

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Billirubin

Bilirubin adalah produk penguraian hem, sebagian besar (85-90%) terjadi dari penguraian hemoglobin dan sebagian kecil (10-15%) dari senyawa lain seperti mioglobin. Sel retikuloendotel menyerap kompleks haptoglobin dengan hemoglobin yang telah dibebaskan dari sel darah merah. Sel-sel ini kemudian mengeluarkan besi dari hem sebagai cadangan untuk sintesis berikutnya dan memutuskan cincin hem untuk menghasilkan tetrapirrol bilirubin yang disekresikan dalam bentuk yang tidak larut dalam air, yaitu bilirubin tidak terkonjugasi atau indirek (Indranila, 2018).

Bilirubin yang tidak larut, dalam plasma terikat ke albumin untuk diangkut dalam medium air. Sewaktu zat beredar dalam tubuh dan melewati hati, hepatosit melepas bilirubin dari albumin dan menyebabkan larut air dengan mengikat bilirubin ke asam glukoronat (bilirubin terkonjugasi atau bilirubin direk) (Sacher, 2009). Tahap selanjutnya sekresi bilirubin terkonjugasi ke dalam empedu melalui mekanisme transpor aktif kemudian disalurkan ke usus. Sewaktu bilirubin terkonjugasi mencapai ileum terminal dan usus besar, bakteri usus mengeluarkan enzim glukuronida, dan mereduksi pigmen tersebut menjadi urobilinogen. Sebagian kecil urobilinogen direabsorpsi dan diekskresi ulang melalui hati sehingga membentuk siklus urobilinogen enterohepatik, dan sebagian besar yang lain di oksidasi oleh flora usus menjadi urobilin dan diekskresikan di tinja.

Bilirubin indirek sukar larut dalam air sehingga untuk memudahkan bereaksi dalam pemeriksaan harus lebih dulu dicampur dengan alkohol, kafein atau pelarut lain sebelum dapat bereaksi. Bilirubin direk larut dalam air sehingga dalam pemeriksaan mudah bereaksi. Bilirubin direk masuk ke saluran empedu dan diekskresikan ke usus. Flora usus akan mengubahnya menjadi urobilinogen. Bilirubin terkonjugasi bereaksi cepat dengan asam sulfanilat yang terdiazotasi membentuk azobilirubin (Kosasih, 2008).

Bilirubin direk yang meningkat hampir selalu sebagai petanda adanya penyakit hati atau saluran empedu. Tahap penentu kecepatan dalam metabolisme bilirubin bukan konjugasi bilirubin, tetapi pengangkutan bilirubin terkonjugasi ke kanalikulus biliaris. Sehingga meningkatnya fraksi terkonjugasi dapat ditemukan pada semua tipe penyakit hati (Indranila, 2018).

B. Kadar Bilirubin Pada Bayi

Bayi baru lahir (neonatus) adalah bayi yang baru mengalami proses kelahiran berusia 0-28 hari. Bayi Baru Lahir (BBL) memerlukan penyesuaian fisiologis berupa maturasi, adaptasi (menyesuaikan diri dari kehidupan intrauterin ke kehidupan ektrauterin) dan toleransi bagi BBL untuk dapat hidup dengan baik (Marmi, 2015). Berdasarkan hasil Survei Demografi dan Kesehatan Indonesia (SDKI) 2012 menyatakan bahwa angka kematian bayi dalam usia 28 hari pertama masih cukup tinggi yaitu sebesar 34 per 1000 kelahiran hidup. Berdasarkan Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) 2011 sekitar 57% kematian terjadi dimasa neonatal dengan

penyebab kematian masalah hematologi adalah ikterus dan defisiensi vitamin K (Fatma, 2018).

Neonatus akan memproduksi bilirubin dua kali lipat dari produksi bilirubin orang dewasa yaitu 8-10 mg/kgBB/hari, sedangkan pada orang dewasa sekitar 3-4 mg/kgBB/hari. Peningkatan produksi bilirubin pada neonatus disebabkan masa hidup eritrosit lebih pendek (70-90 hari) dibandingkan pada orang dewasa (120 hari). Peningkatan degradasi heme dan *turn over sitokrom*, dan juga peningkatan sirkulasi bilirubin enterohepatik sering ditemukan pada awal kehidupan sampai minggu pertama diikuti penurunan kadar bilirubin pada minggu berikutnya sampai kadar bilirubin sama seperti orang dewasa (Mediskus, 2017).

Ikterus fisiologis apabila onsetsya setelah 24 jam pertama dan memuncak pada hari ke-3 sampai ke-5, dan menurun setelah hari ke-7. Sekitar 75% produksi bilirubin pada bayi berasal dari katabolisme heme hemoglobin dari eritrosit sirkulasi. Satu gram hemoglobin akan menghasilkan 34 mg bilirubin dan sisanya (25%) disebut *early labelled bilirubin* yang berasal dari pelepasan hemoglobin karena eritropoesis yang tidak efektif di dalam sumsum tulang, jaringan yang mengandung protein heme (mioglobin, sitokrom, katalase, peroksidase) dan heme bebas (Fatma, 2018). Nilai normal kadar bilirubin direk bayi baru lahir direk 0–0,4 mg/dL (Mediskus, 2017).

Hiperbilirubin karena faktor fisiologis merupakan gejala normal dan sering dialami bayi baru lahir. Gejala ikterus akan timbul pada hari kedua-ketiga. Kadar bilirubin indirek (larut dalam lemak) tidak melewati 12 mg/dL pada neonatus cukup bulan dan 10 mg/dL pada kurang bulan, kecepatan peningkatan kadar bilirubin tidak

melebihi 5 mg/dL per hari. Kadar bilirubin direk (larut dalam air) kurang dari 1 mg/dL. Gejala ikterus hilang pada sepuluh hari pertama kehidupan, dan tidak terbukti mempunyai hubungan dengan keadaan patologis tertentu (Mansjoer, 2009).

Hiperbilirubin yang disebabkan faktor patologis mempunyai potensi untuk menimbulkan *kern* ikterus jika tidak ditanggulangi dengan baik. Ikterus patologis antara lain terjadi pada 24 jam pertama kehidupan. Kadar bilirubin melebihi 12 mg/dL pada neonatus cukup bulan dan 10 mg/dL pada neonatus lahir kurang bulan/*premature*, ikterus dengan peningkatan bilirubin lebih dari 5 mg/dL per hari, ikterus yang menetap sesudah dua minggu pertama, ikterus yang mempunyai hubungan dengan proses hemolitik, infeksi atau keadaan patologis lain yang telah diketahui, dan kadar bilirubin direk melebihi 1 mg/dL (Mansjoer, 2009).

C. Pemeriksaan Bilirubin Direk

Pemeriksaan bilirubin serum merupakan baku emas penegakan diagnosis ikterus neonatorum serta untuk menentukan perlunya intervensi lebih lanjut. Pemeriksaan serum bilirubin perlu dipertimbangkan karena merupakan tindakan invasif yang dianggap dapat meningkatkan morbiditas neonatus (Sukadi, 2010).

Prinsip pemeriksaan bilirubin adalah bilirubin bereaksi dengan diazotized sulphathic acid (DSA) untuk membentuk larutan azo merah. Absorpsi dari larutan pada 546 nm sesuai dengan kadar bilirubin dalam sampel. Bilirubin glukuronida yang larut dalam air bereaksi langsung (direk) dengan DSA sedangkan bilirubin yang terikat pada albumin bereaksi tak langsung (indirek) dengan DSA dengan adanya *accelerator* (Helvi, 2011).

Spesimen bilirubin adalah serum, plasma EDTA / plasma heparin sebanyak 500 (250) μ L. Spesimen akan selalu berhubungan langsung dengan faktor luar sehingga harus diperhatikan faktor-faktor yang berpengaruh terhadap stabilitas kadar bilirubin direk dalam serum yaitu sinar dan suhu penyimpanan (Sarjono, 2008).

Stabilitas bilirubin serum pada suhu kamar tidak stabil dan mudah terjadi kerusakan terutama oleh sinar, baik sinar lampu ataupun sinar matahari. Serum dihindari yang hemolisis dan terkena sinar matahari langsung karena dapat menyebabkan penurunan kadar bilirubin serum sampai 50% dalam satu jam, dan pengukuran bilirubin direk hendaknya dikerjakan dalam waktu 2-3 jam setelah pengumpulan darah. Penundaan pemeriksaan hendaknya dilakukan dengan cara menyimpan serum di tempat yang gelap, dan tabung atau botol yang berisi serum dibungkus dengan kertas hitam atau aluminium foil untuk menjaga stabilitas serum dan disimpan pada suhu yang rendah atau lemari pendingin.

Suhu merupakan faktor luar yang berhubungan langsung terhadap sampel, baik saat penyimpanan maupun pemeriksaan. Pemeriksaan kadar bilirubin direk sebaiknya diperiksa segera, tapi dalam keadaan tertentu pemeriksaan kadar bilirubin total bisa dilakukan penyimpanan (Judarwanto, 2012).

Spesimen yang cukup untuk pemeriksaan kadar bilirubin maka reaksi dapat terjadi secara optimal. Pemeriksaan menggunakan serum dengan pengenceran dimungkinkan reaksi yang terjadi antara spesimen dengan NaCl 0,9% atau dengan reagen belum optimal (Sukandar, 2017).

D. Metode Pemeriksaan Bilirubin Direk

Metode pemeriksaan bilirubin direk antara lain metode Jendrasik-Grof, Van den Bergh, Malloy dan Reaksi Evelyn, dan metode enzimatik. Metode Jendrasik-Grof memiliki prinsip bilirubin bereaksi dengan *diazotized sulphanilic acid* (DSA) dan membentuk senyawa azo yang berwarna merah. Daya serap warna senyawa ini dapat langsung dilakukan terhadap sampel bilirubin pada panjang gelombang 546 nm. Bilirubin glukuronida yang larut dalam air dapat langsung bereaksi dengan DSA, namun bilirubin yang terdapat di albumin yaitu bilirubin terkonjugasi hanya dapat bereaksi jika ada akselerator (Helvi, 2011)

Metode Van den Bergh digunakan reagen Ehrlich diazo direaksikan dengan bilirubin direk dalam larutan berair akan membentuk kompleks senyawa berwarna merah muda sampai ungu dalam waktu 1 menit. Reagen Ehrlich diazo dalam larutan metil alkohol 50%, akan bereaksi dengan bilirubin total membentuk warna merah muda sampai ungu, waktu penanguhan 30 menit.

Metode Enzimatik, memiliki prinsip bilirubin terkonjugasi bereaksi dengan DSA dalam suasana asam membentuk kromofor merah. Absorbansi kromofor sebanding dengan bilirubin terkonjugasi yang terdapat di dalam serum. Pengukuran dilakukan pada panjang gelombang 540-600 nm.

Reaksi Enzimatik :



E. Sumber Kesalahan Pemeriksaan Bilirubin

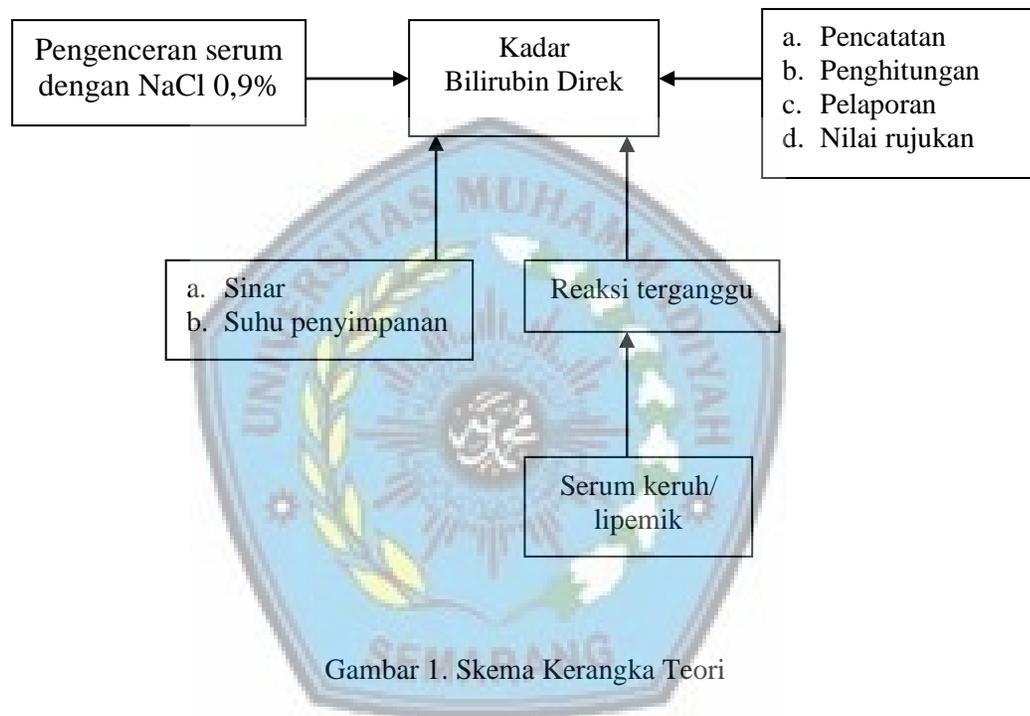
Pemeriksaan spesimen di laboratorium, termasuk pemeriksaan bilirubin melewati tiga tahapan yang sangat penting dan berperan dalam menentukan mutu pemeriksaan, yaitu pra analitik, analitik dan paska analitik. Tahap pra analitik sangat menentukan kualitas spesimen yang akan dihasilkan dan mempengaruhi proses kerja berikutnya. Tahap pra analitik meliputi kondisi pasien, pengambilan darah, dan penanganan serum. Sebelum pengambilan spesimen dilakukan, maka form permintaan laboratorium diperiksa. Identitas pasien harus ditulis dengan benar (nama, umur, jenis kelamin, nomor rekam medis dan sebagainya) disertai diagnosis atau keterangan klinis. Identitas harus ditulis dengan benar sesuai dengan pasien yang akan diambil spesimennya (Santoso, 2005).

Pengambilan darah vena harus dilakukan dengan teknik dan prosedur yang benar agar spesimen mewakili keadaan yang sebenarnya. Volume serum yang digunakan mencukupi. Penanganan serum ikterik pada penelitian dilakukan dengan dan tanpa pengenceran. Serum diencerkan dengan NaCl 0,9% perbandingan 1 1:5. Pengenceran dilakukan di luar alat kimia analiser secara manual.

Tahap analitik perlu memperhatikan reagen, alat, metode pemeriksaan, pencampuran sampel dan proses pemeriksaan. Kegiatan tahap analitik lebih mudah dikontrol atau dikendalikan. Kesalahan yang dapat terjadi pada tahap ini antara lain alat tidak dikalibrasi secara benar, sampel tertukar atau tercampur, ada masalah pada presisi alat, dan ada bahan yang mempengaruhi analit yang diperiksa. Tahap paska

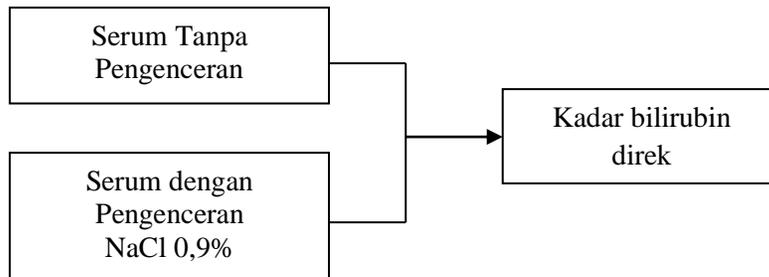
analitik atau tahap akhir pemeriksaan meliputi penulisan hasil, interpretasi hasil, penghitungan hasil, dan pelaporan hasil (Kemenkes, 2018).

F. Kerangka Teori



Gambar 1. Skema Kerangka Teori

G. Kerangka konsep



Gambar 2. Skema Kerangka Konsep

H. Hipotesis

Kadar bilirubin direk sampel serum dengan pengenceran NaCl 0,9% berbeda dibandingkan kadar bilirubin tanpa pengenceran.

