

Perbandingan Hasil Pemeriksaan Kadar Kolesterol Total Metode *Electrode-Based Biosensor* Dengan Metode Spektrofotometri

David Suwandi*, Christine Sugiarto**, Fenny***

*Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha, Bandung

**Bagian Patologi Klinik Fakultas kedokteran Universitas Kristen Maranatha, Bandung

***Bagian Patologi Klinik Fakultas kedokteran Universitas Kristen Maranatha, Bandung

Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha

Jl. Prof. Drg. Suria Sumantri No. 65, Bandung

ABSTRAK

Latar Belakang Penyakit jantung koroner menempati urutan pertama sebagai penyebab kematian non-infeksi menurut WHO, dengan 17.000.000 kematian di dunia pada tahun 2008 dan erat kaitannya dengan kadar lipid yang berlebih dalam tubuh. Pemeriksaan profil lipid biasa dilakukan di laboratorium menggunakan spektrofotometer sebagai baku emas. Pemeriksaan dengan spektrofotometer relatif lebih mahal, lama, dan invasif. Saat ini, didapatkan metode pemeriksaan baru, yaitu *electrode-based biosensor* dimana masyarakat dapat melakukan pemeriksaan dengan mandiri, mudah, cepat, dan murah.

Tujuan Penelitian Untuk mengetahui kesesuaian hasil pemeriksaan kadar kolesterol total metode *electrode-based biosensor* dibandingkan dengan metode spektrofotometri.

Metode Penelitian Bersifat observasional, analitik dan cross sectional. Penelitian ini dilakukan pada 30 orang mahasiswa kedokteran FK UKM, dilakukan pengukuran kadar kolesterol total dengan menggunakan metode *electrode-based biosensor* dan spektrofotometri. Analisis menggunakan uji t berpasangan dengan $\alpha=0,05$.

Hasil Rerata hasil pemeriksaan kadar kolesterol total metode *electrode-based biosensor* sebesar 183,83 setara dengan hasil pemeriksaan menggunakan spektrofotometer 182,10 dengan $p=0,703$.

Simpulan Hasil pemeriksaan kadar kolesterol total metode *electrode-based biosensor* sesuai dengan metode spektrofotometri.

Kata Kunci : Kolesterol Total, *Electrode-based Biosensor*, Spektrofotometri, Atherosklerosis

The Comparison of Total Cholesterol Level Between *Electrode-Based Biosensor Method* and *Spectrophotometry Method*

David Suwandi*, Christine Sugiarto**, Fenny***

*Faculty of Medicine, Maranatha Christian University, Bandung

**Department of Clinical Pathology, Faculty of Medicine, Maranatha Christian University, Bandung

***Department of Clinical Pathology, Faculty of Medicine, Maranatha Christian University, Bandung

Faculty of Medicine - Maranatha Christian University

Jl. Prof. Drg. Suria Sumantri No. 65, Bandung

ABSTRACT

Backgrounds Coronary Heart Disease has become the first cause of non-communicable death according to WHO, with 17.000.000 death around the world in 2008 and related with an excess of lipid level in human body. Lipid measurement is usually done using a spectrophotometer as the gold standard. Measurement using a spectrophotometer is quite expensive, time-consuming, and invasive. Nowadays, there is new method to measure total cholesterol level, which is called electrode-based biosensor where citizen can use this independently, simpler, faster, and cost-effective.

Objectives To find out the equivalence of total cholesterol level measured by electrode-based biosensor method and spectrophotometry method

Methods Research design was observational, analytical, and cross sectional. Subjects were 30 Faculty of Medicine students in MCU. Total cholesterol level was measured by electrode-based biosensor and spectrophotometry method. Statistical analysis used was paired t-test ($\alpha=0.05$).

Results The mean of total cholesterol level measured by electrode-based biosensor method (183.83 mg/dl) is equal with the mean of total cholesterol level using spectrophotometry (182.10 mg/dl) with $p=0.703$.

Conclusion Total cholesterol level measured by electrode-based biosensor method is equal with spectrophotometry method.

Keywords: Total Cholesterol, Electrode-Based Biosensor, Spectrophotometry, Atherosclerosis

PENDAHULUAN

Lipid atau lemak tubuh adalah salah satu komponen yang dibutuhkan untuk proses-proses kimiawi dalam tubuh. Lipid bertindak sebagai bahan dasar pembuatan hormon, sumber energi dan berperan sebagai komponen struktural membran sel. Lipid juga berperan dalam membantu proses pencernaan. Lipid bersumber dari makanan yang dikonsumsi serta disintesis pula dalam hati. Lipid terdiri dari beberapa kelompok yaitu triasilgliserol, fosfolipid, kolesterol, dan asam lemak bebas. Lipid agar dapat diangkut melalui aliran darah harus berikatan dengan protein membentuk senyawa yang larut dalam air yang disebut lipoprotein.¹

Kadar lipid dalam darah yang berlebihan dapat membahayakan tubuh. Lipid dapat mengakibatkan terjadinya proses atherosklerosis.² Atherosklerosis menyebabkan berkurangnya diameter pembuluh darah arteri sehingga terjadi iskemia jaringan hingga kematian pada otot-otot jantung.³

Berdasarkan *Global Health Observatory* yang dilakukan oleh WHO, penyakit jantung koroner menempati urutan pertama sebagai penyebab kematian non-infeksi dengan presentase sebesar 58,25%. WHO menyatakan sebanyak 17.000.000 orang di dunia meninggal akibat PJK pada tahun 2008.⁴

Berbagai faktor dapat mempengaruhi kadar lemak dalam darah. Gaya hidup tidak sehat, pola makan tinggi lemak dan karbohidrat, serta kurangnya olahraga secara teratur berperan penting dalam terjadinya gangguan metabolisme lemak. Pemantauan profil lipid penting dilakukan untuk

memantau risiko terjadinya penyakit akibat gangguan metabolisme lemak. Skrining disarankan pada anak-anak di atas 2 tahun dengan riwayat orang tua penderita hiperkolesterolemia (>240 mg/dl) atau riwayat PJK pada keluarganya dan pada mereka yang berusia di atas 16 tahun.¹

Pemantauan profil lipid idealnya dilakukan 1x dalam 5 tahun.⁵ Pemeriksaan profil lipid biasa dilakukan di laboratorium patologi klinik dengan metode spektrofotometri. Pemeriksaan ini merupakan baku emas namun memiliki beberapa kerugian yaitu harga yang mahal, waktu pemeriksaan yang relatif lebih lama dan pengambilan sampel darah vena yang invasif menyebabkan masyarakat mengabaikan pentingnya pemeriksaan kadar kolesterol total sebagai langkah awal untuk mendeteksi gangguan metabolisme lemak.⁶

Kesulitan ini menyebabkan timbulnya metode yang lebih praktis, yaitu *electrode-based biosensor*. Metode ini memungkinkan masyarakat untuk melakukan pemeriksaan secara mandiri, *low-cost*, serta cara pemakaian yang lebih mudah dengan waktu yang cepat. Pengambilan sampel yang dilakukan juga tidak terlalu invasif.⁷

Munculnya metode ini menimbulkan keraguan bagi masyarakat mengenai keakuratan hasil pemeriksaan dengan menggunakan metode biosensor mengingat harganya yang relatif lebih murah. Berdasarkan hal-hal tersebut, peneliti hendak melihat kesesuaian hasil pemeriksaan kadar kolesterol total metode *electrode-based biosensor* dibandingkan dengan

metode spektrofotometri sebagai baku emas.

TUJUAN PENELITIAN

Tujuan penelitian ialah untuk mengetahui kesesuaian hasil pemeriksaan kadar kolesterol total metode *electrode-based biosensor* dibandingkan dengan metode spektrofotometri.

METODE PENELITIAN

Desain penelitian adalah observasional analitik. Data yang diukur adalah kadar kolesterol total subjek percobaan yang diukur dengan menggunakan metode *electrode-based biosensor* dan metode spektrofotometri. Analisis data dengan uji "t" berpasangan dengan $\alpha = 0.05$. Data diolah menggunakan perangkat lunak komputer.

Alat dan Bahan

Alat :

- Kapas dan alkohol 70%
- Jarum dan Spuit 5 cc
- Manset
- Lanset
- *Puncturer*
- Alat sentrifugasi
- Modular P 800
- *Cholesterol control check* (Nesco MultiCheck)
- Nesco MultiCheck *Blood Cholesterol Test Strip* yang mengandung :
 - *Cholesterol Oksidase* ≥ 3 IU
 - Bahan-bahan nonreaktif ≥ 2.1 mg

Bahan :

- Serum dari vena brachialis dextra subjek percobaan
- *fresh capillary whole blood*

Subjek penelitian :

Subjek Penelitian adalah 30 orang mahasiswa Fakultas Kedokteran Umum Universitas Kristen Maranatha dengan memenuhi kriteria sebagai berikut :

Kriteria Inklusi :

- Berusia 18 – 25 tahun
- Tidak mengonsumsi bahan makanan yang bersifat oksidator seperti vitamin C dalam jumlah yang berlebihan
- Tidak sedang menderita :
 - hepatitis atau keadaan hiperbilirubinemia lainnya
 - dehidrasi berat
 - hipotensi berat
 - *hypoglycemic-hyperosmolar state* (dengan/tanpa ketosis)
 - gagal ginjal akut
- Bersedia secara sukarela diambil darahnya dan telah menandatangani *informed consent*

Kriteria Eksklusi

- Hematokrit kurang dari 30% atau lebih dari 55%
- Hasil pemeriksaan kadar kolesterol total kurang dari 100 mg/dl atau lebih dari 400 mg/dl.

Prosedur Pemeriksaan

Persiapan dan Pengambilan Sampel

- a. Subjek penelitian diberitahu tujuan penelitian, manfaat, cara penelitian dan menandatangani *informed consent*.
- b. Subjek penelitian dibawa ke dalam laboratorium Patologi

Klinik FK UKM untuk dilakukan pengambilan sampel.

- c. Pengambilan sampel pertama dilakukan dengan cara melakukan tindakan aseptik menggunakan alkohol 70% pada jari telunjuk kanan. Setelah mengering, jari telunjuk tangan kanan ditusuk menggunakan lanset untuk pengambilan sampel darah kapiler. Darah kapiler digunakan untuk pemeriksaan kolesterol total metode *electrode-based biosensor*.
- d. Kemudian, subjek penelitian dibawa ke Laboratorium Klinik Prodia Universitas Kristen Maranatha untuk dilakukan prosedur pengambilan darah kedua dari vena cubiti dextra. Darah vena digunakan untuk pemeriksaan kolesterol total metode spektrofotometri.

Metode Spektrofotometri

- a. Sampel darah yang telah diambil kemudian dimasukkan ke dalam tabung yang berisi antikoagulan EDTA.
- b. Sampel disentrifugasi dengan kecepatan 2.500 rpm selama 15 menit.
- c. Kemudian sampel akan dimasukkan ke dalam alat Modular P 800 untuk determinasi kadar kolesterol total menggunakan cahaya dengan panjang gelombang 700/500 nm.

Metode *Electrode-Based Biosensor*

- a. *Strip test* untuk kolesterol dikeluarkan dari tabung, tutup tabung segera. Setiap tabung strip memiliki satu kode. Kode yang tertera pada tabung strip

harus sesuai dengan kode *strip test*.

- b. *Strip test* dimasukkan ke dalam slot yang terdapat pada alat pengukur. Pada layar alat pengukur akan tampak kode strip test.
- c. Saat layar menunjukkan gambar tetesan darah, lakukan pengambilan sampel menggunakan lanset.
- d. Setelah darah keluar, tetesan darah diletakkan pada salah satu sisi area target *strip test* hingga memenuhi seluruh area target. Darah akan diabsorpsi dan menyebabkan area target berubah warna menjadi merah.
- e. Hasil akan tampak pada layar alat pengukur setelah 150 detik.
- f. *Strip test* dilepaskan dari alat pengukur dan dibuang bersama dengan lanset bekas pakai ke tempat sampah medis.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1 Hasil Uji t Berpasangan dari Pemeriksaan Kadar Kolesterol Total Metode *Electrode Based-Biosensor* dan Spektrofotometer

		N	Rerata	Standar Deviasi	Uji t	Nilai p
Kadar Kolesterol	<i>Biosensor</i>	30	183,83	32,638	0,384	0,703 ^{ns}
Total	Spektrofotometer	30	182,10	27,734		

Keterangan

n : Jumlah subjek penelitian

ns : non signifikan ($p > 0,05$)

DISKUSI

Dari Tabel 1 didapatkan bahwa rerata hasil pemeriksaan kadar kolesterol total dengan menggunakan *electrode-based biosensor* sebesar 183,83 mg/dl (SD = 32,638) setara dengan hasil pemeriksaan kadar kolesterol total menggunakan spektrofotometer sebesar 182,10 mg/dl (SD = 27,734) dengan perbedaan sebesar 1,73. Hasil uji t berpasangan menunjukkan $p = 0,703$ ($p > 0,05$).

Penelitian kali ini membuktikan bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna antara hasil pemeriksaan kadar kolesterol total menggunakan *biosensor* dan spektrofotometer. Hal ini dimungkinkan karena perkembangan teknologi *biosensor* yang semakin pesat akibat tingginya kebutuhan masyarakat akan sarana pemeriksaan penunjang yang cepat, murah, dan mudah. Pemilihan metode imobilisasi yang tepat akan membuat enzim tidak mudah berinteraksi dengan dunia luar sehingga hasil menjadi lebih akurat. Selain itu, matriks yang digunakan juga mengalami perkembangan sehingga faktor-faktor intervensi tidak mempengaruhi hasil pemeriksaan secara bermakna.⁶

Pada penelitian ini, seluruh subjek penelitian memiliki kadar kolesterol total sesuai dengan batas kemampuan (*range*) deteksi alat yaitu 100 mg/dl hingga 400 mg/dl. Hal ini berkaitan dengan nilai *cut-off* alat dan juga keterbatasan jumlah enzim yang terdapat dalam *strip-test*. Jika kadar kolesterol total subjek berada diluar *range* tersebut, maka kesesuaian masih dipertanyakan.⁸

Nilai hematokrit subjek penelitian juga memegang peranan penting. Subjek dalam penelitian kali ini memiliki *range* hematokrit antara 30-55%. Apabila kadar hematokrit subjek kurang dari 30%, maka komponen plasma akan jauh lebih tinggi dibandingkan sel darah sehingga menyebabkan kadar kolesterol total seolah bertambah secara semu. Di sisi lain, kadar kolesterol total akan berkurang semu jika terjadi hemokonsentrasi dengan kadar hematokrit di atas 55% akibat komponen plasma yang berkurang dan meningkatnya komponen sel darah. Perlu diketahui bahwa kolesterol total yang dideteksi hanyalah yang terdapat dalam plasma darah dan bukan merupakan kolesterol yang membentuk struktur dan komponen

sel darah. Bahan pemeriksaan yang hemolisis juga akan menghasilkan kadar *false high* akibat bercampurnya kolesterol dalam sel darah ke plasma.⁸

Perbedaan yang ada (meskipun tidak bermakna secara statistik) dimungkinkan karena perbedaan kadar kolesterol total dalam plasma vena dan kapiler. Berdasarkan penelitian terdahulu, kadar kolesterol plasma kapiler lebih tinggi 3,6% dibandingkan kadar plasma vena. Penyebab hal ini belum diketahui secara pasti, namun diperkirakan akibat adanya berbagai peranan, seperti :

- Penggunaan antikoagulan EDTA pada plasma vena akan mengakibatkan efek osmotik sehingga terjadi hemodilusi dan mengakibatkan penurunan kadar lipid secara semu.
- Proses pengambilan sampel darah kapiler dengan cara mengurut jari akan menyebabkan masuknya cairan limfe yang mengandung kolesterol. Namun hal ini juga masih dalam perdebatan karena total lemak dalam cairan limfe perifer hanya berkisar 10%.⁹

Hasil yang berbeda juga dapat dikarenakan adanya penggunaan alat yang memancarkan radiasi elektromagnetik saat dilakukan pemeriksaan.⁸ Produksi alat secara massal juga dapat mengakibatkan proses preparasi transduser dan imobilisasi yang kurang tepat sehingga hasil pemeriksaan menjadi berbeda.¹⁰ Namun hal ini tidak menjadi masalah besar karena telah

dilakukan *quality control* oleh produsen.

Keterbatasan penelitian ini terletak pada beberapa hal, yaitu :

- Informasi mengenai tipe imobilisasi, matriks serta elektroda yang digunakan dalam Nesco MultiCheck tidak ditemukan sehingga sulit bagi peneliti untuk menentukan faktor utama apakah yang menyebabkan hasil pemeriksaan kadar kolesterol total dengan menggunakan alat ini sesuai dengan hasil spektrofotometer.
- Sampel kapiler yang terkadang kurang memaksa peneliti untuk mengurut jari untuk mengeluarkan sampel hingga adekuat.
- Meskipun hasil penelitian ini menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna, *National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III)* masih merekomendasikan penggunaan spektrofotometri dengan bahan pemeriksaan serum sebagai *gold standard* dalam mendiagnosis serta memantau terapi hiperkolesterolemia sehingga dalam kondisi-kondisi tertentu (kadar kolesterol total > 400 mg/dl), pemeriksaan spektrofotometri tetap perlu dilakukan dan tidak dapat digantikan oleh metode *electrode-based biosensor*.

Hipotesis Penelitian adalah terdapat kesesuaian hasil pemeriksaan kadar kolesterol total

metode *electrode-based biosensor* dengan metode spektrofotometri.. Hal-hal yang mendukung adalah dari hasil uji t berpasangan untuk nilai p adalah 0,703. Hal ini menunjukkan hasil pemeriksaan kadar kolesterol total metode *electrode-based biosensor* sesuai dengan metode spektrofotometri. Sedangkan hal-hal yang tidak mendukung tidak didapatkan. Dengan demikian, hipotesis gagal ditolak.

SIMPULAN

Hasil pemeriksaan kadar kolesterol total metode *electrode-based biosensor* sesuai dengan metode spektrofotometri.

SARAN

Dokter dapat menggunakan perangkat *biosensor* dalam praktek sehari-hari untuk melakukan skrining kadar kolesterol total pada masyarakat luas secara cepat, mudah dan murah.

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menguji sensitivitas dan spesifitas metode *electrode-based biosensor* dengan menggunakan sampel darah kapiler.

Dapat dilakukan penelitian lanjutan untuk penggunaan metode *electrode-based biosensor* pada neonatus dan pemantauan terapi penderita hiperkolesterolemia menggunakan sampel darah kapiler.

DAFTAR PUSTAKA

1. **Burtis, Carl A., Ashwood, Edward R. and Bruns, David E.** *Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry*. 6. St. Louis, Missouri : Elsevier, 2008.
2. **Adelman, Daniel C., et al.** *Harper's Illustrated Biochemistry*. 27. United States of America : The McGraw-Hill Companies, Inc., 2006.
3. **Fauci, Anthony S., et al.** *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 17. United States : The McGraw-Hill Companies, Inc, 2008.
4. **WHO.** Global Health Observatory. *World Health Organization*. [Online] 2013. [Dipetik: Januari 19, 2013.] dari http://www.who.int/gho/ncd/mortality_morbidity/en/index.html.
5. **NCEP-ATP III.** United States : US Department of Health and Human Service, 2001.
6. **Electrochemical Biosensors for Biomedical and Clinical Applications : A Review.** **Rahman, Aminur, Park, Deog-Su and Shim, Yoon-Bo.** 2005, J. Biomed. Eng. Res., Vol. 26, hal. 271-282.
7. **Application on Self-Assembled Monolayer of 10-Carboxy-1-Decanethiol for Cholesterol Biosensor.** **Solanki, P. R., et al.** 2008, Journal of Biomedical & Pharmaceutical Engineering, hal. 7-13.
8. **Nesco MultiCheck : User's Manual.** Taiwan : Kern Int'l Corp.
9. **Blood Cholesterol Concentration : Fingerstick Plasma vs Venous Serum Sampling.** **Greenland,**

Philip, et al. 1990, *Clinical Chemistry*, hal. 628-630.

10. *An Amperometric Cholesterol Biosensor Prepared By Immobilization of Cholesterol Oxidase Based in Screen-Printed Graphite Film Electrode.* **Hiskia and Manurung, Robeth V.** 2009, *Jurnal Elektronika*, hal. 7-11.