

Available online at : <http://ojs.rajawali.ac.id/index.php/JKR>

Jurnal Kesehatan Rajawali

| ISSN (Print) 2085-7764 | ISSN (Online) 2776-558X |



Artikel

Optimasi Variasi Konsentrasi, Waktu Sentrifugasi Polyethylene Glycol (PEG), dan Modified Egg Yolk Lipemic Serum pada Enzim Serum Glutamic Pyruvic Transaminase (SGPT)

Anissa Susilawati^{1*}, Ani Riyani²¹ Fakultas Farmasi, Institut Kesehatan Rajawali, Bandung, Indonesia² Program Studi DIV Teknologi Laboratorium Medis, Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Bandung, Indonesia

ARTICLE INFORMATION

Received: 21 Agustus 2023

Revised: 19 Oktober 2023

Accepted: 20 Oktober 2023

Available online: 28 November 2023

KEYWORDS

Enzim Glutamic Pyruvic Transaminase (SGPT) Serum (SGPT), Polyethylene Glycol (PEG), Serum Lipemik, Waktu Sentrifugasi

CORRESPONDENCE

E-mail: anissasusilawati05@gmail.com

A B S T R A C T

Examination of Serum Glutamic Pyruvic Transaminase (SGPT) enzymes can be disrupted due to the presence of fatty serum. The addition of Polyethylene Glycol (PEG) to fatty serum will lower the surface tension of the serum so that the fat will precipitate and eliminate error readings on the photometer. This study aims to determine the concentration and centrifugation time of the addition of Polyethylene Glycol (PEG) under optimal conditions. Serum modification was made to resemble fatty serum using egg yolks with three variations of triglyceride levels in ± 500 mg/dL, ± 600 mg/dL, ± 700 mg/dL. Fatty serum is made using three concentrations of Polyethylene Glycol (PEG), namely 0.05%, 0.10%, 0.15%. Then incubated for 30 minutes at 40C and precipitation was carried out using centrifugation at 3000 rpm with three variations of centrifugation time, namely at 5, 10 and 15 minutes. Then the resulting supernatant was separated and measured to determine the Serum Glutamic Pyruvic Transaminase (SGPT) enzyme using a photometer. Then the data were analyzed using a two way ANOVA test followed by a Post Hoc test with a 95% confidence level. The conclusion of this study is that at 500 mg/dL fatty serum, the optimal concentration was obtained, namely 0.10% with a 10-minute centrifugation time, at 600 mg/dL fatty serum, the optimal concentration was obtained, namely 0.10% with a 10-minute centrifugation time, on fatty serum 700 mg/dL obtained the optimal PEG concentration and centrifugation time of 0.15% with a centrifugation time of 15 minutes.

PENDAHULUAN

Lipemia adalah kondisi di mana serum menjadi keruh dan berwarna putih susu akibat keberadaan berlebihan partikel lipoprotein dalam darah, yang menyebabkan serum menjadi keruh dan berwarna putih susu. Penyebab utama kekeruhan ini adalah disebabkan oleh kilomikron.⁽¹⁾ Serum lipemik dapat mengganggu berbagai metode pemeriksaan, salah satunya adalah analisis fotometri. Analisis fotometri adalah metode yang paling umum digunakan karena memiliki spesifisitas dan sensitivitas yang baik. Prinsipnya melibatkan penyerapan cahaya akibat interaksi cahaya tertentu dengan larutan atau zat warna tertentu, dan menghasilkan nilai absorbansi. Nilai absorbansi suatu senyawa berbanding lurus dengan konsentrasi analit yang dihasilkan dari senyawa tersebut.⁽²⁾ Serum lipemik termasuk dalam kategori sampel serum yang ditolak karena dapat menyebabkan interferensi pada analisis fotometri, yang disebabkan oleh kilomikron atau *Very Low Density Lipoprotein (VLDL)* yang memiliki berat jenis rendah dan mengapung di atas tabung sampel, membentuk lapisan yang berbeda.⁽³⁾ Mekanisme lipemia menyebabkan kekeruhan karena menyebabkan penyebaran cahaya, yang dapat mengakibatkan interferensi selama pembacaan fotometri dan menghasilkan hasil yang tidak akurat.⁽⁴⁾ Salah satu pemeriksaan yang terpengaruh adalah aktivitas *Serum Glutamic Pyruvic Transaminase (SGPT)*.

Serum lipemik memerlukan penanganan agar tidak mengganggu pemeriksaan. Beberapa metode dapat digunakan untuk mengurangi gangguan yang disebabkan oleh serum lipemik, termasuk penggunaan ultracentrifugasi, pengenceran serum, dan pengendapan lipoprotein menggunakan cyclodextrin atau polyethylene glycol (PEG).⁽⁵⁾ Menurut Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) dalam pedoman uji interferensi, ultracentrifugasi telah dijadikan sebagai standar baku.⁽⁶⁾ Namun, ultracentrifugasi memiliki kelemahan seperti memerlukan waktu yang relatif lama dan volume serum yang cukup besar. Pengenceran serum juga dapat digunakan, namun hanya dapat mengatasi gangguan berupa kekeruhan dan tidak memastikan bahwa konsentrasi analit tetap dalam batas analitis.⁽³⁾ Surfaktan adalah zat yang ditambahkan ke cairan untuk meningkatkan kelarutan dan menyatukan dua senyawa yang berbeda.⁽⁷⁾⁽⁸⁾

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Arfa Izzati pada tahun 2017, ditemukan bahwa cyclodextrin adalah surfaktan yang dapat digunakan, namun harganya mahal. Oleh karena itu, dalam penelitian ini, digunakan Polietilen Glikol (PEG). Polietilen Glikol (PEG) adalah polimer sintetik, termasuk dalam golongan surfaktan non-ionik karena struktur rantai karbonnya⁽⁹⁾ dan berfungsi meningkatkan kelarutan.⁽¹⁰⁾ PEG memiliki keunggulan seperti stabilitas, distribusi yang merata, kelarutan dalam air, kemampuan mengikat pigmen, dan berperan sebagai jembatan antara dua fase yang berbeda. Oleh karena itu, pengolahan serum lipemik dengan

Polietilen Glikol (PEG) merupakan alternatif untuk mengendapkan serum lipemik. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan konsentrasi optimal dan waktu sentrifugasi menggunakan PEG guna meminimalkan interferensi dari serum lipemik saat mengukur enzim *Serum Glutamic Pyruvic Transaminase (SGPT)*.

METODE

Pada penelitian ini, digunakan pooled serum, reagen SGPT metode Kinetik BIOLABO, reagen trigliserida metode GPO-PAP BIOLABO, dan Polietilen Glikol (PEG) 6000. Penelitian ini menggunakan metode eksperimen. Desain penelitian melibatkan variasi serum lipemik buatan menggunakan modifikasi kuning telur, dengan hasil kadar trigliserida sebesar 500 mg/dL, 600 mg/dL, dan 700 mg/dL. Serum lipemik dibuat dengan menambahkan berbagai konsentrasi Polietilen Glikol (PEG), yaitu 0,05%, 0,10%, dan 0,15%. Serum yang dicampur merupakan pooled serum yang telah dimodifikasi dengan kuning telur dan diberi perlakuan dengan penambahan Polietilen Glikol, kemudian diinkubasi pada suhu 4°C selama 30 menit, dan kemudian mengalami variasi kecepatan sentrifugasi sebesar 3000 rpm selama 5, 10, dan 15 menit. Proses ini menghasilkan supernatan yang jernih, yang kemudian dipisahkan dan diukur untuk memeriksa enzim SGPT dalam serum menggunakan instrumen fotometer. Penelitian ini menggunakan data primer yang diperoleh dari analisis enzim Serum Glutamic Pyruvic Transaminase (SGPT). Kadar trigliserida ditentukan menggunakan metode GPO-PAP (Glycerol Phosphate Oxidize Para-Amino Phenazone), dan berat PEG diukur menggunakan neraca analitik. Bahan penelitian melibatkan Polietilen Glikol 6000 dan Pooled Serum yang dikombinasikan dengan lipemia buatan melalui modifikasi kuning telur.

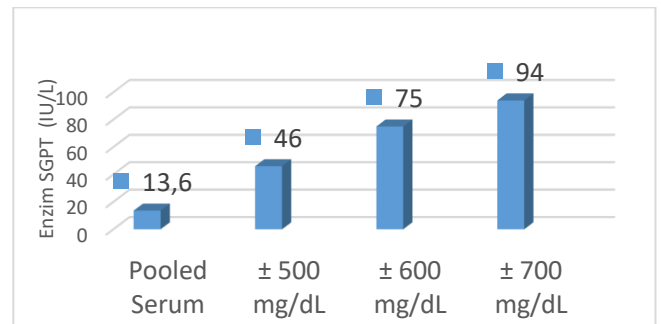
Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Klinik Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Bandung, dari bulan Mei hingga Juni. Serum lipemik buatan dibuat dengan memodifikasi kuning telur, dan kadar trigliserida dalam kuning telur dan pooled serum diukur. Kuning telur yang dicampur dengan NaCl dalam perbandingan 1:1 kemudian diencerkan menggunakan rumus pengenceran, dan kadar trigliserida diukur untuk mendapatkan serum dengan kadar trigliserida masing-masing sekitar ±500 mg/dL, ±600 mg/dL, dan ±700 mg/dL. Pemeriksaan kadar trigliserida dilakukan kembali untuk memastikan kadar trigliserida dalam serum sesuai dengan kebutuhan.

Disiapkan larutan stok PEG 1% dengan menimbang 1 gram PEG dan melarutkannya dalam labu volumetrik 100 mL menggunakan air suling (aquades) hingga tanda batas. Larutan ini kemudian diencerkan dengan aquades menggunakan rumus pengenceran untuk mencapai konsentrasi PEG sebesar 0,05%, 0,10%, dan 0,15%, sesuai kebutuhan. Selanjutnya, sampel lipemik yang telah disiapkan dengan konsentrasi trigliserida yang telah ditetapkan (±500 mg/dL, ±600 mg/dL, ±700 mg/dL) dicampur. Sebanyak 500 µL campuran tersebut dipipet ke tabung reaksi, dan 500 µL PEG dengan konsentrasi 0,05%, 0,10%, dan 0,15% ditambahkan ke tabung dalam perbandingan 1:1. Campuran kemudian diinkubasi pada suhu 4°C selama 30 menit. Sentrifugasi dilakukan dengan waktu yang bervariasi antara 5, 10, dan 15 menit pada kecepatan rotasi 3000 rpm. Supernatan yang jernih yang dihasilkan dipisahkan dan digunakan untuk pemeriksaan enzim SGPT dan kadar trigliserida GPO-PAP menggunakan alat fotometer. Hasil yang diperoleh dikalikan dengan faktor pengenceran 2. Data yang diperoleh kemudian dianalisis dengan uji ANOVA Dua Arah, diikuti dengan uji Post Hoc HSD.

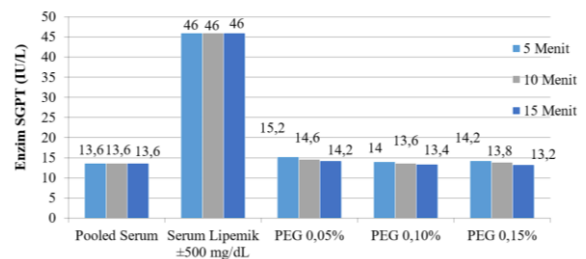
HASIL DAN PEMBAHASAN

Setelah pemeriksaan selesai, hasil yang diperoleh digambarkan dalam Gambar 4.1, yang menunjukkan grafik

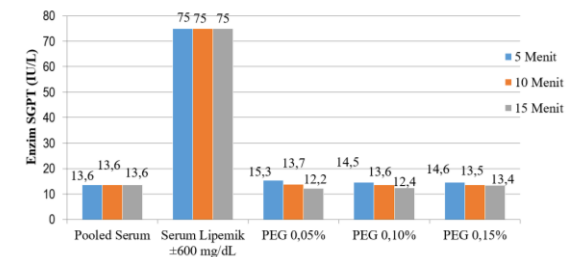
perbandingan hasil antara pengukuran Serum Glutamic Pyruvic Transaminase (SGPT) pada pooled serum awal sebelum dan setelah penambahan lipemia kuning telur yang dimodifikasi pada kadar trigliserida ±500, ±600, dan ±700 mg/dL.



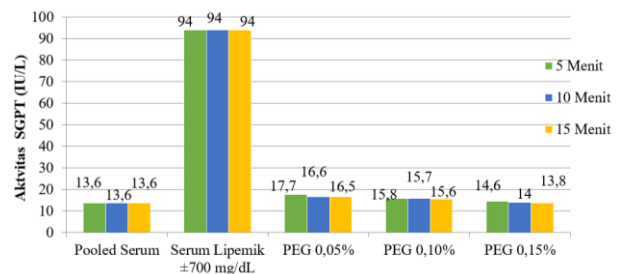
Gambar 1. Hasil Pengukuran Enzim Serum Glutamic Pyruvic Transaminase (SGPT) pada Pooled Serum dan Setelah Perlakuan dalam Bentuk Serum Lemak Telur pada Kadar Trigliserida ±500, ±600, ±700 mg/dL



Gambar 2. Grafik Hasil Pengukuran Enzim Serum Glutamat Piruvat Transaminase (SGPT) pada Kadar Trigliserida ±500 mg/dL Setelah Penambahan PEG dengan Variasi Waktu Sentrifugasi



Gambar 3. Grafik Hasil Pengukuran Enzim Serum Glutamic Pyruvic Transaminase (SGPT) pada Kadar Trigliserida ±600 mg/dL setelah Penambahan Variasi Konsentrasi PEG dan Waktu Sentrifugasi



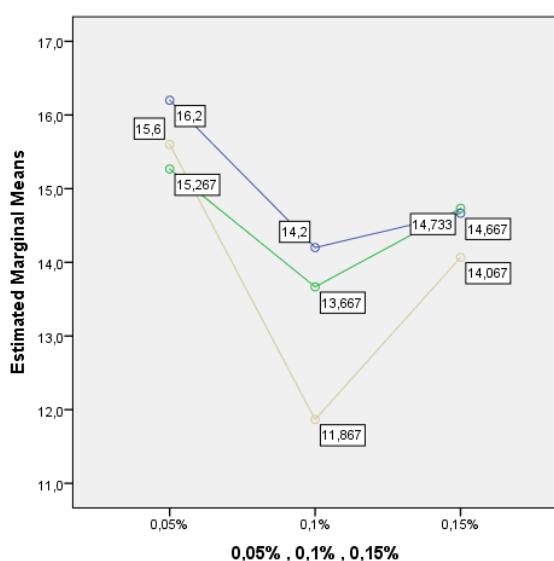
Gambar 4. Grafik Hasil Pengukuran Enzim Serum Glutamic Pyruvic Transaminase (SGPT) pada Kadar Trigliserida ±600 mg/dL setelah Penambahan Variasi Konsentrasi PEG dan Waktu Sentrifugasi

Beberapa kategori serum ditolak karena potensi gangguan pada pemeriksaan, salah satunya adalah serum lipemik. Serum lipemik merujuk pada serum yang terlihat keruh dan berwarna putih susu, disebabkan oleh akumulasi partikel lipoprotein. Berbagai ukuran lipoprotein ada, dan tidak semuanya menyebabkan kekeruhan. Kilomikron, dengan ukuran 70-1000 nm, adalah partikel terkecil

dan penyebab utama kekeruhan.⁽¹¹⁾ Serum lipemik dapat mengganggu berbagai metode pemeriksaan, termasuk analisis fotometri. Dalam fotometer, keberadaan lipoprotein dalam serum lipemik dapat menyerap cahaya. Jumlah cahaya yang diserap oleh serum lipemik berbanding terbalik dengan panjang gelombang. Serum lipemik mengurangi transmisi cahaya karena peningkatan hamburan cahaya dan penyerapan cahaya oleh lipid (terutama kilomikron dan lipoprotein densitas sangat rendah).⁽¹²⁾ Oleh karena itu, serum lipemik menyulitkan analisis fotometri, menghasilkan hasil yang tidak valid. Salah satu uji yang terpengaruh adalah Enzim Serum Glutamat Piruvat Transaminase (SGPT).

Penambahan PEG pada konsentrasi 0,05%, 0,10%, dan 0,15% dengan variasi waktu sentrifugasi 5, 10, dan 15 menit pada sampel lipemik dengan kadar trigliserida ±500 mg/dL, ±600 mg/dL, dan ±700 mg/dL menunjukkan penurunan hasil mendekati nilai awal (serum campuran). Hal ini ditandai dengan nilai pengukuran yang signifikan pada Sig 0,000 (<Sig 0,05). Hasil menunjukkan pengaruh variasi konsentrasi PEG pada serum lipemik, sesuai dengan fungsi PEG yang mengurangi tegangan permukaan dalam larutan. Ini terjadi melalui interaksi gugus polar di kepala dan gugus non-polar di ekor, mengikat gugus non-polar di lemak, sehingga mengikat lipemia berlebih dalam serum. PEG, dalam hal ini, hanya mengikat lipemia berlebih dalam serum. Setelah mencapai konsentrasi tertentu, tegangan permukaan tetap konstan meskipun konsentrasi surfaktan ditingkatkan. Jika konsentrasi ini terlampaui, surfaktan membentuk misel, yang dikenal dengan konsentrasi misel kritis.

Setelah misel terbentuk, tegangan permukaan senyawa tersebut menurun dan tetap konstan, menunjukkan bahwa antarmuka telah jenuh, menghasilkan misel yang stabil dan dinamis.⁽¹³⁾ Selanjutnya, selama sentrifugasi, pemisahan senyawa terjadi berdasarkan berat partikel.⁽¹⁴⁾ Senyawa dengan densitas rendah tetap di atas, sementara yang memiliki densitas tinggi mengendap di dasar tabung. Lemak pada umumnya memiliki densitas tinggi, sehingga mengendap di dasar tabung. Sentrifugasi ini menghasilkan supernatan, yaitu serum jernih yang cocok untuk pengukuran Enzim Serum Glutamat Piruvat Transaminase (SGPT). Hasilnya menunjukkan bahwa penambahan variasi konsentrasi PEG (0,05%, 0,10%, 0,15%) dengan waktu sentrifugasi 5, 10, dan 15 menit masing-masing memengaruhi enzim SGPT dalam serum lipemik dengan kadar trigliserida ±500 mg/dL. Pengukuran awal 46,0 IU/L mengalami penurunan mendekati nilai awal (serum campuran), yaitu 13,6 IU/L.

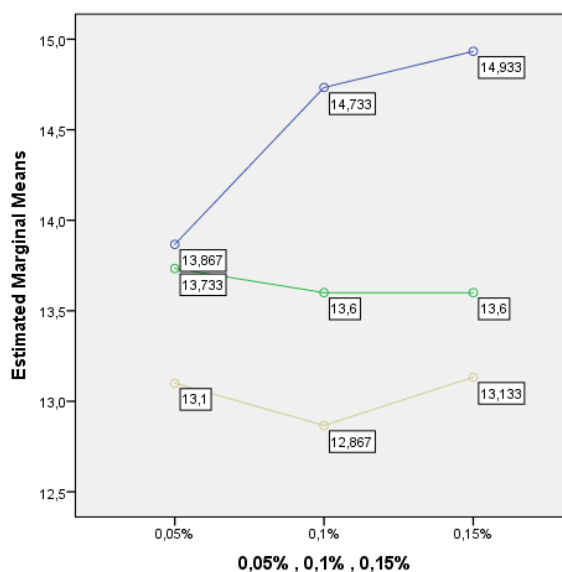


Gambar 5. Grafik Enzim Serum Glutamat Piruvat Transaminase (SGPT) (IU/L) dalam Serum Lipemik dengan Kadar Trigliserida ±500 mg/dL dengan Variasi Konsentrasi PEG 0,05%, 0,10%, 0,15%, dan Waktu Sentrifugasi 5, 10, 15 Menit

Data menunjukkan bahwa penambahan konsentrasi PEG sebesar 0,05% menghasilkan penurunan enzim SGPT.

Namun, pada konsentrasi PEG sebesar 0,10% dan sentrifugasi selama 10 menit, nilai SGPT berkurang secara akurat ke nilai awal sebesar 13,6 IU/L. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa PEG pada konsentrasi 0,10% dan sentrifugasi selama 10 menit adalah konsentrasi PEG dan waktu sentrifugasi optimal untuk penanganan serum lipemik dengan kadar trigliserida ±500 mg/dL pada pengukuran enzim SGPT. Pengaruh variasi konsentrasi PEG dan waktu sentrifugasi pada serum lipemik dengan kadar trigliserida ±500 mg/dL digambarkan dalam Gambar 5.

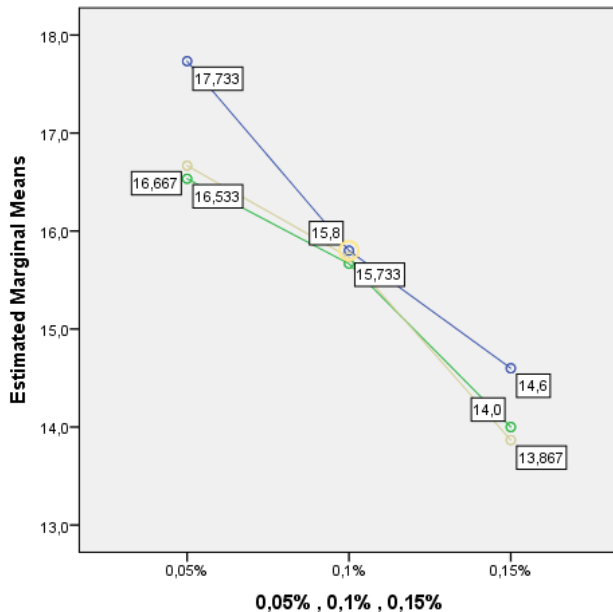
Data menunjukkan bahwa pada serum lipemik dengan kadar trigliserida ±600 mg/dL, pengukuran awal Enzim Serum Glutamat Piruvat Transaminase (SGPT) sebesar 75,0 IU/L mengalami penurunan yang signifikan mendekati nilai awal (pooled serum) SGPT, yaitu 13,6 IU/L. Pada konsentrasi awal penambahan PEG, yaitu 0,05%, terjadi penurunan enzim SGPT. Namun, pada konsentrasi PEG 0,10% dengan waktu sentrifugasi 10 menit, nilai SGPT kembali secara tepat seperti nilai awal (pooled serum), yaitu 13,6 IU/L. Oleh karena itu, PEG dengan konsentrasi 0,10% dan waktu sentrifugasi selama 10 menit merupakan konsentrasi PEG dan waktu sentrifugasi yang optimal untuk penanganan serum lipemik dengan kadar trigliserida ±600 mg/dL pada pengukuran SGPT. Sebaran data yang menunjukkan pengaruh penambahan PEG dan waktu sentrifugasi pada serum lipemik dengan kadar trigliserida ±600 mg/dL dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Grafik Nilai Pengukuran Enzim Serum Glutamat Piruvat Transaminase (SGPT) (IU/L) pada Serum Lipemik dengan Kadar Trigliserida ±600 mg/dL dengan Penambahan Variasi Konsentrasi PEG 0,05%, 0,10%, 0,15% dan Waktu Sentrifugasi Selama 5, 10, 15 Menit

Data menunjukkan bahwa pada serum lipemik dengan kadar trigliserida ±700 mg/dL, nilai pengukuran Aktivitas Serum Glutamat Piruvat Transaminase (SGPT) adalah 94,0 IU/L. Dengan penambahan PEG pada konsentrasi 0,05%, 0,10%, dan 0,15%, nilai SGPT mengalami penurunan yang signifikan hingga mendekati nilai awal yaitu 13,6 IU/L. Dalam pemeriksaan kimia klinik, terdapat istilah yang dikenal sebagai TEa (Total Error Allowable), yang merupakan batas toleransi variasi hasil pemeriksaan.⁽¹⁵⁾ Dalam konteks ini, hasil pemeriksaan enzimatik memiliki nilai TEa yang relatif besar, sekitar 20%. Oleh karena itu, ketika PEG ditambahkan pada konsentrasi 0,15% dengan waktu sentrifugasi selama 15 menit, menghasilkan nilai SGPT sebesar 13,8 IU/L, dianggap sudah kembali ke nilai awal, karena nilai TEa enzimatik sebesar 20%. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa

penambahan PEG pada konsentrasi 0,15% dengan waktu sentrifugasi selama 15 menit merupakan konsentrasi dan waktu sentrifugasi PEG yang optimal untuk persiapan serum lipemik dengan kadar trigliserida ± 700 mg/dL pada pemeriksaan SGPT. Sebaran data yang menunjukkan pengaruh penambahan PEG dan waktu sentrifugasi pada serum lipemik dengan kadar trigliserida ± 700 mg/dL dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Grafik Nilai Pengukuran Aktivitas Serum Glutamat Piruvat Transaminase (SGPT) (IU/L) pada Serum Lipemik dengan Kadar Trigliserida ± 700 mg/dL dengan Penambahan Variasi Konsentrasi PEG 0,05%, 0,10%, 0,15% dan Waktu Sentrifugasi Selama 5, 10, 15 Menit

SIMPULAN

Dari hasil penelitian ini, telah ditentukan konsentrasi PEG dan waktu sentrifugasi yang dapat digunakan untuk mengendapkan kekeruhan pada serum lipemik buatan dengan modifikasi kuning telur pada parameter Alanin Aminotransferase (ALT). Konsentrasi PEG 0,10% optimal efektif mengatasi serum lipemik pada kadar trigliserida 500 mg/dL dan 600 mg/dL dengan waktu sentrifugasi selama 10 menit. Sementara itu, konsentrasi PEG 0,15% optimal efektif mengatasi serum lipemik pada kadar trigliserida ± 700 mg/dL dengan waktu sentrifugasi selama 15 menit.

Sebagai rekomendasi untuk penelitian selanjutnya, disarankan untuk melakukan studi lanjutan yang berfokus pada kadar trigliserida di bawah ± 500 mg/dL. Selain itu, penelitian dapat diperluas ke sampel lain selain serum lipemik, seperti serum ikterik dan hemolisis. Hal ini akan memberikan pemahaman yang lebih komprehensif tentang efek PEG dalam mengatasi interferensi pada berbagai jenis sampel serum.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Lippi G, Chance JJ, Church S, Dazzi P, Fontana R, Giavarina D, et al. *Preanalytical quality improvement: from dream to reality*. Clin Chem Lab
- [2] S.M. Khopkar, "Basic Concept of Analytical Chemistry", Wiley Eastern Limited, 2020.
- [3] Nikolac, N. *Lipemia: causes, interference mechanisms, and*

management. 2014. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC393674/>

- [4] Guder WG, da Fonseca-Wollheim F, Heil W, et al. The Haemolytic, Icteric and Lipemic Sample Recommendations Regarding their Recognition and Prevention of Clinically Relevant Interferences. De Gruyter. 2023
- [5] Gentili, A. Cyclodextrin-based sorbents for solid phase extraction. Science direct. 2020. Volume 1609.
- [6] Evaluation and operationalization of commercial serum indices quality control material in the clinical laboratory. Approved Guideline. Clinical Laboratory Standards Institute; Wayne, Pennsylvania, USA: 2022. CLSI C56-A document.
- [7] Wardana, D, Ramadhan, A, Prihatini, D, Eddiyanto. Indonesian Journal of Chemical Science and Technology State University of Medan. IJCST-UNIMED, Vol. 02, No. 2, Page: 111 – 120
- [8] Bodner, G. M. dan H. L. Pardue. 1989 *Chemistry An Experimental Science*. John Willey and Sons. Inc., New York.
- [9] Grosser, T., Smyth, E.M, dan Fitzgerald, G.A., 2011. *Anti-inflammatory, Antipyretic and Analgesic Agent; Pharmacology of Gout*. In: Goodman and Gilman's The Pharmacological Basic of Therapeutics. Twelveth Edition. New York: McGraw-Hill 986-987.
- [10] Hui YH. 2020. Bailey's Industrial Oil and Fat Products. 6th edition, volume ke-2. New York: John Willey & Sons, Inc.
- [11] Lee, M. 2022. Basic Skill in Interpreting Laboratory Data 7th Edition. Maryland : American Society of HeSGPTh-System Pharmacists, Inc.
- [12] Piyophiprong, S., Wontiraporn. W., dan Sribben, K. 2020. Fictitious Result in Clinical Chemistry Test Caused by Common Endogenous Interferents. Siniraj Medical Journal. Volume 62 Number 4.
- [13] Genaro, R.A., 2020, Rhemingtons Pharmaceutical Science, 21th , Mack Printing Company, Easton, Pennsylvania, USA, 267
- [14] Wu, Z., Zhao, Yin, Wei Y, Liu, Zhu, N, Tan and Liu J. Separation and characterization of biomacromolecules using flow field-flowfractionation: current applications and prospects. 2023.
- [15] Muhamad Robiul Fuadi (2019). Using Six Sigma to Evaluate Analytical Performace of Hematology Analyzer. *Indonesian Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory*. Vol 2 no 25. p-ISSN: 0854-4263. e-ISSN: 2477-4685