**PERBEDAAN HASIL PENGUKURAN KADAR KOLESTEROL LDL ANTARA METODE DIREK DAN INDIREK DENGAN MENGGUNAKAN RUMUS FRIEDEWALD PADA TIKUS PUTIH (RATTUS NORVEGICUS)**

Ahia Zakira Rosmala, I Gede Yasa Asmara, Ida Ayu Eka Widiastuti

|  |
| --- |
| **Abstrak**  Latar Belakang: Metode direk merupakan metode yang akurat dan dapat langsung digunakan untuk pemeriksaan kadar kolesterol LDL. Metode indirek dengan rumus Friedewald merupakan metode yang lebih sering digunakan karena sederhana dan harganya yang lebih murah daripada metode direk. Sering kali dalam suatu penelitian yang menggunakan tikus putih sebagai hewan uji coba, perhitungan rumus Friedewald dilakukan tanpa mengetahui apakah rumus tersebut dapat digunakan atau tidak pada tikus putih.  Tujuan: Mengetahui apakah ada perbedaan yang signifikan antara hasil pengukuran kadar kolesterol LDL antara metode direk dan indirek dengan menggunakan rumus Friedewald pada tikus putih (*Rattus norvegicus*)  Metode: Penelitian ini menggunakan desain penelitian potong lintang atau *cross sectional.* Rancangan penelitian ini adalah penelitian yang pengukuran dan pengamatannya dilakukan secara simultan dalam satu waktu (pada waktu yang bersamaan). Sampel yang digunakan diambil melalui intrakardial. Uji statistik yang digunakan adalah uji *Wilcoxon* untuk mengetahui perbedaan hasil pengukuran dengan metode direk dan rumus Friedewald*.*  Hasil: Nilai rerata dari hasil pengukuran kolesterol LDL dengan menggunakan metode direk adalah 19.08 ± 6.34 mg/dl dan nilai rerata dengan rumus Friedewaldadalah 6.19 ± 3.95 mg/dl. Pada pemeriksaan dengan metode direk didapatkan hasil minimal 10,0 mg/dl dan maksimal 40,0 mg/dl. Adapun hasil minimal dengan rumus Friedewaldadalah 1,0 mg/dl dan hasil maksimal 14,0 mg/dl. Terdapat perbedaan yang signifikan pada hasil pengukuran kadar kolesterol LDL antara metode direk dan indirek dengan menggunakan rumus Friedewald (p = 0.000 ; uji *Wilcoxon)*  Kesimpulan: Terdapat perbedaan yang signifikan pada hasil pengukuran kadar kolesterol LDL antara metode direk dan indirek dengan menggunakan rumus Friedewald pada tikus putih (*Rattus norvegicus*).  Kata kunci: Metode direk, rumus Friedewald, kolesterol LDL |

**PENDAHULUAN**

Dislipidemia merupakan kelainan metabolisme lipid dengan gejala peningkatan kadar kolesterol total (hiperkolesterolemia), trigliserida (TG), kolesterol LDL, dan penurunan kadar *high-density lipoprotein cholesterol* (HDL-C) di dalam darah. Komponen lipid tersebut, dijadikan dasar dalam menegakkan dislipidemia dan umumnya diukur secara direk atau indirek dengan perhitungan rumus Friedewald1.

Pengukuran kadar kolesterol LDL secara direk merupakan metode yang akurat, dapat langsung dilakukan, tanpa memeriksa kolestrol total, trigliserida dan HDL-Kolesterol. Kelemahan metode ini, adalah reagen yang digunakan cukup mahal dan waktu yang dibutuhkan lebih lama, sekitar 10 – 30 menit, bila dibandingkan dengan rumus Friedewald1,2.

Rumus Friedewald, adalah suatu perhitungan yang memerlukan parameter, kolesterol, trigliserida dan HDL-C, sehingga ketepatannya bergantung pada ketiga parameter tersebut. Rumus Friedewald merupakan metode yang paling sering digunakan dalam mengukur kolesterol LDL dan lebih sering digunakan, karena sederhana dan harganya yang lebih murah daripada metode direk. Rumus Friedewald memiliki keterbatasan dalam kondisi tertentu, yaitu perhitungannya sangat dipengaruhi oleh kadar trigliserida, dan tidak dapat dilakukan pada kadar plasma trigliserida >400 mg/dl3,4.

Perbandingan pengukuran kolesterol LDL metode direk dengan indirek pada manusia, telah banyak diteliti. Salah satunya, penelitian yang dilakukan oleh Widianto (2013) yang mendapatkan kesimpulan bahwa pada kadar trigliserida >200 mg/dl metode direk memberikan hasil nilai kolesterol LDL lebih tinggi dibandingkan dengan rumus Friedewald. Beberapa penelitian lain juga menunjukkan, bahkan pada kadar trigliserida <400 mg/dl, metode direk memberikan hasil yang lebih akurat daripada rumus Friedewald. Namun, terdapat penelitian yang menunjukkan, bahwa rumus Friedewald merupakan metode yang tepat dan memberikan hasil yang terpercaya dalam menghitung nilai kolesterol LDL3,5.

Berdasarkan uraian di atas terkait berbagai pendapat antara metode direk dan rumus Friedewald, yang keduanya dapat digunakan sebagai metode penegakan dislipidemia, maka perlu dilakukan penelitian tentang perbedaan hasil antara kedua metode tersebut. Pada banyak penelitian, tikus putih (*Rattus norvegicus*) sering digunakan sebagai hewan percobaan dan dapat memenuhi kriteria yang dibutuhkan6. Seringkali dalam suatu penelitian yang menggunakan tikus putih sebagai hewan uji coba, perhitungan rumus Friedewald dilakukan tanpa mengetahui apakah rumus tersebut dapat digunakan atau tidak pada tikus putih. Penelitian ini dilakukan pada tikus putih agar, para peneliti yang akan melakukan uji suatu ekstrak pada tikus putih untuk melihat kadar kolesterol, dapat mengetahui metode mana yang sebaiknya digunakan.

**METODE PENELITIAN**

Penelitian ini menggunakan desain studi perbandingan dengan metode potong lintang *(cross-sectional)*. Penelitian ini dilakukan pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) di Fakultas Kedokteran Universitas Mataram dan Laboratorium Imunobiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Mataram pada bulan November 2016. Sampel penelitian yang memenuhi kriteria inklusi memiliki jumlah sebanyak 26 ekor11. Kriteria inklusi pada penelitian ini yaitu tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan, umur 8 – 12 minggudengan berat badan tikus 200 – 300 gram.

Pada penelitian ini tikus diberi diet tinggi lemak dan propiltiourasil (PTU) selama 3 minggu agar tikus mengalami dislipidemia.Pengukuran kadar kolesterol total pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) dilakukan menggunakan stik kolesterol. Tikus dibius menggunakan dietil eter dan sampel darah diambil secara intrakardial. Serum didapatkan melalui sentrifugasi dan dilakukan pengukuran LDL kolesterol menggunakan metode direk dan indirek dengan rumus Friedewald. Metode direk dapat mengukur kadar LDL kolesterol secara langsung sedangkan rumus Friedewald memerlukan tiga parameter. Setiap parameter memiliki metode pengukuran yang berbeda. HDL kolesterol dengan metode homogenous, kolesterol total dengan *Cholesterol Oxidase – Peroxidase Aminoantipyrine Phenol* (CHOD – PAP), dan trigliserida dengan *Calorimetric Enzymatic test-Glycerol 3 Phosphate – oxidase* (GPO – PAP)12.

Uji normalitas menggunakan uji *Shapiro-Wilk*. Analisis data dilakukan dengan menggunakan uji komparasi non-parametrik dengan uji *Wilcoxon.*

**HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN**

**Karakteristik Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*)**

Penelitian ini menggunakan 26 tikus putih. Tikus putih memiliki jenis kelamin jantan, umur 8 – 12 minggu, dan berat badan 200 – 300 gram.

**Tabel 1. Data Dekskriptif LDL Direk dan Indirek dengan Menggunakan Rumus Friedewald**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Kelompok  Sampel | Median | Minimum - maksimum | Nilai Rerata ± SD (mg/dl) |
| LDL  Direk | **17,5** | **10-40** | **19,08±6,34** |
| LDL  Indirek | **5,5** | **1-14** | **6,19±3,95** |
|  |  |  |  |

Tabel 1 menunjukkan Kadar LDL kolesterol tikus putih yang diperiksa dengan menggunakan metode direk berkisar antara 10-40 mg/dl dengan nilai tengah 17,5 mg/dl sedangkan menggunakan metode indirek dengan rumus Friedewald berkisar antara 1-14 mg/dl dengan nilai tengah 5,50 mg/dl. Nilai rata - rata pengukuran dengan metode direk adalah 19,08 mg/dl, sedangkan pengukuran dengan rumus Friedewald didapatkan 6,19 mg/dl. Hal tersebut menunjukkan bahwa nilai tengah dan nilai rata – rata pada pengukuran kadar LDL kolesterol tikus putih dengan metode direk lebih besar dibandingkan dengan metode indirek menggunakan rumus Friedewald*.*

**Tabel 2. Hasil Uji Normalitas LDL Direk dan Indirek dengan Menggunakan Rumus Friedewald**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Kelompok Sampel | Jumlah Sampel | Nilai Rerata ± SD (mg/dl) | p |
| LDL Direk | **26** | **19,08±6,34** | **0,001** |
| LDL Indirek | **26** | **6,19±3,95** | **0,036** |

Berdasarkan tabel 2 didapatkan kelompok sampel LDL direk memiliki nilai p 0.001 dan kelompok sampel LDL indirek memiliki nilai p 0.036. Dengan nilai p <0.05, maka dapat disimpulkan kelompok LDL direk dan LDL indirek memiliki distribusi tidak normal.

**Uji Komparasi Hasil Pengukuran LDL Kolesterol antara Metode Direk dan Indirek dengan Rumus Friedewald**

Berdasarkan hasil uji normalitas data didapatkan hasil pengukuran kadar LDL kolesterol terdistribusi tidak normal, sehingga data dianalisis dengan menggunakan uji *Wilcoxon*

**Tabel 3. Hasil Uji Rerata Beda LDL Direk dan Indirek dengan Menggunakan Rumus Friedewald**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Kelompok Sampel | Jumlah Sampel | Nilai Rerata ± SD (mg/dl) | p |
| LDL Direk | **26** | **19,08±6,34** | **0,000** |
| LDL Indirek | **26** | **6,19±3,95** |  |

Tabel 3 menunjukkan nilai p kelompok sampel LDL direk dan indirek adalah p = 0,000 (p < 0,05), maka dapat disimpulkan terdapat perbedaan yang signifikan pada hasil pemeriksaan LDL kolesterol dengan metode direk dan indirek dengan rumus Friedewald.

**Pembahasan**

Perbedaan kadar LDL kolesterol antara metode direk dan indirek dengan menggunakan rumus Friedewald disebabkan oleh pengukuran kadar LDL kolesterol dengan rumus Friedewald memerlukan tiga parameter yaitu HDL kolesterol, kolesterol total dan trigliserida. Kesalahan pada setiap pengukuran ketiga lipoprotein tersebut dapat menyebabkan kesalahan estimasi dan perbedaan hasil dengan metode direk7.

HDL kolesterol diperiksa secara direk dengan menggunakan metode homogeneous. Beberapa penelitian menggunakan metode lain dalam mengukur HDL kolesterol. Penelitian oleh Contois (2012) menyatakan metode presipitasi untuk pengukuran nilai HDL kolesterol memberikan hasil yang lebih akurat dibandingkan dengan metode direk. Kesalahan pengukuran juga bisa terjadi pada kolesterol total, yaitu kit dalam metode yang digunakan dapat menyebabkan perbedaan hasil pengukuran7.

Trigliserida merupakan parameter yang dapat berperan lebih besar pada kesalahan estimasi rumus Friedewald dibandingkan parameter yg lain. Trigliserida pada rumus Friedewald dibagi lima dengan asumsi pembagian tersebut dapat mempresentasikan nilai VLDL. Asumsi tersebut tidak selalu benar dan dapat menyumbang kesalahan pengukuran LDL kolesterol secara indirek dengan rumus Friedewald7,8.

Rumus Friedewald juga digunakan dengan asumsi tidak ada lipoprotein seperti kilomikron dan IDL yang terdapat dalam plasma, kecuali VLDL, HDL, dan LDL. Asumsi tersebut dapat pula menyumbang kesalahan oleh karena komposisi IDL dapat ditemukan pada dislipidemia. Penelitian menunjukkan semakin tinggi rasio IDL maka semakin besar kesalahan pengukuran dengan rumus Friedewald9,10.

Rumus Friedewald adalah rumus yang sering digunakan di laboratorium dan tidak dapat digunakan pada kadar trigliserida >400 mg/dl. Beberapa penelitian juga menunjukkan bahwa, pada kadar trigliserida rendah, rumus Friedewald dapat menampilkan perbedaan hasil dengan metode direk. Ketika trigliserida <70 mg/dl, hasil pengukuran LDL kolesterol dengan menggunakan rumus Friedewald menunjukkan nilai lebih rendah daripada metode direk5.

Sejumlah penelitian telah menunjukkan terdapat perbedaan bermakna antara metode direk dan indirek dengan rumus Friedewald. Terdapat pula penelitian yang mendapatkan kesimpulan berbeda. Penelitian oleh Widianto dan lainnya (2013) menyatakan tidak terdapat perbedaan antara metode direk dan indirek dengan formula Friedewald pada kadar trigliserida <200 mg/dl. Hasil tersebut dapat terjadi mengingat pada kadar trigliserida <200 mg/dL, komposisi trigliserida dan kolesterol dalam VLDL hampir mendekati nilai yang konstan sehingga trigliserida dibagi lima dapat merepresentasikan nilai VLDL1.

Perbedaan hasil pada setiap penelitian dapat disebabkan oleh keragaman dalam suatu populasi, patologi, dan kit dalam metode yang digunakan. Rumus Friedewald merupakan metode yang lebih sering digunakan oleh karena waktu dan harga yang lebih murah dibandingkan dengan metode direk. Bila dibandingkan, kedua metode tersebut lebih sering memberikan hasil yang berbeda secara bermakna.

Rumus Friedewald sering digunakan sebagai metode dalam menguji kadar LDL kolesterol pada penelitian dengan menggunakan tikus putih. Pada satu penelitian yang dilakukan oleh Muniz dan Batida (2008), menyatakan untuk sebaiknya tidak menggunakan rumus Friedewald pada tikus oleh karena rumus tersebut belum pernah diteliti untuk dilakukan pada tikus. Manusia dan tikus memiliki perbedaan lipoprotein. Manusia memiliki nilai LDL tinggi dan nilai VLDL serta HDL yang sedang. Tikus merupakan hewan dengan nilai HDL tinggi dan memiliki nilai VLDL yang rendah dan LDL yang sangat rendah. Kadar HDL kolesterol menurun pada tikus hiperkolesterol. Pada tikus yang mengalami kondisi hiperkolesterol, pengukuran LDL kolesterol secara indirek dengan rumus Friedewald akan memberikan hasil yang berbeda dengan metode direk9.

**KESIMPULAN**

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada hasil pengukuran kadar LDL kolesterol antara metode direk dan indirek dengan menggunakan rumus Friedewald pada tikus putih (*Rattus norvegicus*).

**DAFTAR PUSTAKA**

1. Widianto, K.E., Thio, Feny, Indahwaty. Perbandingan nilai low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) indirek dengan direk pada kadar trigliserida <200 mg/dL dan antara 200-400 mg/dL. 2013. [online]. Available at: <http://repository.maranatha.edu/12266/>
2. Nauck, M., G.R. Warnick, dan N. Rifai. Methods for measurement of LDL-Cholesterol: a critical assessment of direct measurement by homogeneous assays versus calculation. Clinical chemistry. 2002 Feb;48(2):236–254. [online]. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11805004>
3. Knopfholz, J., C.C.D. Disserol., A.J. Pierin, F.L. Schirr, and others. Validation of the friedewald formula in patients with metabolic syndrome. Hindawi. 2014 Feb 6:1-5. [online]. Available at: <http://www.hindawi.com/journals/cholesterol/2014/261878/>
4. Perhimpunan Dokter Spesialis Kardiovaskular Indonesia. 2013. Pedoman Tatalaksana Dislipidemia. 1st ed. Centra communications. Jakarta
5. Sudha, K., A. Prabhu, K. Kumar, A. Marathe, dan A. Hegde. Validation of the friedewald formula in type II diabetes mellitus. International journal of biomedical and advance research. 2015 Mar 4;6(2):103-106. [online]. Available at: <http://eprints.manipal.edu/142090/>
6. Widiartini, W., E. Siswati, A. Setiyawati, I.M. Rohmah, dan E. Prastyo. Pengembangan usaha produksi tikus putih (Rattus norvegicus) tersertifikasi dalam upaya memenuhi kebutuhan hewan laboratorium. 2013. [online]. Available at:  <http://artikel.dikti.go.id/index.php/PKMK/article/download/149/150>.
7. Anwar, M., D.A. Khan, F.A. Khan. Comparison of friedewald formula and modified friedewald formula with direct homogeneous assay for low density lipoprotein cholesterol estimation. [J Coll Physicians Surg Pak](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24411534). 2014 Jan;24(1):8-12. [online]. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24411534>
8. Cordova, C.M., C.R. Schneider, I.D. Juttel, M.M. Cordova. Comparison of LDL-cholesterol direct measurement with the estimate using the friedewald formula in a sample of 10,664 patients. [Arq Bras Cardiol.](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15654445) 2004 Dec;83(6):482-7. [online]. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15654445>
9. Muniz, F.J., S. Bastida. Do not use the friedewald formula to calculate LDL-Cholesterol in hypercholesterolaemic rats. European journal of lipid science and technology. 2008 Mar 13;110(4):295-301. [online]. Available at: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ejlt.200700280/full>
10. Senti, M., J. Pedro-botet, X. Noques, J. Rubies-Prat. Influence of intermediate-density lipoproteins on the accuracy of the friedewald formula. Clin chem. 1991 Aug;37(8):1394-7. [online]. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1868600>
11. Dahlan M.S. 2013. Besar Sampel dan Cara Pengambilan Sampel dalam Penelitian Kedokteran dan Kesehatan. Edisi 3. Jakarta: Salemba Medika.
12. Widiastuti. Perbedaan kadar LDL kolesterol metode direk dengan formula Friedewald pada penderita diabetes melitus. 2003. [online]. Available at: <http://eprints.undip.ac.id/12301/>.