

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. Perlu dibuktikan bahwa perhitungan rumus Friedewald dapat digunakan untuk menghitung kadar kolesterol LDL tikus putih. Penelitian ini bertujuan untuk 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 belah lintang mempergunakan tikus putih. Sampel darah tikus putih diambil melalui intrakardial. Uji statistik yang digunakan adalah uji *Wilcoxon* untuk mengetahui perbedaan hasil pengukuran kadar kolesterol LDL dengan metode direk dan rumus Friedewald.

Hasil: Nilai rerata dari hasil pengukuran kolesterol LDL dengan menggunakan metode direk adalah $19,08 \pm 6,34$ mg/dL dan nilai rerata dengan rumus Friedewald adalah $6,19 \pm 3,95$ 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 Friedewald adalah 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*).

Katakunci

Metode direk, rumus Friedewald, kolesterol LDL

* Fakultas Kedokteran Universitas Mataram

1. Pendahuluan

Dislipidemia merupakan kelainan metabolisme lipid dengan gejala peningkatan kadar kolesterol total (hiperkolesterolemia), trigliserida (TG), kolesterol LDL (*low-density lipoprotein cholesterol*), dan penurunan kadar kolesterol HDL (*high-density lipoprotein cholesterol*) di dalam darah. Komponen lipid tersebut, dijadikan dasar dalam menegakkan dislipidemia dan umumnya diukur secara direk atau indirek dengan perhitungan rumus Friedewald.¹

Pengukuran kadar kolesterol LDL secara direk merupakan metode yang akurat, dapat langsung dilakukan, tanpa memeriksa kolestrol total, trigliserida dan kolesterol HDL. Kelemahan metode ini, adalah reagen yang digunakan cukup mahal dan waktu yang dibutuhkan lebih lama, sekitar 10 – 30 menit, bila dibandingkan dengan rumus Friedewald.^{1,2}

Rumus Friedewald adalah suatu perhitungan yang memerlukan parameter kolesterol total, trigliserida dan kolesterol HDL. Ketepatan rumus ini bergantung pada ketiga parameter tersebut. Rumus Friedewald merupakan metode yang paling sering digunakan dalam mengukur kolesterol LDL 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/dL.^{3,4}

Perbandingan pengukuran kolesterol LDL metode direk dengan indirek pada manusia telah banyak diteliti. Salah satunya penelitian yang dilakukan oleh Widiyanto (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 bahwa 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 LDL.^{3,5}

Berdasarkan uraian di atas terkait berbagai pendapat antara metode direk dan rumus Friedewald yang menyatakan keduanya dapat digunakan sebagai metode penanganan dislipidemia. Perlu dilakukan penelitian tentang perbedaan hasil antara kedua metode tersebut. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) sering digunakan sebagai hewan percobaan.⁶ Seringkali dalam suatu penelitian yang menggunakan tikus putih sebagai hewan uji coba, perhitungan rumus Friedewald digunakan tanpa mengetahui apakah rumus tersebut dapat digunakan atau tidak pada tikus putih. Penelitian ini dilakukan pada tikus putih agar dapat memberikan pertimbangan ilmiah tentang dapat tidaknya rumus Friedewald digunakan pada penelitian terkait kolesterol LDL yang menggunakan tikus putih.

2. Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain studi perbandingan dengan metode belah 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 sebanyak 26 ekor. Kriteria inklusi pada penelitian ini yaitu tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan, umur 8 – 12 minggu dengan 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 reagen stik POCT (*point of care test*) kolesterol. Tikus dibius menggunakan dietil eter dan sampel darah diambil secara intrakardial. Serum didapatkan melalui sentrifugasi dan dilakukan pengukuran kolesterol LDL menggunakan metode direk dan indirek dengan rumus Friedewald. Metode direk dapat mengukur kadar kolesterol LDL secara langsung sedangkan rumus Friedewald memerlukan tiga parameter. Setiap parameter memiliki metode pengukuran yang berbeda. Kolesterol HDL dengan metode homogenous, kolesterol total dengan *Cholesterol Oxidase-Peroxidase Aminoantipyrine Phenol* (CHOD – PAP), dan trigliserida dengan *Colorimetric Enzymatic test-Glycerol 3 Phosphate-oxidase* (GPO-PAP).⁷

Setelah data kadar kolesterol LDL direk dan indirek terkumpul, dilakukan Uji normalitas menggunakan uji *Shapiro-Wilk*. Analisis data selanjutnya dilakukan dengan menggunakan uji komparasi non-parametrik dengan uji Wilcoxon.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Karakteristik Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

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

Tabel 1 menunjukkan kadar kolesterol LDL 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 kolesterol LDL tikus putih dengan metode direk lebih besar dibandingkan dengan metode indirek menggunakan rumus Friedewald.

Tampak pada Tabel 1 bahwa kelompok sampel LDL direk memiliki nilai dan kelompok sampel LDL indirek memiliki nilai $p < 0,05$. Dari hasil ini disimpulkan distribusi kelompok LDL direk dan LDL indirek bukan distribusi normal.

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

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

Tabel 1 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 kolesterol LDL dengan metode direk dan indirek dengan rumus Friedewald.

Perbedaan kadar kolesterol LDL antara metode direk dan indirek dengan menggunakan rumus Friedewald disebabkan oleh pengukuran kadar kolesterol LDL dengan rumus Friedewald memerlukan tiga parameter yaitu kolesterol HDL, kolesterol total dan trigliserida. Kesalahan pada setiap pengukuran ketiga lipoprotein tersebut dapat menyebabkan kesalahan estimasi dan perbedaan hasil dengan metode direk.⁸

kolesterol HDL diperiksa secara direk dengan menggunakan metode homogenous. Beberapa penelitian menggunakan metode lain dalam mengukur kolesterol HDL. Penelitian oleh Contois (2012) menyatakan metode presipitasi untuk pengukuran nilai kolesterol HDL 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 pengukuran.⁸

Trigliserida merupakan parameter yang dapat berperan lebih besar pada kesalahan estimasi rumus Friedewald dibandingkan parameter yg lain. Trigliserida pada

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

Kelompok Sampel	Median	Minimum-Maksimum	Rerata ± SD (mg/dL)	Uji Normalitas ^a	Uji Beda ^b
LDL Direk	17,5	10-40	19,08±6,34	0,001	0,000
LDL Indirek	5,5	1-14	6,19±3,95	0,036	

rumus Friedewald dibagi lima dengan asumsi pembagian tersebut dapat mempresentasikan nilai VLDL. Asumsi tersebut tidak selalu benar dan dapat menyumbang kesalahan pengukuran kolesterol LDL secara indirek dengan rumus Friedewald.^{8,9}

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 Friedewald.^{10,11}

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 kolesterol LDL dengan menggunakan rumus Friedewald menunjukkan nilai lebih rendah daripada metode direk.⁵

Sejumlah penelitian telah menunjukkan terdapat perbedaan bermakna antara metode direk dan indirek dengan rumus Friedewald. Terdapat pula penelitian yang mendapatkan kesimpulan berbeda. Penelitian oleh Widiyanto 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 VLDL.¹

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 kolesterol LDL 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 kolesterol HDL menurun pada tikus hiperkolesterol. Pada tikus yang mengalami kondisi hiperkolesterol, pengukuran kolesterol LDL secara indirek dengan rumus Friedewald akan memberikan hasil yang berbeda dengan metode direk.¹⁰

4. Kesimpulan

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

Daftar Pustaka

1. Widiyanto, K E T, Feny I. Perbandingan nilai low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) indirek dengan direk pada kadar trigliserida <200 mg/dL dan antara 200-400 mg/dL. Skripsi. 2013; Available from: <http://repository.maranatha.edu/12266/>.
2. Nauck M, Warnick GR, Rifai N. Methods for measurement of LDL-cholesterol: a critical assessment of direct measurement by homogeneous assays versus calculation. *Clinical chemistry*. 2002;48(2):236-254. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11805004>.
3. Knopfholz J, Disserol CCD, Pierin AJ, Schirr FL, Streisky L, Takito LL, et al. Validation of the friedewald formula in patients with metabolic syndrome. *Cholesterol*. 2014;2014.
4. Perhimpunan Dokter Spesialis Kardiovaskular Indonesia. *Pedoman Tatalaksana Dislipidemia*. 1st ed. vol; 2013.
5. Sudha K, Prabhu A, Kiran A, Marathe A, Hegde A. Validation of the Friedewald formula in type II diabetes mellitus: An Indian perspective study. *Int J Biomed Adv Res*. 2015;6:103-6. Available from: <http://eprints.manipal.edu/142090/>.
6. Widiartini W, Siswati E, Setiyawati A, Rohmah IM, Prastyo E. Pengembangan Usaha Produksi Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Tersertifikas dalam Upaya Memenuhi Kebutuhan

- Hewan Laboratorium. Program Kreativitas Mahasiswa-Kewirausahaan. 2013; Available from: <http://artikel.dikti.go.id/index.php/PKMK/article/download/149/150>.
7. Widiastuti E. Perbedaan Kadar LDL-Kolesterol Metoda Direk dengan Formula Friedewald pada Penderita Diabetes Melitus. Program Pendidikan Pasca Sarjana Universitas Diponegoro; 2003. Available from: <http://eprints.undip.ac.id/12301/>.
 8. Anwar M, Khan DA, Khan FA. Comparison of Friedewald formula and modified Friedewald formula with direct homogeneous assay for low density lipoprotein cholesterol estimation. *J Coll Physicians Surg Pak*. 2014;24(1):8–12. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24411534>.
 9. Cordova CMMd, Schneider CR, Juttel ID, Cordova MMd. Comparison of LDL-cholesterol direct measurement with the estimate using the Friedewald formula in a sample of 10,664 patients. *Arquivos brasileiros de cardiologia*. 2004;83(6):476–481. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15654445>.
 10. Sanchez-Muniz FJ, Bastida S. Do not use the Friedewald formula to calculate LDL-cholesterol in hypercholesterolaemic rats. *European journal of lipid science and technology*. 2008;110(4):295–301. Available from: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ejlt.200700280/full>.
 11. Senti M, Pedro-Botet J, Nogues X, Rubies-Prat J. Influence of intermediate-density lipoproteins on the accuracy of the Friedewald formula. *Clinical chemistry*. 1991;37(8):1394–1397. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1868600>.