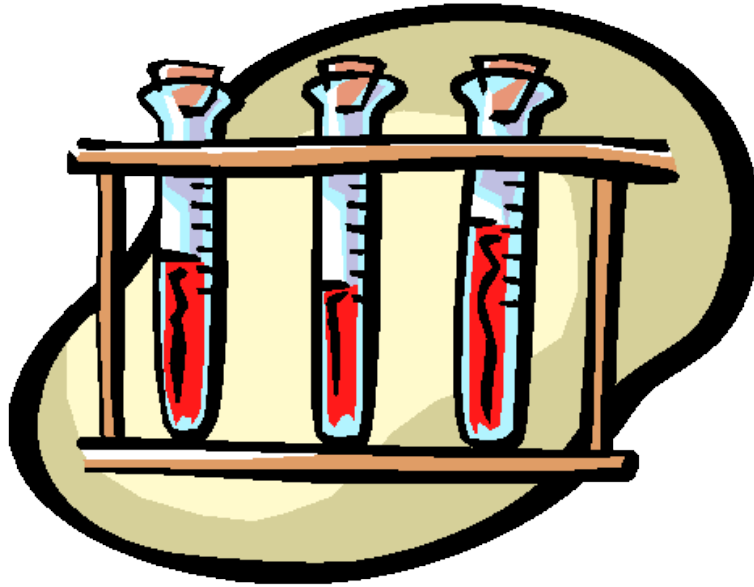


PENUNTUN PRAKTIKUM PATOLOGI KLINIK

SISTEM ENDOKRIN DAN METABOLISME



Dr. dr. Tri Ariguntar W, Sp.PK



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN KESEHATAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH JAKARTA**

2020

PRAKTIKUM PATOLOGI KLINIK SISTEM ENDOKRIN DAN METABOLIK

Capaian Pembelajaran:

1. Mahasiswa mampu menggunakan alat pemeriksaan glukosa darah mandiri (PGDM) yaitu alat glukometer dan mampu menginterpretasikan hasil pemeriksaannya.
2. Mahasiswa mampu melakukan pemeriksaan laboratorium untuk Skrining, diagnosis dan monitoring penyakit/kelainan pada sistem Endokrin Metabolik yaitu Diabetees Mellitus (DM), Sindroma Metabolik dan Dislipidemia.
3. Mahasiswa mampu menginterpretasi hasil pemeriksaan laboratorium pada penyakit/kelainan pada sistem Endokrin Metabolik

Sasaran pembelajaran :

1. Mahasiswa mampu menyiapkan alat, bahan, reagen dan sampel untuk pemeriksaan laboratorium pada sistem Endokrin Metabolik.
2. Mahasiswa mampu memakai alat glukometer secara benar untuk pemeriksaan kadar glukosa darah kapiler.
3. Mahasiswa mampu mengerjakan pemeriksaan dengan alat spektrofotometer sesuai dengan prosedur untuk pemeriksaan kadar glukosa plasma dan fraksi lipid
4. Mahasiswa mampu menginterpretasi hasil pemeriksaan yang dilakukan serta menetapkan hasil pemeriksaan yang akurat dan valid.
5. Mahasiswa mampu melaporkan hasil pemeriksaan laboratorium pada sistem Endokrin Metabolik sesuai satuan internasional.

PEMERIKSAAN GLUKOSA DARAH MANDIRI (PGDM)

Pemeriksaan glukosa darah mandiri merupakan pemeriksaan glukosa darah berkala yang dilakukan dengan menggunakan glukometer oleh penyandang sendiri dan atau keluarga. Indikasi penggunaan alat PGDM adalah Diabetes Mellitus tipe 1 dan DM tipe 2.

Glukometer yang digunakan sebaiknya yang sudah terstandarisasi sesuai ISO-15197 tahun 2013. Sebaiknya pilih yang mudah cara penggunaan, pemeliharaan dan pembersihannya. Tampilan layar jelas dan tulisan mudah terbaca agar tidak salah interpretasi. Aman dan reliabilitasnya baik (tahan terhadap guncangan, getaran dan panas) serta mempunyai presisi dan akurasi yang baik.

Akurasi adalah kesesuaian hasil pemeriksaan dengan standar dari acuan yang sudah disepakati. Akurasi hasil pemeriksaan merupakan hal yang sangat penting karena akan mempengaruhi keputusan klinis. Akurasi ini dapat dipengaruhi oleh faktor lingkungan (kelembaban, temperature, tekanan atmosfer), proses produksi alat dan kesalahan cara penggunaan alat glukometer.

1. Alat dan bahan

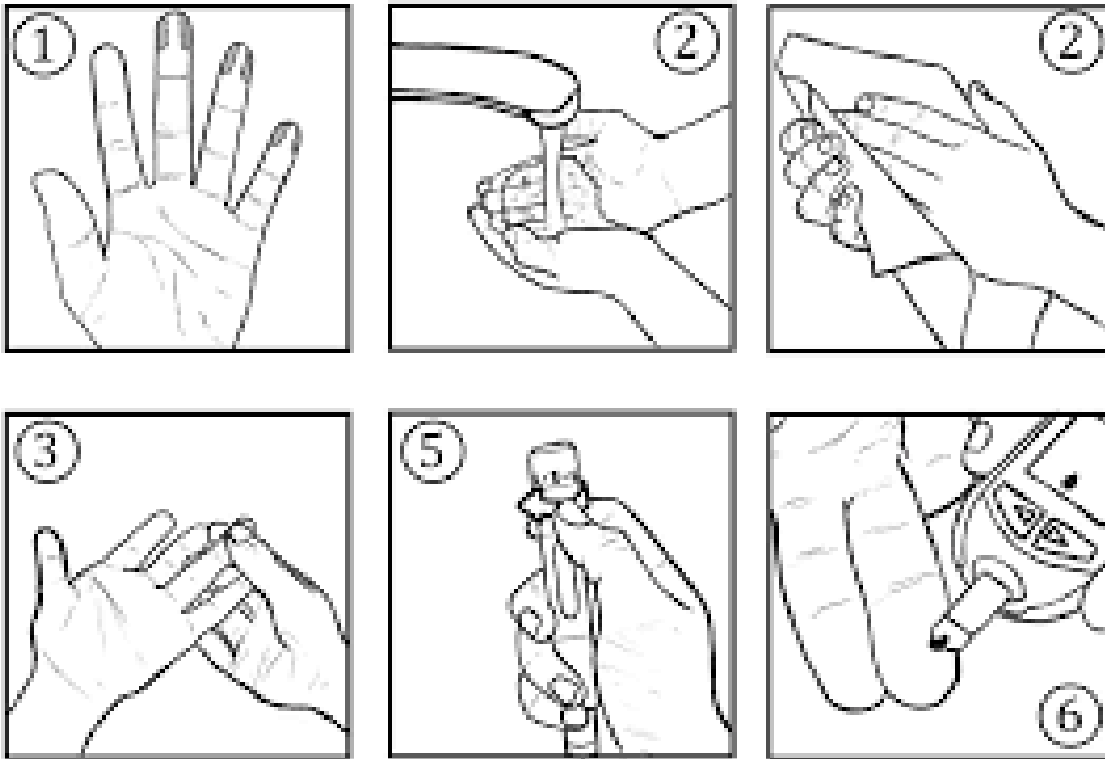
- Alat Glukometer
- Strip reagen glukometer
- Alkohol Swab
- Lancet
- Sarung tangan



Gambar 1. Alat dan bahan pemeriksaan glukosa darah mandiri

2. Prosedur penggunaan alat glukometer
 - a. Siapkan Alat glukometer dan reagen strip. Masukkan chip pada alat sehingga tertera nomor kode sebagai kalibrasi, setelah masukkan strip pada alat dan perhatikan layar monitor alat glucometer. Bila terlihat tanda tetesan artinya alat tersebut siap digunakan.
 - b. Memilih tempat tusukan : Pilihlah tepi ujung jari tangan (bagian lateral ujung jari), terutama jari ke 3,4 dan 5 karena kurang menimbulkan rasa sakit.
 - c. Mencuci tangan dengan sabun dan keringkan. Bersihkan tempat yang akan ditusuk dengan alkohol (76%) swab.
 - d. Hangatkan jari yang akan ditusuk atau lakukan pijatan ringan ujung jari sebelum ditusuk. Setelah ditusuk jari tidak boleh ditekan-tekan.
 - e. Gunakan lanset yang tipis dan tajam untuk menghindari rasa nyeri dan gunakan satu lancet untuk satu kali pemeriksaan.
 - f. Lakukan pengaturan kedalaman tusukan lanset sesuai kebutuhan masing-masing individu.
 - g. Tusukkan lanset dengan benar pada ujung jari bagian lateral.

- h. Teteskan darah pada ujung strip. Masing-masing alat glukometer mempunyai cara yang berbeda sehingga perlu diperhatikan cara dan syarat masing-masing alat glukometer tersebut.
- i. Perhatikan layar monitor dan lihat hasil pemeriksaan kadar glukosa darah.
- j. Bersihkan ujung jari dengan kapas steril atau alcohol swab.
- k. Buang strip dan lanset pada tempat sampah medis dan tempat sampah tajam.



Gambar 2. Prosedur penggunaan glukometer

PEMERIKSAAN GLUKOSA DARAH (GDS, GDP, GD2PP, TTGO)

Pemeriksaan kadar glukosa darah dapat digunakan untuk skrining, diagnosis dan monitoris pada mereka yang berisiko untuk DM atau pada pasien DM tipe 1 maupun DM tipe 2. Diabetes Mellitus merupakan suatu kelompok penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikemia (peningkatan kadar glukosa dalam darah melebihi batas normal) yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin atau keduanya.

PRAANALITIK

Persiapan pasien

- **GDP :**
 - Pasien dipuasakan 8 – 12 jam sebelum tes.
 - Semua obat dihentikan dulu, bila ada obat yang harus diberikan ditulis pada formulir permintaan lab.
- **GD2PP:**
 - Dilakukan 2 jam setelah tes GDP.
 - Pasien diberikan makanan yang mengandung 100 gram karbohidrat sebelum tes dilakukan.
- **TTGO (WHO, 1994):²**
 - Tiga (3) hari sebelum tes makan seperti biasa (karbohidrat cukup).
 - Kegiatan jasmani seperti yang biasa dilakukan.
 - Puasa minimal 8 jam dimulai malam hari sebelum tes dilakukan, minum air putih diperbolehkan.

Persiapan sampel:

- Pengambilan sampel sebaiknya pagi hari karena adanya variasi diurnal. Pada sore hari glukosa darah lebih rendah sehingga banyak kasus DM yang tidak terdiagnosis.

- Untuk tes saring atau kontrol DM, sampelnya adalah plasma vena, serum, atau darah kapiler. Untuk tes diagnostik sampel yang dianjurkan adalah plasma vena, akan tetapi dapat juga digunakan sampel whole blood, darah vena ataupun kapiler dengan memperhatikan angka kriteria diagnostik yang berbeda.
- Sampel plasma, stabil selama kurang dari 1 jam, bila lebih dari 1 jam konsentrasi glukosa turun karena adanya glikolisis *ex vivo*.
- Untuk sampel simpan tambahkan glikolisis inhibitor (Natrium fluorida 2,5 mg/mL darah). Sampel ini stabil pada suhu 15 – 25°C selama 24 jam, dan pada suhu 4°C stabil selama 10 hari.
- Sampel serum stabil selama kurang dari 2 jam.

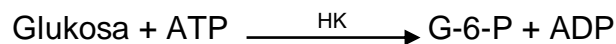
Metode tes:

- Metode enzimatik: *glucose oxidase / hexokinase*.

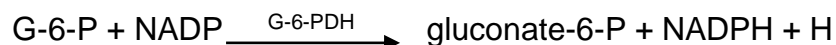
Prinsip tes:

Tes UV dengan metode enzimatik: *glucose oxidase / hexokinase*. Persamaan reaksinya sebagai berikut:

- Sampel ditambah dengan R₁ (buffer/ATPNADP), selanjutnya
- Tambahkan R₂ (HK/G-6-PDH) sehingga bereaksi sbb:



Heksokinase mengkatalisis fosforilase glukosa menjadi glukosa-6-fosfatase oleh ATP.



Konsentrasi glukosa diukur secara fotometrik.

Alat dan bahan :

- Alat :**
- a) Tabung reaksi & rak tabung
 - b) Mikropipet (10 μ l, 1000 μ l)
 - c) Spektrofotometer (λ 500 nm)

Bahan :

- a) Sampel serum, plasma (EDTA)
- b) Reagen Glukosa

ANALITIK

- a) Tes dilakukan dengan alat spektrofotometer
- b) Masukkan reagent masing-masing sebanyak 1000 μ L ke dalam 3 tabung reaksi
- c) Tambahkan Aquades, standar dan sampel serum masing-masing sebanyak 10 μ l dimasukkan dalam tabung reaksi yang berbeda-beda, kemudian homogenkan
- d) Inkubasi selama 10 menit pada suhu 37°C atau 20 menit pada suhu 20-25°C.
- e) Baca kadar dengan alat spektrofotometer
- f) Hasil tes glukosa akan keluar melalui print out

PASCAANALITIK

Interpretasi:

TES	SAMPEL	BUKAN DM	BELUM PASTI DM	DM
GDS	Plasma vena	< 100 mg/dL	100 – 199 mg/dL	≥200 mg/dL
	Darah kapiler	< 90 mg/dL	90 – 199 mg/dL	≥200 mg/dL
GDP	Plasma vena	< 100 mg/dL	100 – 125 mg/dL	≥126 mg/dL
	Darah kapiler	< 90 mg/dL	90 – 99 mg/dL	≥100 mg/dL

PEMERIKSAAN FRAKSI LIPID

Dislipidemia merupakan kelainan metabolisme lipid yang ditandai dengan peningkatan maupun penurunan fraksi lipid dalam plasma. Dislipidemia terdiri dari dislipidemia primer dan dislipidemia sekunder.

Lipid darah terdiri dari kolesterol, trigliserida, fosfolipid dan asam lemak bebas. Agar dapat diangkut dalam peredaran darah, lipid harus terikat dengan protein dalam bentuk lipoprotein. Menurut berat jenisnya, lipoprotein dibagi menjadi :

- a) Kilomikron
- b) Kolesterol-VLDL(very low density lipoprotein-cholesterol)
- c) Kolesterol-LDL (low density lipoprotein-cholesterol)
- d) Kolesterol-HDL (high density lipoprotein-cholesterol)

Tes saring untuk dislipidemia adalah tes kadar kolesterol total, kolesterol-LDL, kolesterol-HDL dan trigliserida.

PEMERIKSAAN KOLESTEROL TOTAL

PRA ANALITIK

- **Persiapan pasien**

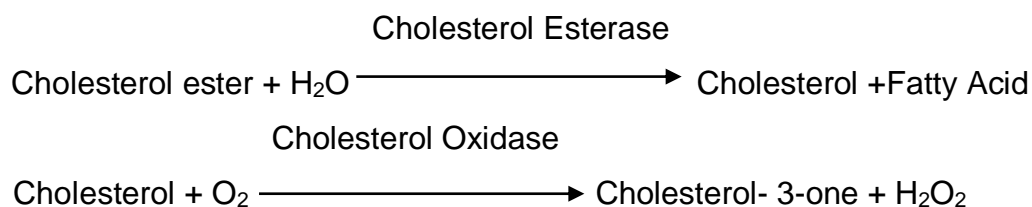
- a) Puasa 10-12 jam termasuk menghentikan merokok dan olahraga, minum air putih boleh
- b) Dapat dilakukan dalam keadaan tidak berpuasa
- c) Tidak minum obat yang mempengaruhi kadar lipid dalam 2 minggu terakhir
- d) Tidak ada perubahan berat badan, pola makan, kebiasaan merokok, olah raga, minum kopi dan alkohol dalam 2 minggu terakhir.

- **Persiapan sampel**

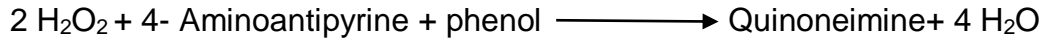
- a) Waktu pengambilan sampel darah saat pasien dalam keadaan tenang dan siap untuk diambil darahnya.
- b) Pada saat pengambilan darah, pemasangan toniquet tidak lebih 1 menit
- c) Serum sebaliknya dipisahkan dan sel darah merah sesegera mungkin. Sampel sebaiknya segera diperiksa. Sampel dapat disimpan selama 2 hari pada suhu 15 -25°C, 4 hari pada suhu 2 - 8°C, dan 3 bulan pada suhu -20°C. Bila digunakan plasma sebaiknya menggunakan antikoagulan EDTA.
- d) Bila sampel darah terlihat ikterik atau hemolisis sebaiknya diulang karena dapat terjadi peningkatan palsu pada hasil pemeriksaan.

- **Prinsip tes**

Tes kolesterol-total dilakukan dengan metode kolorimetrik enzimatik CHOD/PAP).



Peroxidase



Intensitas warna yang terbentuk sesuai dengan konsentrasi kolesterol yang dapat ditentukan dengan mengukur absorbansinya pada rentang panjang gelombang 480-550 nm.

- **Alat dan bahan :**

- Alat :
- a) Tabung reaksi & rak tabung
 - b) Mikropipet (10 μl , 1000 μl)
 - c) Spektrofotometer (λ 500 nm)

Bahan :

- c) Sampel serum, plasma (EDTA)
- d) Reagen Kolesterol
- e) Standard 200 mg/dL
- f) Aquades

ANALITIK

- a) Tes dilakukan dengan alat spektrofotometer
- b) Siapkan 3 buah tabung reaksi
- c) Aquades, standar dan sampel serum masing-masing sebanyak 10 μl dimasukkan dalam tabung reaksi yang berbeda
- d) Tambahkan reagent masing-masing sebanyak 1000 μL , kemudian homogenkan
- e) Inkubasi pada suhu 20-25°C selama 20 menit.
- f) Baca kadar dengan alat spektrofotometer
- g) Hasil tes kolesterol-total akan keluar melalui print out
Kadar kolesterol total < 200 mg/dl

PASCA ANALITIK

Nilai Rujukan :

- Diinginkan : < 200 mg/dL

- Borderline : 200 – 239 mg/dL
- Tinggi : \geq 240 mg/dL

- **Interpretasi :**

200 - 239 mg/dL → waspadai terjadinya PJK

\geq 240 mg/dL → resiko terjadinya PJK

setiap 1% peninggian kolesterol akan meningkatkan 2% terjadi PJK

PEMERIKSAAN KOLESTEROL – HDL

PRA ANALITIK :

- **Persiapan pasien**

- a. Puasa 10-12 jam termasuk menghentikan merokok dan olahraga, minum air putih boleh
- b. Dapat dilakukan dalam keadaan tidak berpuasa
- c. Tidak minum obat yang mempengaruhi kadar lipid dalam 2 minggu terakhir
- d. Tidak ada perubahan berat badan, pola makan, kebiasaan merokok, olah raga, minum kopi dan alkohol dalam 2 minggu terakhir.

- **Persiapan sampel**

- a. Waktu pengambilan sampel darah saat pasien dalam keadaan tenang dan siap untuk diambil darahnya.
- b. Pada saat pengambilan darah, pemasangan toniquet tidak lebih 1 menit
- c. Serum sebaliknya dipisahkan dan sel darah merah sesegera mungkin. Sampel sebaiknya segera diperiksa. Sampel dapat disimpan selama 2 hari pada suhu 15 -25°C, 4 hari pada suhu 2 - 8°C, dan 3 bulan pada suhu -20°C. Bila digunakan plasma sebaiknya menggunakan antikoagulan EDTA.
- d. Bila sampel darah terlihat ikterik atau hemolisis sebaiknya diulang karena dapat terjadi peningkatan palsu pada hasil pemeriksaan.

- **Prinsip tes**

Dengan pemberian phosphotungstic acid dan ion magnesium ke dalam sampel, maka kilomikron, VLDL dan LDL mengendap (presipitasi)

Serum + HDL separating reagen → sentrifus → HDL fraksi (supernatan) + kilomikron, VLDL, LDL fraksi (presipitasi)

Setelah disentrifus dalam supernatan hanya terdapat HDL yang kadar kolesterolnya ditentukan dengan metode kolorimetrik enzimatis seperti tes kolesterol-total

- **Alat dan bahan :**

- Alat :
- a) Tabung reaksi & rak tabung
 - b) Mikropipet (4 µl, 100 µl, 300 µl)
 - c) Spektrofotometer (λ 600 nm)

Bahan :

- a) Sampel serum, plasma (EDTA)
- b) Reagent 1 :
- c) Reagent 2 :

ANALITIK

- a) Tes dilakukan dengan alat spektrofotometer
- b) Pipet reagent 1 sebanyak 300 µl, masukkan kedalam tabung reaksi
- c) Tambahkan sampel serum sebanyak 4 µl, kemudian homogenkan
- d) Inkubasi pada suhu 37°C selama 5 menit.
- e) Tambahkan Reagent 2 sebanyak 100 µl, kemudian homogenkan
- f) Inkubasi pada suhu 37°C selama 5 menit.
- g) Baca kadar dengan alat spektrofotometer

Nilai Rujukan

- Rendah : 40 mg/dL

- Tinggi : ≥ 60 mg/dL

PASCA ANALITIK

Interpretasi :

- < 35 mg/dL \rightarrow risiko terjadi PJK
- Setiap penurunan 4 mg % HDL, resiko terjadi PJK akan meningkat 10 %

PEMERIKSAAN KOLESTEROL – LDL

PRA ANALITIK :

1. Persiapan pasien

- Puasa 12 jam termasuk menghentikan merokok dan olahraga, minum air putih boleh
- Tidak minum obat yang mempengaruhi kadar lipid dalam 2 minggu terakhir
- Tidak ada perubahan berat badan, pola makan, kebiasaan merokok, olah raga, minum kopi dan alkohol dalam 2 minggu terakhir.

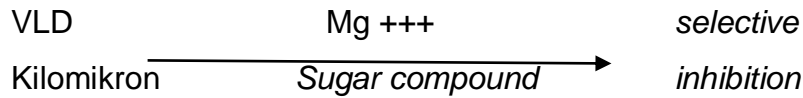
• Persiapan sampel

- Waktu pengambilan sampel darah saat pasien dalam keadaan tenang dan siap untuk diambil darahnya.
- Pada saat pengambilan darah, pemasangan toniquet tidak lebih 1 menit
- Serum sebaliknya dipisahkan dan sel darah merah sesegera mungkin. Sampel sebaiknya segera diperiksa. Sampel dapat disimpan selama 2 hari pada suhu $15 - 25^{\circ}\text{C}$, 4 hari pada suhu $2 - 8^{\circ}\text{C}$, dan 3 bulan pada suhu -20°C . Bila digunakan plasma sebaiknya menggunakan antikoagulan EDTA.
- Bila sampel darah terlihat ikterik atau hemolisis sebaiknya diulang karena dapat terjadi peningkatan palsu pada hasil pemeriksaan.

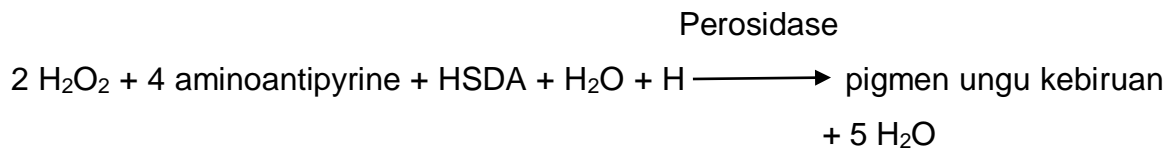
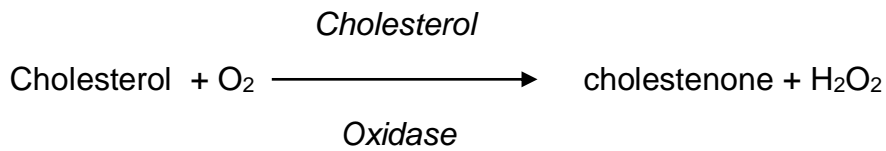
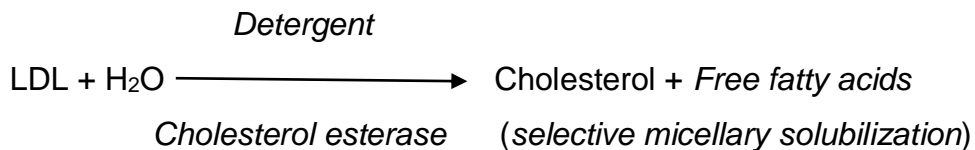
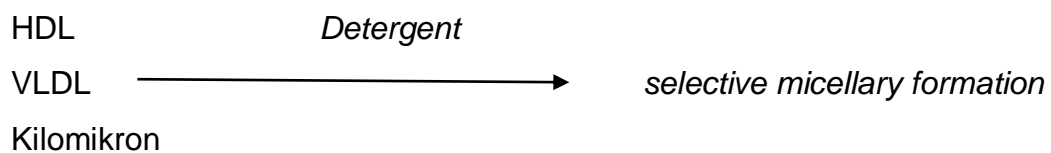
d. Prinsip tes

Metode tes : *homogeneous enzymatic colorimetric assay*

- R1 (α-Cyclodextrin/buffer) dan sampel



- Penambahan R2 (buffer/enzymes/4-aminoantipyrine) dan start reagen



Intensitas warna yang terbentuk sesuai dengan konsentrasi kolesterol-LDL yang ditentukan secara fotometri dengan panjang gelombang 600 nm.

Alat dan bahan :

- Alat :
- Tabung reaksi & rak tabung
 - Mikropipet (4 µl, 100 µl, 300 µl)
 - Spektrofotometer (λ 600 nm)

Bahan :

- a) Sampel serum, plasma (EDTA)
- b) Reagent 1 :
- c) Reagent 2 :

ANALITIK

- a) Tes dilakukan dengan alat spektrofotometer
- b) Pipet reagent 1 sebanyak 300 µl, masukkan kedalam tabung reaksi
- c) Tambahkan sampe serum sebanyak 4 µl, kemudian homogenkan
- d) Inkubasi pada suhu 37°C selama 5 menit.
- e) Tambahkan Reagnet 2 sebanyak 100 µl, kemudian homogenkan
- f) Inkubasi pada suhu 37°C selama 5 menit.
- g) Baca kadar dengan alat spektrofotometer

Nilai Rujukan

- Kadar kolesterol-LDL (mg/dL) :

Optimal	< 100
Mendekati optimal	100 -129
Borderline	130 – 159
Tinggi	160 -189
Sangat tinggi	≥ 190
- Kadar kolesterol-LDL bisa dengan perhitungan menggunakan rumus **Friedewald Formula** yaitu :
 $K\text{-LDL} = \text{Kolesterol total} - \text{Kolesterol-HDL} - \text{Trigliserida}/5$
(rumus ini tidak dapat digunakan bila kadar trigliserida lebih dari 400 mg/dL)

PASCA ANALITIK

Interpretasi :

- 130 – 159 mg/dL → diwaspadai terjadinya PJK
- ≥ 160 mg/dL → resiko terjadinya PJK

PEMERIKSAAN TRIGLISERIDA

PRA ANALITIK :

- **Persiapan pasien**

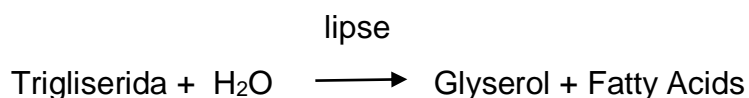
- a. Puasa 12 jam termasuk menghentikan merokok dan olahraga, minum air putih boleh
- b. Tidak minum obat yang mempengaruhi kadar lipid dalam 2 minggu terakhir
- c. Tidak ada perubahan berat badan, pola makan, kebiasaan merokok, olah raga, minum kopi dan alkohol dalam 2 minggu terakhir.

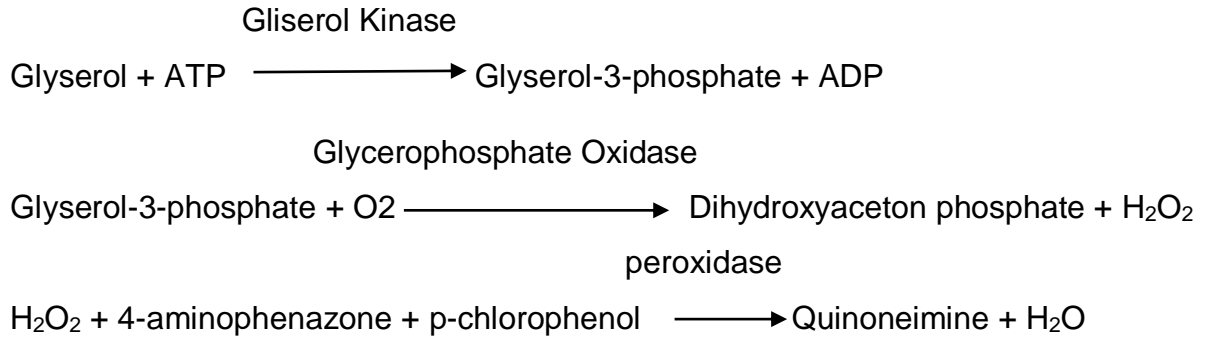
- **Persiapan sampel**

- a. Waktu pengambilan sampel darah saat pasien dalam keadaan tenang dan siap untuk diambil darahnya.
- b. Pada saat pengambilan darah, pemasangan toniquet tidak lebih 1 menit
- c. Serum sebaliknya dipisahkan dan sel darah merah sesegera mungkin. Sampel sebaiknya segera diperiksa. Sampel dapat disimpan selama 2 hari pada suhu $15 - 25^{\circ}\text{C}$, 4 hari pada suhu $2 - 8^{\circ}\text{C}$, dan 3 bulan pada suhu -20°C . Bila digunakan plasma sebaiknya menggunakan antikoagulan EDTA.
- d. Bila sampel darah terlihat ikterik atau hemolisis sebaiknya diulang karena dapat terjadi peningkatan palsu pada hasil pemeriksaan.

Prinsip tes

Tes trigliserida dilakukan dengan metode kolorimetrik enzimatik GPO/PAP





Alat dan bahan :

- Alat : a) Tabung reaksi & rak tabung
 b) Mikropipet (10 μ l, 1000 μ l)
 c) Spektrofotometer (λ 505 nm)

Bahan :

- g) Sampel serum, plasma (EDTA)
 h) Reagen Trigliserida

ANALITIK

- a) Tes dilakukan dengan alat spektrofotometer
 b) Masukkan reagent masing-masing sebanyak 1000 μ L ke dalam 3 tabung reaksi
 c) Tambahkan Aquades, standar dan sampel serum masing-masing sebanyak 10 μ l dimasukkan dalam tabung reaksi yang berbeda-beda, kemudian homogenkan
 d) Inkubasi selama 5 menit pada suhu 30°C atau 10 menit pada suhu 15-25°C.
 e) Baca kadar dengan alat spektrofotometer
 f) Hasil tes trigliserida akan keluar melalui print out

Nilai Rujukan

Kadar trigliserida (mg/dL) :

- Normal < 150
- Boderline 150-199
- Tingg 200-499

- Sangat tinggi ≥ 500

PASCA ANALITIK

Interpretasi :

200 - 499 mg/dL → waspadai terjadinya PJK

≥ 500 mg/dL → resiko terjadinya PJK