakan protein utama dalam plasma manusia, kadar normalnya di dalam plasma 3,8 – 5,1 g/dl dan membentuk kira-kira 60% dari protein plasma total. Hati merupakan organ yang berperan dalam sintesis albumin. Hati dalam sehari menghasilkan sekitar 12 g albumin yang merupakan 25% dari total sintesa protein hati.

Albumin mempertahankan tekanan osmotik koloid dalam pembuluh darah dan menghantarkan banyak molekul-molekul kecil dalam darah (contohnya bilirubin, kalsium, progesteron, dan obat-obatan) merupakan tempat penyimpanan protein dan merupakan partikel utama yang menentukan tekanan onkotik plasma, supaya cairan tidak dapat bebas melintas antara ruang intra dan ekstraselular (Bangun, 2008).

Albumin didistribusikan secara vaskuler dalam plasma dan secara ekstraseluler dalam kulit, otot dan beberapa jaringan lain. Sintesa albumin dalam sel hati dilakukan dalam dua tempat, pertama pada polisom bebas dimana dibentuk albumin untuk keperluan intravaskuler. Kedua poliribosom yang berkaitan dengan retikulum endoplasma dimana dibentuk albumin untuk didistribusikan ke seluruh tubuh. Sintesa albumin dipengaruhi beberapa faktor, yaitu nutrisi terutama asam amino, hormon dan adanya suatu penyakit. Asam amino yang dapat merangsang terjadinya sintesa albumin adalah triptofan, arginin, ornitin, lisin, fenilalanin, treonin dan prolin. Hormon yang dapat merangsang sintesa albumin adalah tiroid, hormon pertumbuhan, insulin, adrenokortikotropik, testosteron dan korteks adrenal. Sintesa albumin dapat dihambat oleh alkohol serta adanya suatu penyakit yang mengakibatkan gangguan sintesa albumin seperti pada seseorang penderita penyakit hati kronis, ginjal, dan kekurangan gizi seperti kwashiorkor (Murray, dkk, 2008).

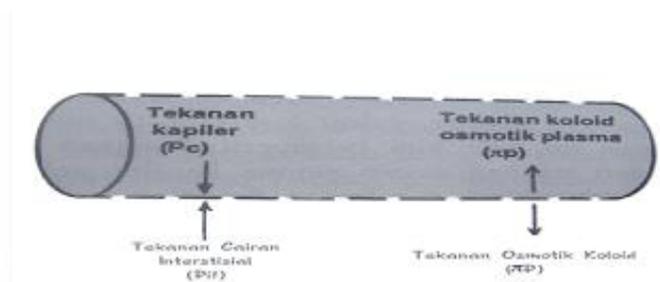
Menurut Soemantri, tahun 2009 beberapa fungsi penting albumin yaitu:

a. Alat pengikat dan transport

Salah satu yang membedakan albumin dengan koloid dan kristaloid adalah kemampuan mengikat. Albumin berfungsi penting sebagai pengikat asam, basa dan netral juga berfungsi penting sebagai transport lemak dan zat yang larut dalam lemak. Albumin juga berikatan secara kompetitif dengan berbagai macam obat diantaranya yaitu: *digoksin*, *warfarin*, *midazolam*. Karena kebanyakan zat yang berikatan dengan albumin dalam bentuk inaktif maka albumin secara tidak langsung menjadi pengontrol aktivitas biologis zat tersebut, sehingga fluktuatif kadar albumin akan mempengaruhi efek biologis zat tersebut.

b. Memelihara tekanan osmotik koloid plasma

Gambar 1. Tekanan osmotik koloid plasma



Sumber : Soemantri.Ag, Setiati E.T, 2009

Albumin bertanggungjawab untuk memelihara 75%-80% tekanan onkotik plasma. Penurunan albumin plasma akan menurunkan 66% tekanan onkotik koloid. Gradien tekanan osmotik koloid lebih berperan penting daripada kadar absolutnya dalam plasma.

c. Penghancur radikal bebas

Albumin merupakan sumber utama golongan sulfidril yang berfungsi menghancurkan radikal bebas (jenis nitrogen dan oksigen). Albumin berperan penting sebagai penghancur radikal bebas pada sepsis.

2.2 Pemeriksaan Albumin

1. Metode Biuret

Albumin dipisahkan dahulu dengan Natrium sulfit 25% dan eter kemudian disentrifugasi. Endapan atas dibuang kemudian endapan bawah ditambahkan pereaksi biuret. Pengukuran serapan cahaya kompleks akan berwarna ungu.

2. Metode Elektroforesis Protein

Prinsip pemeriksaan metode elektroforesis protein yaitu serum yang diletakkan dalam suatu media penyangga kemudian dialiri listrik maka fraksi protein akan terpisah atas dasar besar kecilnya berat molekul masing-masing protein. Metode elektroforesis dapat digunakan untuk memisahkan protein plasma menjadi albumin α_1 , α_2 , β , γ -globulin serta fibrinogen dan dapat mendeteksi protein abnormal terutama paraprotein.

3. Metode BCG (*Brom Cresol Green*)

Pemeriksaan albumin dengan BCG dalam larutan citrat membentuk kompleks warna. Absorbansi dari kompleks warna ini proporsional dengan konsentrasi albumin dalam sampel. Intensitas warna hijau menunjukkan kadar albumin dalam serum.

Pemeriksaan kadar albumin serum pada prinsip pemeriksaan albumin dengan metode BCG yaitu serum ditambahkan pereaksi albumin akan berubah

warna menjadi hijau, kemudian diperiksa pada spektrofotometer. Intensitas warna hijau ini menunjukkan kadar albumin pada serum (Soebrata, 2007).

2.3 Faktor-faktor yang mempengaruhi pemeriksaan kadar albumin

Akurasi hasil pemeriksaan kadar albumin serum dapat dipengaruhi oleh banyak faktor antara lain : persiapan pasien, pengambilan sampel, pengiriman sampel, proses pemisahan serum dan metode pemeriksaan yang digunakan (Riyani, 2013). Penundaan yang tidak sesuai dengan prosedur dapat mempengaruhi kadar albumin serum (Gandasoebrata, 2005). Suhu inkubasi yang sesuai dengan prosedur yang digunakan akan menjaga stabilitas sampel albumin serum darah. Penundaan pemeriksaan juga akan beresiko terjadinya kontaminasi mikroorganisme pada sampel (Irawan, 2007).

Waktu inkubasi pemeriksaan kadar albumin serum dengan waktu yang tidak sesuai prosedur dapat mempengaruhi hasil karena perubahan dari zat-zat terlarut didalamnya (termasuk protein) (Hardjoeno, 2003). Pemipetan sampel yang kurang tepat juga mempengaruhi hasil kadar pemeriksaan albumin serum darah. Faktor lain yang juga dapat mempengaruhi kadar albumin serum adalah diet tinggi lemak sebelum melakukan pemeriksaan, sampel darah hemolisis, pengaruh obat yang dikonsumsi (Anonim, 2011).

2.4 Tinjauan Umum Kuvet

2.4.1 Definisi kuvet

Kuvet spektrofotometer adalah suatu alat yang digunakan sebagai tempat contoh atau cuplikan yang akan dianalisis. Kuvet biasanya terbuat dari kwarsa, plexiglas, kaca, plastik dengan bentuk tabung empat persegi panjang 1x1 cm dan

tinggi 5 cm. Pengukuran di daerah UV dipakai kuvet kwarsa atau plexiglas, sedangkan kuvet dari kaca tidak dapat dipakai karena kaca mengabsorpsi sinar UV. Kuvet yang dapat dipakai untuk pengukuran di daerah sinar tampak (*visible*) adalah semua jenis kuvet. Kuvet harus memenuhi syarat-syarat sebagai berikut : tidak berwarna sehingga dapat mentransmisikan semua cahaya; permukaan secara optis harus benar-benar sejajar; tidak bereaksi terhadap bahan-bahan kimia; tidak boleh rapuh; mempunyai bentuk (desain) yang sederhana.

2.4.2 Macam-macam kuvet

Berbagai jenis bahan kuvet yang sering digunakan di laboratorium yaitu kuvet gelas dan kuvet plastik. Kuvet gelas adalah kuvet yang terbuat dari kaca dan dapat digunakan berulang-ulang, namun pada pengukuran di daerah Ultra Violet hanya dapat digunakan kuvet yang terbuat dari bahan kuarsa, karena kuvet yang terbuat dari kaca tidak dapat mengabsorpsi sinar Ultra Violet sehingga tidak dapat digunakan pada saat pengukuran di daerah Ultra Violet. Bahan kuvet dipilih berdasarkan daerah panjang gelombang yang digunakan, sedangkan kuvet plastik adalah kuvet yang terbuat dari bahan plastik dan merupakan *disposable*/sekali pemakaian. Wadah sampel yang baik terbuat dari bahan gelas dan plastik, dan khusus untuk sampel yang mudah bereaksi dengan plastik harus menggunakan wadah yang terbuat dari bahan gelas (Sastrohamidjojo, 2007).

Ketersediaan kuvet baru yang cukup, akan mempengaruhi prosedur kerja sesuai dengan aturan, namun tak dapat dipungkiri bahwa karena permintaan yang banyak kuvet baru tidak mencukupi, dikarenakan keterlambatan suplai peralatan dan reagensia yang dibutuhkan laboratorium untuk menjalankan fungsinya.

Pemeriksaan laboratorium dalam mensiasati suatu kebutuhan peralatan dibutuhkan kehati-hatian, jangan sampai kekurangan dan keterlambatan suplai peralatan dan reagensia akan menurunkan kualitas suatu hasil pemeriksaan laboratorium seperti kadar albumin serum. Pelaksanaan pemeriksaan spesimen darah seseorang, apabila kuvet yang baru terlambat datang sedangkan pemeriksaan kadar albumin serum mengharuskan untuk dilakukan pemeriksaan maka tak ada jalan lain kecuali menggunakan kuvet bekas, tentunya setelah melalui proses pencucian ulang yang baik dan benar.

Spesimen darah secara logis memang tidak akan terpengaruh oleh kondisi kuvet bekas tersebut, namun perlu disadari bahwa proses pencucian kuvet bekas biasanya dilakukan menggunakan air dengan *detergent* atau dengan bahan kimia lain yang diyakini dapat membersihkan kuvet secara optimal. Bahan kimia pada dasarnya merupakan senyawa yang tersusun atas ion baik bermuatan positif maupun negatif, sedangkan dalam laboratorium juga dilakukan pemeriksaan darah antara lain kadar albumin serum. Larutan-larutan kimia bahan pencuci kuvet bekas di dalamnya terkandung ion-ion tersebut dan kuvet menjadi buram maka jelas akan sangat mengganggu hasil pemeriksaan kadar albumin serum.

2.5 Spektrofotometer

Spektrofotometri sesuai dengan namanya adalah alat yang terdiri dari spektrometer dan fotometer. Spektrofotometer menghasilkan sinar dari spectrum dengan panjang gelombang tertentu dan fotometer adalah alat pengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau diabsorpsi. Spektrofotometer digunakan untuk mengukur energy relatif jika energy tersebut ditransmisikan, direfleksikan atau

diemisikan sebagai fungsi panjang gelombang. Kelebihan spektrofotometer dengan fotometer adalah panjang gelombang dari sinar putih dapat lebih di deteksi dan cara ini diperoleh dengan alat pengurai seperti prisma, grating atau celah optis. Fotometer filter dari berbagai warna yang mempunyai spesifikasi melewati trayek pada panjang gelombang tertentu (Gandjar,2007).

Spektrofotometer, yang penting untuk diperhatikan ialah perbedaan antara spektrofotometer sinar tunggal dan spektrofotometer sinar ganda. Spektrofotometer sinar tunggal biasanya dipakai untuk kawasan spectrum ultraungu dan cahaya yang terlihat. Spektrofotometer sinar ganda dapat dipergunakan baik dalam kawasan ultraungu dan cahaya yang terlihat maupun dalam kawasan inframerah (Gandjar,2007).

Keuntungan utama metode spektrofotometri adalah bahwa metode ini memberikan cara sederhana untuk menetapkan kuantitas zat yang sangat kecil. Selain itu, hasil yang diperoleh cukup akurat, dimana angka yang terbaca langsung dicatat oleh detector dan tercetak dalam bentuk angka digital ataupun grafik yang sudah diregresikan (Yahya S,2013).

2.5.1 Prinsip Kerja Spektrofotometri

Prinsip kerja Spektrofotometri adalah bila cahaya (monokrommatik maupun campuran) jatuh pada suatu medium homogen, sebagian dari sinar masuk akan dipantulkan sebagian diserap dalam medium itu dan sisanya diteruskan. Nilai yang keluar dari cahaya yang diteruskan dinyatakan dalam nilai absorbansi karena memiliki hubungan dengan konsentrasi sampel (Gandjar, 2007).

2.5.2 Cara Kerja Spektrofometri

Sinar berasal dari dua lampu yang berbeda yaitu lampu wolfran untuk sinar visible (sinar tampak = 38-780) dan lampu deuterium untuk sinar ultra violet (180-380 nm) pada video lampu yang besar. Pilih panjang gelombang yang diinginkan/diperlukan. Kuvet ada dua karena alat yang dipakai tipe double beam disanalah kita menyimpan sampel dan yang satu lagi untuk blanko. Detektor atau pembaca cahaya yang diteruskan oleh sampel disini terjadi pengolahan data sinar menjadi angka yang ada pada reader. Cahaya yang masuk kedalam alat pada saat menutup tempat kuvet harus dihindari, karena bila ada cahaya lain otomatis jumlah cahaya yang diukur menjadi bertambah (Gandjar, 2007).

2.5.3 Spektrofotometri Sinar Tampak (Visibel)

Spektrofotometri visible disebut juga spektrofotometri sinar tampak. Sinar tampak adalah sinar yang dapat dilihat oleh mata manusia. Cahaya yang dapat dilihat oleh mata manusia adalah cahaya dengan panjang gelombang 400-800 nm dan memiliki energi sebesar 299–149 kJ/mol. Elektron pada keadaan normal atau berada pada kulit atom dengan energi terendah disebut keadaan dasar (*ground-state*). Energi yang dimiliki sinar tampak mampu membuat elektron tereksitasi dari keadaan dasar menuju kulit atom yang memiliki energi lebih tinggi atau menuju keadaan tereksitasi (A.L.Underwood dan R.A.Day Jr).

Serapan dapat terjadi jika foton/radiasi yang mengenai cuplikan memiliki energi yang sama dengan energi yang dibutuhkan untuk menyebabkan terjadinya perubahan tenaga. Sinar monokromatik dilewatkan melalui suatu lapisan larutan dengan ketebalan (*db*), maka penurunan intensitas sinar (*dl*) karena melewati

lapisan larutan tersebut berbanding langsung dengan intensitas radiasi (I), konsentrasi spesies yang menyerap (c), dan dengan ketebalan lapisan larutan (db).

Secara matematis, pernyataan ini dapat dituliskan :

$$-dI = kIcdb$$

bila diintegrasikan maka diperoleh persamaan ini :

$$I = I_0 e^{-kbc}$$

dan bila persamaan di atas diubah menjadi logaritma basis 10, maka akan diperoleh persamaan :

$$I = I_0 10^{-kbc}$$

dimana : $k/2,303 = a$,

maka persamaan di atas dapat diubah menjadi persamaan :

$\log I_0/I = abc$ atau $A = abc$ (Hukum Lambert-Beer)

Dimana :

A= Absorban

a= absorptivitas

b = tebal kuvet (cm)

c = konsentrasi

Absorbansi (A) dihubungkan dengan Transmittan (T) = I/I_0 maka dapat diperoleh $A = \log 1/T$. Absorptivitas (a) merupakan suatu konstanta yang tidak tergantung pada konsentrasi, tebal kuvet, dan intensitas radiasi yang mengenai larutan sampel. Tetapi tergantung pada suhu, pelarut, struktur molekul, dan panjang gelombang radiasi (Hariadi Arsyad, 2013).

2.5.4 Hukum Lambert-Beer

Cahaya yang diserap diukur sebagai absorbansi (A) sedangkan cahaya yang hamburkan diukur sebagai transmitansi (T), dinyatakan dengan hukum Lambert-Beer atau Hukum Beer, berbunyi:

“Jumlah radiasi cahaya tampak (ultraviolet, inframerah dan sebagainya) yang diserap atau ditransmisikan oleh suatu larutan merupakan suatu fungsi eksponen dari konsentrasi zat dan tebal larutan”.

Berdasarkan hukum Lambert-Beer, rumus yang digunakan untuk menghitung banyaknya cahaya yang hamburkan:

$$T = \text{atau } \%T = x \cdot 100 \%$$

dan absorbansi dinyatakan dengan rumus:

$$A = -\log T = -\log$$

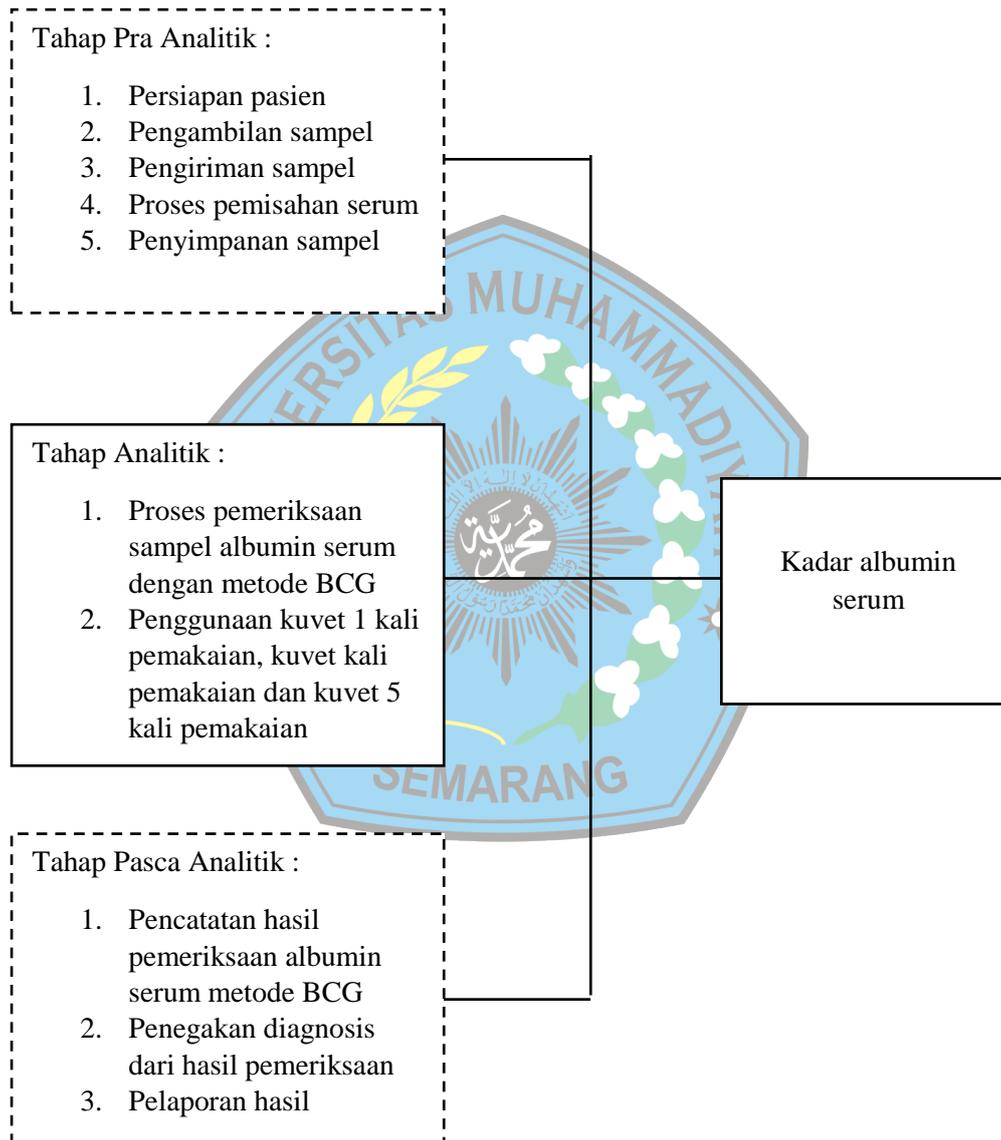
dimana I_0 merupakan intensitas cahaya datang dan I_t atau I_1 adalah intensitas cahaya setelah melewati sampel.

Faktor-faktor yang sering menyebabkan kesalahan dalam menggunakan spektrofotometer dalam mengukur konsentrasi suatu analit :

1. Serapan oleh pelarut. Hal ini dapat diatasi dengan penggunaan blangko, yaitu larutan yang berisi selain komponen yang akan dianalisis termasuk zat pembentuk warna.
2. Serapan oleh kuvet. Kuvet yang ada biasanya dari bahan gelas atau kuarsa, namun kuvet dari kuarsa memiliki kualitas yang lebih baik.
3. Kesalahan fotometrik normal pada pengukuran dengan absorbansi sangat rendah atau sangat tinggi, hal ini dapat diatur dengan pengaturan

konsentrasi, sesuai dengan kisaran sensitivitas dari alat yang digunakan/ melalui pengenceran atau pemekatan (Sri Suyono, 2013).

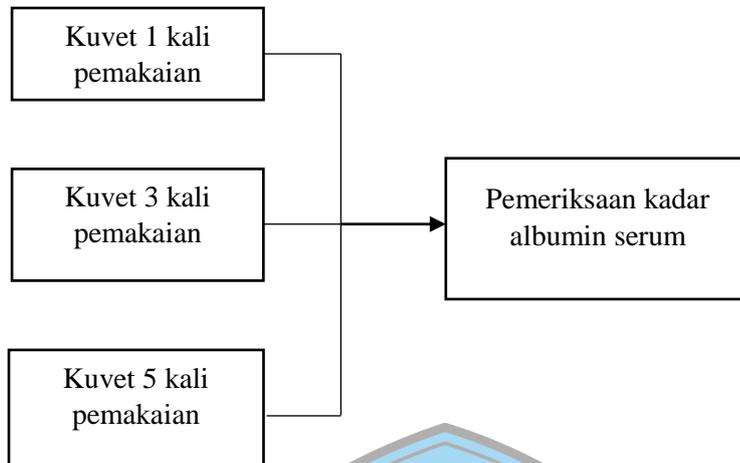
2.6 Kerangka Teori



Keterangan : ————— diteliti

----- tidak diteliti (dikendalikan)

2.7 Kerangka Konsep



2.8 Hipotesis

Ada perbedaan kadar albumin serum berdasarkan frekuensi penggunaan kuvet.

