

PERBANDINGAN KADAR PROTEIN TOTAL MENGUNAKAN SERUM, PLASMA EDTA DAN NATRIUM SITRAT DENGAN METODE BIURET

Alya Agusti Putri

Program Studi D3 Analis Kesehatan, Sekolah Tinggi Analis Bakti Asih

Jl. Padasuka Atas no. 233, Bandung, Indonesia

Email: alyaagusti150103@gmail.com

ABSTRAK

Pengukuran protein total merupakan tes yang berguna dalam berbagai kelainan. Penurunan konsentrasi protein total dapat dideteksi pada gangguan sintesis protein di hati, kehilangan protein akibat gangguan fungsi ginjal, malabsorpsi usus, atau defisiensi nutrisi. Peningkatan kadar protein terjadi pada gangguan peradangan kronis, sirosis hati, dan dehidrasi. Pemeriksaan total protein dapat menggunakan darah vena yang dibuat plasma atau serum. Pembuatan plasma dari darah vena akan memberikan efek osmotik karena penambahan antikoagulan yang menyebabkan air meninggalkan sel dan memasuki plasma, sehingga menipiskan plasma dan menurunkan konsentrasi. Pemilihan jenis spesimen pada tahap persiapan sampel dapat mempengaruhi hasil dari pemeriksaan kadar total protein. Pada uji fotometrik menurut metode biuret protein membentuk kompleks warna biru ungu dengan ion tembaga dalam larutan basa. Absorbansi warna berbanding lurus dengan konsentrasi. Telah dilakukan penelitian tentang perbandingan hasil pemeriksaan protein total pada sampel serum, sampel plasma EDTA, dan sampel plasma sitrat. Data yang didapat adalah rata-rata hasil protein total pada serum sebesar 7,30%, pada sampel plasma EDTA sebesar 7,90%, dan pada plasma sitrat sebesar 6,76%. Data tersebut diolah secara statistika Hasil yang didapat diolah dengan menggunakan statistika berupa uji normalitas, Data tersebut diolah secara statistika Hasil yang didapat diolah dengan menggunakan statistika berupa uji normalitas, uji homogenitas, uji post hoc Kruskal Wallis, uji Mann-Whitney dan dilanjutkan dengan uji t-paired test. Didapatkan hasil pemeriksaan protein total pada tiap kelompok data berbeda secara signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa pemilihan specimen memengaruhi hasil pemeriksaan. Disarankan untuk pemeriksaan protein total, sampel yang dipilih adalah serum segar.

Kata kunci: kadar protein total, serum, plasma EDTA, plasma sitrat, metoda Biuret

ABSTRACT

Total protein measurement is a useful test in a variety of disorders. A decrease in total protein concentration can be detected in impaired protein synthesis in the liver, protein loss due to impaired renal function, intestinal malabsorption, or nutritional deficiencies. Elevated protein levels occur in chronic inflammatory disorders, liver cirrhosis, and dehydration. Total protein examination can use

venous blood made from plasma or serum. Making plasma from venous blood will have an osmotic effect due to the addition of anticoagulants which cause water to leave the cells and enter the plasma, thus thinning the plasma and reducing its concentration. The choice of specimen type during sample preparation can influence the results of examining total protein levels. In the photometric test according to the Biuret method, protein forms a purple-blue complex with copper ions in alkaline solutions. Color absorbance is directly proportional to concentration. Research has been carried out on the comparison of total protein examination results in serum samples, EDTA plasma samples and citrate plasma samples. The data obtained was an average total protein yield in serum of 7.30%, in EDTA plasma samples of 7.90%, and in citrate plasma of 6.76%. The data was processed statistically. The results obtained were processed using statistics in the form of normality tests, homogeneity tests, Kruskal-Wallis post hoc test, Mann-Whitney test and followed with the t-paired test. It was found that the total protein examination results in each data group were significantly different. This shows that specimen selection influences the examination results. It is recommended that for total protein examination, the sample chosen is fresh serum.

Key words: *total protein levels, serum, plasma EDTA, plasma citrate, Biuret method*

1. Pendahuluan

Pengukuran protein total merupakan tes yang berguna dalam berbagai kelainan. Penurunan konsentrasi protein total dapat dideteksi pada gangguan sintesis protein di hati, kehilangan protein akibat gangguan fungsi ginjal, malabsorpsi usus, atau defisiensi nutrisi. Peningkatan kadar protein terjadi pada gangguan peradangan kronis, sirosis hati, dan dehidrasi.(Heraramanita, 2017)

Pemeriksaan total protein dapat menggunakan darah vena yang dibuat plasma atau serum. Pembuatan plasma dari darah vena akan memberikan efek osmotik

karena penambahan antikoagulan yang menyebabkan air meninggalkan sel dan memasuki plasma, sehingga menipiskan plasma dan menurunkan konsentrasi.(Vignoli et al., 2022)

Serum merupakan komponen cairan darah yang dapat diperoleh melalui proses sentrifugasi setelah diinkubasi selama 15 menit karena tanpa pemberian zat antikoagulan, sehingga komponen seperti glukosa, protein, hormone, zat metabolik, elektrolit masih ada, namun sudah tidak memiliki faktor pembekuan. (Vignoli et al., 2022)

Plasma merupakan bagian darah yang diperoleh dari hasil sentrifugasi whole blood yang telah diberikan zat antikoagulasi, sehingga didapatkan komponen

cairan yang telah tidak mengandung sel darah merah namun masih memiliki kandungan protein, elektrolit, hormon, zat metabolic dan faktor – faktor pembekuan darah.

Zat antikoagulan yang sering digunakan dalam pembuatan plasma darah adalah *ethylene diamine-tetra-acetic-acid*(EDTA). Peranan EDTA dalam menghambat pembekuan darah adalah dengan menghambat ionisasi ion kalsium sehingga tidak dapat mengubah prothrombin menjadi thrombin. Pemberian EDTA pada pembuatan plasma tidak akan menyebabkan perubahan pada bentuk leukosit dan eritrosit sehingga sering digunakan pada pemeriksaan hematologi. (Engin, 2002)

Pemilihan jenis spesimen pada tahan persiapan sampel dapat mempengaruhi hasil dari pemeriksaan kadar total protein, dimana pada spesimen plasma disebabkan karena masih terdapat faktor pembekuan seperti fibrinogen. Fibrinogen merupakan salah satu komponen penyusun total protein, sehingga penggunaan plasma sebagai spesimen pemeriksaan kadar total protein

dapat menyebabkan peningkatan kadar protein total dibandingkan serum.(Engin, 2002)

Penelitian dari Faiza Munabari (Munabari, F., dkk, 2022) menunjukkan bahwa Dari hasil analisis statistic menggunakan uji Paired T-test didapatkan P-value < 0,05 dimana terdapat perbedaan bermakna kadar total protein menggunakan plasma EDTA lebih tinggi dibandingkan dengan serum. Perbedaan ini dapat menjadi perhatian bagi analis kesehatan dalam pemilihan spesimen untuk pemeriksaan kadar total protein.(Engin, 2002)

Perbedaan hasil pemeriksaan parameter klinik dengan sampel yang berbeda juga ditunjukkan oleh kadar kolesterol total. Dari 22 sampel yang telah diperiksa terdapat perbedaan hasil antara kedua sampel, dimana pemeriksaan kadar kolesterol total pada sampel plasma EDTA lebih rendah dibandingkan sampel serum. Hal ini mungkin disebabkan karena pada plasma dilakukan penambahan antikoagulan yang dapat mengganggu beberapa analitis metode atau mengubah konsentrasi parameter yang diukur

sehingga dapat mempengaruhi hasil laboratorium. (Anggraini et al., 2019)

Pada uji fotometrik menurut metode biuret protein membentuk kompleks warna biru ungu dengan ion tembaga dalam larutan basa.

Absorbansi warna berbanding lurus dengan konsentrasi. Prosedur pemeriksaan metoda Biuret dari Biolabo hanya mensyaratkan penggunaan serum dan plasma bisa digunakan pada pemeriksaan protein. (Fisher, 2021)

2. Metoda Penelitian

Pembuatan Serum

1. Darah Vena yang telah dimasukkan ke dalam tabung dengan gel, dibiarkan sampai terpisah (sekitar 15-30 menit), selanjutnya disentrifuge pada kecepatan 3000rpm selama 15 menit
2. Pisahkan serum dari bekuan
3. Serum dipindahkan ke Aliquoting
4. Beri Label

Pembuatan Plasma

1. Darah Vena yang telah dimasukkan ke dalam tabung dengan antikoagulan EDTA dan yang

dengan antikoagulan natrium sitrat, dapat langsung disentrifus pada kecepatan 3000rpm selama 15 menit

2. Pisahkan plasma dari bekuan
3. Serum dipindahkan ke Aliquoting
4. Beri Label

Metode Pemeriksaan Protein Total

Metode pada penelitian kadar pemeriksaan Protein Total adalah Metode Biuret dengan prinsip ion kupri berikatan dengan ikatan peptida dalam protein menghasilkan kompleks berwarna ungu, dengan intensitas warna sebanding dengan konsentrasi protein dan dapat diukur dengan fotometer dengan panjang gelombang 546nm, intensitas warna yang terbentuk dan kadar protein total terikat pada sampel.

3. Hasil dan Pembahasan

Berikut adalah hasil pemeriksaan kadar protein total metoda Biuret pada sampel serum, sampel plasma –

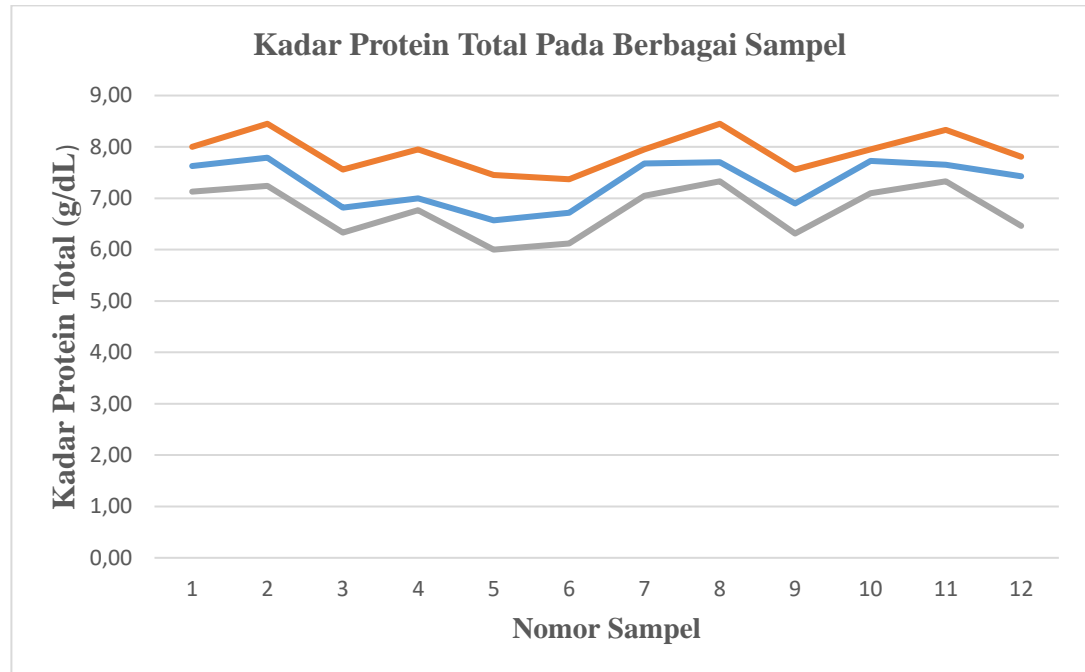
EDTA, dan sampel plasma Natrium sitrat, ditampilkan dalam bentuk table pada table 3.1.

Tabel 3.1 Hasil Pemeriksaan Protein Total Pada Sampel Serum, Plasma EDTA, dan Plasma Sitrat

No. Sampel	Serum (g/dl)	Plasma EDTA (g/dl)	Plasma Sitrat (g/dl)
1	7,63	8,00	7,13
2	7,79	8,45	7,24
3	6,82	7,56	6,33
4	7,00	7,95	6,77
5	6,57	7,45	6
6	6,72	7,37	6,12
7	7,68	7,95	7,05
8	7,70	8,45	7,33
9	6,90	7,56	6,31
10	7,73	7,95	7,1
11	7,65	8,33	7,33
12	7,43	7,81	6,46
rata-rata	7,30	7,90	6,76
Jumlah Total	87,62	94,83	81,17
Standar Deviasi	0,4403	0,3570	0,4726
Prosentase kenaikan / penurunan	standar	8,21% (naik)	7,39% (turun)

Dapat dilihat bahwa nilai rata-rata untuk kadar protein pada serum adalah 7,30 g/dl, untuk sampel plasma EDTA adalah 7,90 g/dl, untuk plasma sitrat adalah 6,7 g/dl. Hal ini menunjukkan bahwa secara berurutan, kadar protein total tertinggi ada pada plasma EDTA,

serum, dan plasma sitrat. Jika dianggap bahwa sampel serum sebagai rujukan, maka kenaikan kadar protein total pada plasma EDTA adalah 8,21% dan penurunan kadar protein total pada plasma sitrat adalah 7,39%.



Grafik 4.1 Kadar Protein Total Pada Berbagai Serum, Plasma EDTA, dan Plasma Sitrat

Sampel serum

Sampel Plasma EDTA

Sampel Plasma Sitrat

Pada grafik 4.1. terlihat secara umum bahwa kadar protein total pada plasma EDTA lebih tinggi daripada kadar protein total pada serum, dan yang paling rendah untuk tiap-tiap sampel adalah kadar protein pada sampel plasma sitrat.

*nilai Sig (2 tailed) < 0,05 maka ada perbedaan signifikan

* nilai Sig (2 tailed) > 0,05 maka tidak ada perbedaan perbedaan signifikan

Nilai Sig (2 tailed) didapatkan 0,000 < 0,05: kadar protein total antara

kelompok plasma EDTA dengan kelompok plasma sitrat berbeda secara signifikan

Dapat disimpulkan bahwa: tiap kelompok data memiliki nilai rata-rata yang berbeda signifikan

Arti secara klinis: nilai kadar protein total pada kelompok serum, kelompok plasma EDTA, dan kelompok plasma sitrat, semua berbeda secara signifikan.

Pembahasan

Dari hasil pemeriksaan kadar protein total dengan metoda Biuret pada sampel serum, plasma-EDTA, dan

plasma sitrat didapatkan nilai kadar protein total pada sampel serum adalah 7,30 g/dl, sedangkan pada plasma-EDTA 7,90 g/dl (naik 8,21%), pada plasma sitrat 6,76% (turun 7,39%). Jadi terjadi kenaikan kadar protein total pada sampel plasma EDTA, dan terjadi penurunan kadar protein total pada plasma sitrat.

Uji statistika dipergunakan untuk menguji apakah kenaikan dan penurunan kadar protein total ini signifikan. Maka dilakukan uji normalitas terhadap semua kelompok data, dilanjutkan dengan uji homogenitas pada semua kelompok data. Uji normalitas tidak terpenuhi untuk kelompok data sampel serum, karenanya uji lanjut yang tepat adalah uji Kruskal Wallis. Didapatkan dari hasil uji Kruskal Wallis bahwa semua kelompok data berbeda signifikan. Artinya kelompok data sampel serum berbeda dengan kelompok data plasma EDTA dan plasma sitrat. Kelompok data plasma sitrat berbeda signifikan dengan kelompok data plasma-EDTA. Hal ini menunjukkan faktor persiapan sampel berpengaruh pada hasil pemeriksaan kadar protein total.

Faktor persiapan spesimen memiliki peranan yang besar dalam validitas kadar total protein. Salah satunya adalah penggunaan serum atau plasma EDTA sebagai spesimen pemeriksaan kadar total protein. Perbedaan jenis spesimen yang digunakan akan menyebabkan perbedaan dalam komposisi zat yang terkandung didalam serum dan plasma EDTA. Penggunaan antikoagulan EDTA pada pembuatan plasma dapat menyebabkan peningkatan kadar sebesar 3-5 % dibandingkan serum, karena terdapat fibrinogen pada plasma dibandingkan pada serum. Penambahan EDTA juga dapat menyebabkan terjadinya krenasi sel darah merah sehingga cairan darah akan terperas keluar dari sel darah merah. Hal ini berkesesuaian dengan penelitian dari Munabari dkk (Munabari, F., 2022) yang memperlihatkan hasil berbeda signifikan antara sampel serum dengan sampel plasma EDTA dengan nilai protein total pada sampel plasma EDTA lebih tinggi daripada nilai protein total pada serum.

Serum sering dianggap sebagai standar emas karena dibuat dari darah yang membeku dan tidak

memerlukan bahan tambahan; namun, saat ini, tabung pengumpul darah yang paling umum digunakan untuk serum mengandung gel pemisah yang membentuk penghalang antara sel-sel yang dikemas dan serum selama sentrifugasi, meningkatkan stabilitas analit dan memudahkan pemisahan dan zat pengaktif bekuan yang mengurangi waktu pembekuan hingga menjadi 30 menit. (Vignoli et al., 2022)

Penggunaan plasma memiliki keuntungan penting bagi para teknisi laboratorium karena tidak perlu waktu ekstra yang untuk pembekuan darah, koagulasi, durasi sentrifugasi lebih pendek. Volum yang didapatkan pada plasma yang diberi antikoagulan juga lebih banyak, sekitar 15-20% lebih banyak ke serum, dan risiko trombolisis dan hemolisis dalam plasma lebih rendah dibandingkan dalam serum.

Tetapi penggunaan plasma untuk beberapa parameter klinik juga memengaruhi hasil pemeriksaan. Pada penggunaan plasma sitrat, didapat hasil lebih rendah bisa jadi karena penggunaan natrium sitrat sebagai antikoagulan yang bersifat sedikit asam (pH natrium sitrat sekitar 6,2) sementara reagen Biuret

adalah ion kupri dalam larutan basa. Akibatnya reaksi yang terjadi tidak sempurna menimbulkan kadar protein total yang tampak lebih rendah. Bisa pula terjadi denaturasi protein karena pH rendah tersebut, denaturasi akan mengubah sifat protein menjadi sukar larut dalam air karena terjadi kerusakan struktur tersier dan sekunder protein. Penambahan asam yang berlebihan akan menyebabkan denaturasi protein, akibatnya jumlah protein dalam plasma akan berkurang dan menunjukkan hasil pengukuran protein total yang lebih sedikit.

Banyak variabel praanalitik yang dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan koagulasi rutin. Untuk meningkatkan presisi dan keakuratan pengujian laboratorium, penting untuk mengidentifikasi variabel-variabel ini dan menyadari potensinya terhadap pengujian. Variabel praanalitik yang berkaitan dengan pengujian koagulasi rutin dapat diklasifikasikan menjadi tiga kategori utama: pengumpulan spesimen, pengangkutan dan penyimpanan spesimen, dan pemrosesan spesimen. Variabel yang terkait dengan pengumpulan spesimen saja sangatlah banyak.

Beberapa mempunyai pengaruh yang kecil atau bahkan tidak berpengaruh sama sekali; yang lain secara signifikan mempengaruhi hasil pengujian.

Beberapa penyakit yang dapat mempengaruhi kadar protein total adalah: Penurunan total protein, disebabkan oleh malnutrisi, kelaparan, malabsorpsi, penyakit hati berat, kanker usus, luka bakar berat,

gagal ginjal kronik, dan ulkus ulserativa. Peningkatan total protein, disebabkan oleh kondisi seperti dehidrasi, muntah, diare, dan multiple mieloma.

Pada pemeriksaan metoda Biuret, sebaiknya mengikuti petunjuk dari perusahaan pembuat reagen yaitu sampel yang dipakai adalah serum atau plasma heparin.

4. SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Terdapat perbedaan signifikan pada hasil pemeriksaan kadar protein total pada sampel serum, sampel plasma EDTA, dan sampel plasma sitrat.

Saran:

1. Dilakukan penelitian dengan menggunakan sampel serum dan heparin

2. Dilakukan penelitian mengenai parameter klinik lainnya pada berbagai jenis sampel (serum dan plasma)

DAFTAR PUSTAKA

- Adriani, M., & Wirjatmadi, B. (2012). *Pengantar Gizi Masyarakat - Dr. Merryana Adriani, SKM., M.Kes.* - Google Books. Google Books. <https://books.google.co.id/books?id=kqhADwAAQBAJ&printsec=frontcover#v=onepage&q&f=false>
- Anggraini, A. F., Herawati, R., Subagio, Y., & S., L. C. (2019). Pemeriksaan Kadar Kolesterol Total Dengan Sampel Serum

Dan Sampel Plasma EDTA. *Jurnal Analisis Kesehatan*, 7–8, diunduh tanggal 02 April 2021.

Delimaris, I. (2013). Adverse Effects Associated with Protein Intake above the Recommended Dietary Allowance for Adults. *ISRN Nutrition*, 2013, 1–6. <https://doi.org/10.5402/2013/126929>

Fisher, T. (2021). *การวัดระดับ Total Protein*

- (ปริมาณโปรตีนรวมในกระแสเลือด)
คืออะไร? 15–16.
- Gropper, S. S., Smith, J. L., & Carr, T. P. (2012). Major Minerals. *Advanced Nutrition And Human Metabolism. Cengage Learning.*, 7, 129–215.
<https://doi.org/10.1002/9781444328561.ch5>
- Heraramanita, A. (2017). *Pemeriksaan Kadar Total Protein pada Penderita Gagal Ginjal Kronik.*
- Kementerian Kesehatan RI. (2010). *Kemertian Kesehatan No 1792 Tentang Pedoman Pemeriksaan Kimia Klinik* (p. 18).
- Kurniawan, R. F. (2014). *Rahasia Terbaru Kedashyatan Terapi Enzim - Google Books.* Lembar Langit Indonesia.
https://www.google.co.id/books/edition/Rahasia_Terbaru_Kedashyatan_Terapi_Enzim/joypCQAAQBAJ?hl=en&gbpv=1&dq=inauthor:+Reiza+Farandika+Kurniawan+S.+Ked&pg=PT1&printsec=frontcover
- Maharani, E. A., & Noviar, G. (2018). *IMUNOEMATOLOGI DAN BANK DARAH.*
- Maulidiyanti, E. T. S., Azizah, F., Saputro, T. A., & Nuzula, F. (2022). Penggunaan Berbagai Jenis Antikoagulan Terhadap Mutu Hasil Pemeriksaan Activated Partial Thromboplastine Time (APTT). *The Journal of Muhammadiyah Medical Laboratory Technologist*, 5(1), 91.
<https://doi.org/10.30651/jmlt.v5i1.14604>
- Munabari, F., & Syahputra, A. (2022a). Pengaruh Penggunaan Spesimen Serum Dan Plasma Edta Terhadap Kadar Total Protein. *Jurnal Pranata Biomedika*, 1(2), 134–140.
<https://doi.org/10.24167/jpb.v1i2.5153>
- Munabari, F., & Syahputra, A. (2022b). PENGARUH PENGGUNAAN SPESIMEN SERUM DAN PLASMA EDTA TERHADAP KADAR TOTAL PROTEIN. *Jurnal Pranata Biomedika*, 1(2), 134–140.
<https://doi.org/10.24167/JPB.V1I2.5153>
- Nur Ramadhani, Q. A., Garini, A., Nurhayati, N., & Harianja, S. H. (2019). Perbedaan Kadar Glukosa Darah Sewaktu Menggunakan Serum Dan Plasma Edta. *JPP (Jurnal Kesehatan Poltekkes Palembang)*, 14(2), 80–84.
<https://doi.org/10.36086/jpp.v14i2.407>
- PANGISTU, P. I. (2019). KARYA TULIS

- ILMIAH PERBEDAAN HASIL PEMERIKSAAN KADAR TOTAL PROTEIN DAN ALBUMIN DENGAN MENGGUNAKAN TABUNG VAKUM TUTUP MERAH DAN TUTUP KUNING. *PROGRAM STUDI D3 ANALIS KESEHATAN FAKULTAS ILMU KESEHATAN UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURABAYA 2019*, 1(1), 2019. <https://repository.um-surabaya.ac.id/5011/1/PENDAHULUAN.pdf>
- Raharjo, S. B., Santosa, B., & Nurrachmat, H. (2017). PERBEDAAN KADAR TOTAL PROTEIN DALAM SERUM MENGGUNAKAN REAGEN BIURET YANG DILETAKKAN DALAM ALAT KIMIA ANALYSER SEGERA, 24 JAM, 48 JAM DAN 72 JAM. *Respotory. Unimus*.
- Rais, A. F., Ethica, S. N., & Sulistyanyingtyas, A. R. (2017). ANALISIS PROFIL PROTEIN IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) BERBASIS SDS-PAGE BERDASARKAN VARIASI LAMA MARINASI DAN KONSENTRASI ASAM CUKA. *Respotory. Unimus*, 9–40.
- Rizka, F. A., & Nugraha, G. (2023). PEMERIKSAN HEMOGLOBIN PADA SPESIMEN DARAH AV-SHUNT. 147–157.
- Vignoli, A., Tenori, L., Morsiani, C., Turano, P., Capri, M., & Luchinat, C. (2022). Serum or Plasma (and Which Plasma), That Is the Question. *Journal of Proteome Research*, 21(4), 1061–1072. <https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.1c00935>
- Whitford, D. (2013). *P Roteins*. 543.
- Ellies Tunjung Sari M, . F. (2022). Penggunaan Berbagai Jenis Antikoagulan Terhadap Mutu Hasil Pemeriksaan Activated Partial Thromboplastine Time (APTT). *The Journal Of Muhammadiyah Medical Laboratory Technologist*, 2 - 5.