

PERBANDINGAN KADAR BILIRUBIN TOTAL SERUM SEGERA DAN TUNDA TANPA DAN DENGAN PENGECERAN

S. Adnes Mareta ^{1*)}, Merdekawati Fusvita ^{1*}

^{1*)} Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Bandung,
Email: adnesmareta94@gmail.com

ABSTRAK

Pemeriksaan kadar bilirubin total biasanya menggunakan bahan sampel serum dan diperiksa segera setelah pengambilan darah. Tetapi ada kalanya volume serum pemeriksaan kadar bilirubin tidak mencukupi sehingga perlu dilakukan pengenceran dan biasanya menggunakan NaCl 0,9% atau aquabidest. Telah dilakukan penelitian dengan metode eksperimen laboratorium. Unit penelitian menggunakan *pooled sera* patologis yang diperiksa segera dan tunda tanpa dan dengan pengenceran. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan kadar bilirubin segera dan tunda tanpa dan dengan pengenceran. Hasil yang didapat dari penelitian di uji menggunakan uji GLM *repeated measured*, hasil yang tidak terdapat perbedaan yang signifikan dengan nilai sig < 0,05 yaitu tunda tanpa pengenceran sampai 4 hari, pengenceran sampai 3x menggunakan NaCl 0,9% dan aquabidest dengan waktu tunda 1 hari. Sedangkan untuk yang lainnya terdapat perbedaan yang signifikan dengan nilai sig > 0,05.

Kata Kunci : Bilirubin total serum, Pengenceran dengan NaCl 0,9% dan aquabidest, waktu tunda 1-5 hari.

ABSTRACT

Examination of total bilirubin levels typically using a serum sample and examined immediately after blood collection. But there are times when the volume of serum bilirubin levels are insufficient checks that need to be done dilution and normally using NaCl 0.9% or aquabidest. Has conducted research with laboratory experimental method. Unit studies using pooled sera were examined pathologically immediately and delay, without and dilution. The purpose of this study to determine whether there are differences in bilirubin levels immediately and delay, without and dilution. The results of the study in a test using GLM repeated test measured, the results were not significant differences with sig <0.05 is delayed without dilution to 4 days, dilution up to 3x using NaCl 0,9% and aquabidest with time delay one day. While for the others there is a significant difference with the value of sig> 0.05.

Keywords : Serum total bilirubin, Dilution with NaCl 0.9% and aquabidest, the delay time 1-5 days.

PENDAHULUAN

Pelayanan laboratorium klinik meliputi pemeriksaan spesimen klinik, merupakan bagian integral dari pelayanan kesehatan yang diperlukan untuk menegakkan diagnosis, menetapkan penyebab penyakit, menunjang sistem kewaspadaan dini, monitoring pengobatan, pemeliharaan kesehatan, dan pencegahan timbulnya penyakit. Pemeriksaan laboratorium klinik perlu diselenggarakan secara berkualitas untuk mendukung upaya peningkatan kualitas kesehatan masyarakat¹.

Untuk menghasilkan pemeriksaan laboratorium yang berkualitas perlu dilakukan pengendalian mutu laboratorium. Ada tiga tahapan penting dalam pengendalian mutu laboratorium yaitu tahap pra analitik, analitik dan pasca analitik. Kesalahan pada proses pra analitik dapat memberikan kontribusi sekitar 61% dari total kesalahan laboratorium sementara kesalahan analitik 25% dan kesalahan pasca analitik 14%. Proses pra analitik meliputi persiapan pasien, pengambilan spesimen, pengiriman spesimen ke laboratorium, penanganan spesimen dan penyimpanan spesimen².

Penanganan spesimen yang baik merupakan salah satu faktor yang dapat menghasilkan pengukuran yang akurat, pemeriksaan yang membutuhkan penanganan spesimen yang baik diantaranya yaitu pengukuran bilirubin karena bilirubin mudah berubah kestabilannya sehingga perlu dilakukan pemeriksaan segera³.

Hasil penelitian Sari R (2017) menunjukkan bahwa pada pemeriksaan bilirubin serum yang segera diperiksa dengan pengenceran menggunakan NaCl 0,9% dan aquabides sebanyak 2x-3x tidak menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna namun pada pengenceran 4x-10x menunjukkan hasil yang awalnya normal menjadi patologis.

Di laboratorium Promedika group cukup banyak menerima permintaan pemeriksaan kadar bilirubin total

terutama pada pasien bayi, dimana kadang dijumpai jumlah serum yang akan diperiksa tidak mencukupi dan hasil pemeriksaan kadar bilirubin total yang tinggi juga sering didapatkan sehingga petugas laboratorium melakukan pengenceran menggunakan aquabides atau NaCl 0,9% sebanyak 2x-5x.

Jam pelayanan di laboratorium Promedika group juga terbatas, tidak 24 jam. Sehingga apabila ada permintaan pemeriksaan di luar dari jam pelayanan tetap diterima, hanya saja akan dilakukan pemeriksaan di laboratorium rujukan, tetapi jam pelayanan di laboratorium rujukan tersebut tidak buka 24 jam sehingga jika mendapatkan permintaan pemeriksaan kadar bilirubin pada malam hari akan diambil keesokan harinya oleh kurir laboratorium rujukan dan biasanya sampel disimpan terlebih dahulu di dalam lemari es suhu 2-8°C.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen berskala laboratorium dilakukan mulai bulan April s.d. Mei 2019. Lokasi penelitian di laboratorium RSIA Kartini Padalarang dengan sampel pooled sera patologis dari pasien bayi.

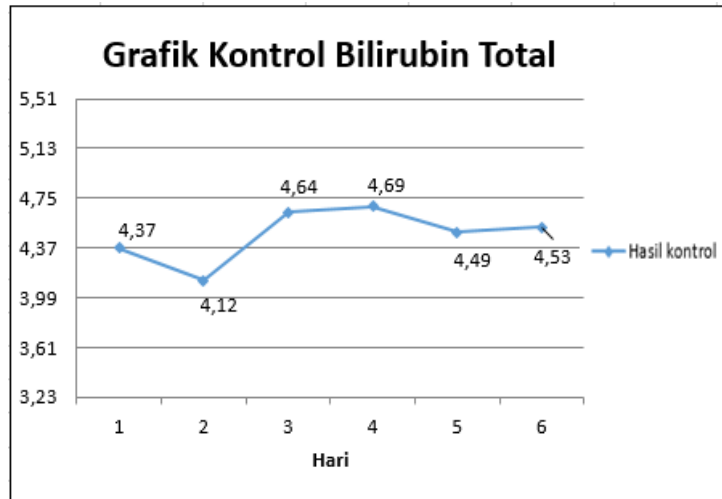
Penelitian dilakukan dengan cara memeriksa kadar bilirubin total menggunakan *pooled sera* yaitu *pooled sera* tanpa diencerkan, *pooled sera* diencerkan dengan NaCl 0,9% dan aquabides sebanyak 2x-5x segera diukur kadar bilirubin total dan disimpan dalam lemari es selama 1 hari - 5 hari lalu diukur kadar bilirubin total menggunakan fotometer Microlab 300 panjang gelombang 546. Data yang terkumpul kemudian di uji menggunakan pengujian *General linear model (GLM) Repeated measured* dengan SPSS ditampilkan dalam bentuk tabel.

HASIL

Sebelum melakukan pemeriksaan bilirubin total, dilakukan terlebih dahulu pemeriksaan kontrol serum HumaTrol-P

LOT No 0004 yang memiliki nilai range bilirubin total 3,23 – 5,51 mg/dL, true

value 4,37 mg/dL dan standar deviasi (SD) 0,38 mg/dL.



Gambar 1 hasil pemeriksaan kontrol serum

Hasil pemeriksaan kontrol serum dapat dilihat pada grafik Levey-jennings diatas. Dari keseluruhan pemeriksaan kontrol hasil masuk kedalam rentang ($TV \pm 1SD$). Hal tersebut menunjukkan bahwa reagen, alat, cara kerja maupun metode sudah terkondisikan dengan baik dan hasil pemeriksaan dapat dipercaya.

Setelah dilakukan *quality control* dengan melakukan pemeriksaan kontrol

serum, selanjutnya dilakukan pemeriksaan kadar bilirubin total serum segera, dimana serum tanpa pengenceran maupun dengan pengenceran segera dilakukan pemeriksaan kadar bilirubin total menggunakan metode DMSO (*dymethyl sulfoxide*), setelah itu dilakukan perhitungan *total error allowable*.

Perbandingan	Penyimpanan (hari)											
	0		1		2		3		4		5	
Pengenceran												
1	8,48		8,53		8,53		8,56		8,41		7,77	
	0		1		2		3		4		5	
	NaCl 0,9%	Aquabidest	NaCl 0,9%	Aquabidest	NaCl 0,9%	Aquabidest	NaCl 0,9%	Aquabidest	NaCl 0,9%	Aquabidest	NaCl 0,9%	Aquabidest
1:1	8,55	8,42	8,38	8,50	8,34	8,38	8,44	8,26	8,11	8,24	8,08	7,90
1:2	8,55	8,54	8,06	8,25	8,09	8,22	7,89	8,21	7,58	7,92	7,40	7,83
1:3	9,04	8,76	8,46	8,36	7,94	8,12	7,74	7,84	6,78	6,70	7,72	7,94
1:4	9,25	9,03	8,18	8,18	7,93	8,08	6,98	7,40	6,33	7,28	6,40	7,33

Gambar 2 Hasil pemeriksaan bilirubin total serum segera dan tunda tanpa dan dengan pengenceran

Perbandingan	Penyimpanan (hari)											
	0		1		2		3		4		5	
Segera	2,0		0,4		1,1		0,3		2,8		10,7	
	NaCl 0,9%	Aquabidest	NaCl 0,9%	Aquabidest	NaCl 0,9%	Aquabidest	NaCl 0,9%	Aquabidest	NaCl 0,9%	Aquabidest	NaCl 0,9%	Aquabidest
1:1	1,1	2,7	8,3	8,5	8,3	8,3	8,4	8,2	8,1	8,2	8	7,9
1:2	2,1	0,4	8,0	8,2	8,0	8,3	7,8	8,2	7,5	7,9	7,3	7,8
1:3	8,3	3,8	8,4	8,3	7,9	8,1	7,7	7,8	6,7	6,7	7,7	7,9
1:4	9,8	8,0	8,1	8,1	7,9	8	6,9	7,4	6,3	7,2	6,4	7,3

Gambar 3 Hasil pemeriksaan nilai total error bilirubin total serum segera dan tunda tanpa dan dengan pengenceran

Perbandingan	Penyimpanan (hari)											
	0		1		2		3		4		5	
Segera	-		0,292		0,102		0,142		0,349		0,007	
	NaCl 0,9%	Aquabidest	NaCl 0,9%	Aquabidest	NaCl 0,9%	Aquabidest	NaCl 0,9%	Aquabidest	NaCl 0,9%	Aquabidest	NaCl 0,9%	Aquabidest
1:1	0,056	0,035	0,102	0,225	0,007	0,049	0,56	0,041	0,51	0,002	0,007	0,006
1:2	0,419	0,161	0,004	0,080	0,001	0,049	0,063	0,041	0,009	0,002	0,000	0,006
1:3	0,020	0,040	0,478	0,009	0,002	0,009	0,009	0,008	0,000	0,004	0,018	0,000
1:4	0,007	0,020	0,045	0,001	0,035	0,009	0,001	0,019	0,000	0,010	0,001	0,014

Gambar 4 Nilai Sig uji GLM repeated measured

Perbandingan	Penyimpanan (hari)											
	0		1		2		3		4		5	
Segera	-		-		-		-		-		√	
	NaCl 0,9%	Aquabidest	NaCl 0,9%	Aquabidest	NaCl 0,9%	Aquabidest	NaCl 0,9%	Aquabidest	NaCl 0,9%	Aquabidest	NaCl 0,9%	Aquabidest
1:1	-	√	-	-	√	√	-	√	-	√	√	√
1:2	-	-	√	-	√	√	-	√	√	√	√	√
1:3	√	√	-	√	√	√	√	√	√	√	√	√
1:4	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√

Gambar 5 Keterangan uji GLM repeated measured

Keterangan : √ = Terdapat perbedaan yang signifikan
 - = Tidak terdapat perbedaan

Untuk mengetahui pengaruh waktu simpan dan besar pengenceran terhadap *pooled sera*, dilakukan analisis dengan uji GLM (*General Linear Model*) *repeated measured*. Didapatkan hasil nilai sig < 0,05 yaitu tunda tanpa pengenceran sampai 4 hari,

pengenceran sampai 3x menggunakan NaCl 0,9% dan aquabidest dengan waktu tunda 1 hari. Sedangkan untuk yang lainnya terdapat perbedaan yang signifikan dengan nilai sig > 0,05.

PEMBAHASAN

Bilirubin merupakan suatu zat yang mudah berubah stabilitasnya, hal ini dikarenakan sifat bilirubin yang fotolabile atau peka terhadap cahaya. Sehingga paparan cahaya dapat menurunkan kadar bilirubin dalam sampel. Sampel bilirubin sebaiknya disimpan pada tabung yang berwarna gelap atau dibungkus dengan alumunium foil untuk mencegah paparan cahaya terhadap sampel^{5,6}.

Berdasarkan hasil penelitian terdapat penurunan kadar bilirubin total pada serum tanpa pengenceran segera diperiksa dan dilakukan penundaan selama 1 hari sampai 4 hari. berdasarkan uji statistik didapatkan hasil nilai Sig ini lebih dari 0,05 yang berarti tidak terdapat perbedaan hasil namun serum tanpa pengenceran segera diperiksa dan dilakukan penundaan selama 5 hari memberikan pengaruh terhadap kadar bilirubin total serum yaitu terjadinya penurunan hasil kadar bilirubin total diperoleh nilai Sig 0,007 nilai Sig ini kurang dari 0,05 sehingga dapat dinyatakan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan.

Penurunan kadar bilirubin total dapat diakibatkan dari pengaruh lama simpan yang menyebabkan stabilitas serum berubah hal ini juga di sebutkan dalam brosur kit reagen Biomaxima yang menyebutkan bahwa serum boleh dilakukan penyimpanan pada suhu 2-8°C dapat bertahan selama 4 hari dan selama 2 bulan pada suhu -20 °C dan juga dapat disebabkan karena serum yang disimpan di dalam lemari es tidak ditutup menggunakan wadah atau penutup yang gelap karena kadar bilirubin dipengaruhi juga oleh paparan cahaya.

Mekanisme penurunan kadar bilirubin oleh paparan cahaya dikarenakan Kandungan sinar matahari atau lampu yang dapat memberikan pengaruh berupa menurunkan kadar bilirubin adalah sinar biru. Mekanisme ini

diawali bilirubin menyerap energi cahaya, yang melalui fotoisomerasi mengubah bilirubin bebas yang bersifat toksik menjadi isomer- isomenya yaitu terjadi reaksi kimia. Sinar biru yang merupakan kandungan dalam sinar matahari atau lampu tersebut dapat mengikat bilirubin bebas sehingga mengubah sifat molekul bilirubin bebas yang semula terikat dalam lemak yang sukar larut dalam air di ubah menjadi larut dalam air, sehingga mengurangi konsentrasi bilirubin dalam serum menurun⁸.

Selain dipengaruhi oleh paparan cahaya, bilirubin dipengaruhi oleh waktu penyimpanan dan suhu penyimpanan karena suhu mampu menjaga kestabilan serum jika suhu serum 2-8 °C selama 4 hari atau pada -20 °C selama 2 bulan. Bila serum terlalu lama dibiarkan maka mempengaruhi kadar bilirubin dalam serum^{9,10}.

Hasil uji statistik pada serum yang segera diperiksa dan serum dengan pengenceran NaCl 0,9% dan Aquabidest didapatkan hasil nilai Sig NaCl 0,9% 1:2-1:4 yang dibandingkan dengan serum segera kurang dari dari 0,05 sehingga dapat dinyatakan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan. Nilai Sig Aquabidest 1:1, 1:3 dan 1:4 yang dibandingkan dengan serum segera kurang dari dari 0,05 sehingga dapat dinyatakan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada hasil pemeriksaan bilirubin total serum segera dan serum segera dengan pengenceran aquabidest 1:1, 1:3 dan 1:4. Dimana perbandingan pengenceran yang besar memberikan pengaruh terhadap kadar bilirubin total serum yaitu terjadinya peningkatan hasil kadar bilirubin total pada serum dengan pengenceran segera diperiksa. Seharusnya peningkatan pengenceran menyebabkan kadar bilirubin dalam serum menurun karena penambahan larutan pengencer dapat menyebabkan degradasi protein dimana penambahan larutan pengencer merupakan salah satu faktor pengaruh fisika. Peningkatan kadar bilirubin total dapat diakibatkan dari kesalahan pemipetan pada saat

melakukan pengenceran karena menggunakan beberapa kali pipet menggunakan mikropipet sebaiknya bila melakukan pengenceran menggunakan pipet volume.

Namun pada hasil uji statistik pada serum yang segera diperiksa dengan pengenceran NaCl 0,9% dan Aquabidest ditunda selama 5 hari didapatkan nilai sig kurang dari 0,05 yang artinya terdapat perbedaan yang signifikan terhadap serum segera. Pada serum yang segera diperiksa dengan pengenceran NaCl 0,9% dan Aquabidest dimana perbandingan pengenceran yang besar dengan penundaan 1 hari sampai 5 hari memberikan pengaruh terhadap kadar bilirubin total serum yaitu terjadinya penurunan hasil kadar bilirubin total disetiap harinya.

Penurunan kadar bilirubin total dapat diakibatkan dari besarnya jumlah pengenceran, suhu penyimpanan dan waktu penyimpanan hal ini membuat kadar yang bilirubin dengan penyimpanan 2-8°C dapat membantu menstabilkan serum namun pengenceran yang besar akan mengakibatkan kesalahan serta lamanya waktu penyimpanan akan merubah kestabilan serum dimana protein sangat peka terhadap pengaruh fisik dan kimia sehingga dapat mempengaruhi perubahan sifat-sifat aslinya¹¹.

Mekanisme penurunan kadar bilirubin total yang dipengaruhi oleh waktu penyimpanan dan suhu penyimpanan karena bilirubin adalah cairan yang berwarna kuning berasal dari unsur porfirin dalam hemoglobin yang terbentuk karena terjadinya penghancuran dari sel darah merah oleh sel retikuloendotel, dimana bilirubin juga merupakan bagian dari protein. Protein sangat peka terhadap pengaruh fisik dan kimia sehingga dapat mempengaruhi perubahan sifat-sifat aslinya, yang disebut denaturasi. serum direaksikan oleh reagen yang digunakan sehingga mempengaruhi nilai saat dilakukan pembacaan dengan menggunakan fotometer. Proses denaturasi yang terjadi bisa menyebabkan peningkatan atau

penurunan kompleks warna yang terbentuk setelah kadar bilirubin dalam serum direaksikan oleh reagen yang digunakan sehingga mempengaruhi nilai saat dilakukan pembacaan dengan menggunakan fotometer¹¹.

Dalam pemeriksaan laboratorium, TEa digunakan untuk menentukan batasan kesalahan yang dapat ditoleransi, dan untuk menentukan kinerja analitik yang dapat diterima. Apabila total error (nilai kesalahan) lebih kecil nilai TEa maka hasil pemeriksaan dapat diterima. Nilai TEa untuk bilirubin total yaitu 30%^{12, 13}.

Melihat hal tersebut walaupun pada uji statistik beberapa perlakuan dinyatakan terdapat perbedaan yang signifikan terhadap serum segera diperiksa namun pada hasil TE setiap perlakuan kurang dari nilai *Total Error Allowable* (TEa) bilirubin total yaitu 30%.

KESIMPULAN

Hasil yang tidak terdapat perbedaan yang signifikan dengan nilai sig < 0,05 yaitu tunda tanpa pengenceran sampai 4 hari, pengenceran sampai 3x menggunakan NaCl 0,9% dan aquabidest dengan waktu tunda 1 hari. Sedangkan untuk yang lainnya terdapat perbedaan yang signifikan dengan nilai sig > 0,05.

SARAN

Penulis menyarankan kepada teknisi laboratorium agar tidak melakukan penundaan dengan waktu yang lama terhadap pemeriksaan bilirubin total serum dengan pengenceran. Apabila dilakukan penundaan dan pengenceran serum diharapkan untuk melakukan penundaan selama tidak lebih dari 1 hari pada suhu 2-8°C dengan perbandingan pengenceran tidak lebih dari 3x.

Perlu dilakukan penelitian yang sama dengan memperhatikan cara pengenceran yang baik dan benar.

Perlu dilakukan penelitian pengenceran serum tunda tanpa dan

dengan pengenceran disimpan dalam lemari es suhu -20 °C yang dibandingkan dengan serum segera diperiksa.

Perlu dilakukan penelitian pengenceran serum tunda tanpa dan dengan pengenceran pada pemeriksaan protein.

DAFTAR RUJUKAN

1. Kementerian Kesehatan RI, Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 43 tahun 2013 Tentang Penyelenggaraan Laboratorium Klinik yang Baik. Jakarta: Kementerian Kesehatan; 2013. Diunduh pada 20 Desember 2018 pukul 13.59 WIB.
2. Praptomo AJ. Pengendalian mutu laboratorium medis. Yogyakarta Deepublish. 2018
3. Seswoyo. Pengaruh cahaya terhadap bilirubin total serum segera dan serum simpan pada suhu 20°-25° C selama 24 jam. Semarang: dalam jurnal Universitas muhammadiyah 2016. Diunduh pada 18 Nopember 2018 pukul 22.50 WIB.
4. Sari R. Efektivitas pengenceran serum normal, ikterik, lipemik dan hemolysis pada analisis bilirubin total dan direk dengan metode colorimetric test-dichloroaniline (DSO): Karya tulis ilmiah. Sekolah tinggi analis Bandung. 2017
5. Keputusan Menteri Kesehatan Nomor 1792 tahun 2010. Pedoman pemeriksaan kimia klinik yang baik. Jakarta: Kementerian Kesehatan; 2010.
6. Speicher MD. Pemilihan Uji Laboratorium Yang Efektif. Jakarta: EGC. 2004
7. BioMaxima. *Kit insert bilirubin total DMSO*. 2014
8. Puspitosari RD. Sumamo dan B Susatia. Pengaruh paparan sinar matahari terhadap penurunan tanda ikterus pada ikterus neonatorum fisiologis: *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. 2013. 22(3) 131-140.
9. Joyce LFK. Pedoman Pemeriksaan Laboratorium dan Diagnostik. Edisi 6. Jakarta: EGC. 2007
10. Safarina E. Kania D. Ali. U. Perbandingan Kadar Bilirubin Total Pada Serum Segar Dan Serum Simpan 3 Dan 4 Hari Pada Suhu 2-8°c: *Jurnal STIKES Muhammadiyah Ciamis*. 2017 <http://ejournal.stikesmucis.ac.id> Diunduh pada 27 Desember 2018 pukul 20.59 WIB.
11. Panil Z. Memahami Teori dan Praktek Biokimia Dasar Medis. Jakarta: EGC. 2008.
12. Harr KE. Flatland B. Nability M. Freeman K. ASVCP Guidelines Allowable Total Error: Developed by the Quality Assurance and Laboratory Standards (QALS) Committee of the ASVCP. 2013.
13. Sun Diagnostics. Recommended Total Allowable Error Limits. 2012.