

**PENGARUH CAHAYA TERHADAP KADAR  
BILIRUBIN CONTOH DARAH DENGAN BERAGAM  
PERLAKUAN SERUM PASIEN RSU TARAKAN**

**PURWANINGSIH  
H521 05 019**



	17-04-2007
	Fak. MIPA
	I (Suhu) kelas.
	H
No. 1	285/17-4-07
No. 2	36946

**PROGRAM KONSENTRASI TEKNOLOGI LABORATORIUM KESEHATAN  
JURUSAN FARMASI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2007**

**PENGARUH CAHAYA TERHADAP KADAR BILIRUBIN CONTOH  
DARAH DENGAN BERAGAM PERLAKUAN SERUM PASIEN  
RSU TARAKAN**

**SKRIPSI**

**Untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi  
Syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana**

**PURWANINGSIH  
H521 05 019**

**PROGRAM KONSENTRASI TEKNOLOGILABORATORIUM KESEHATAN  
JURUSAN FARMASI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2007**

PENGARUH CAHAYA TERHADAP KADAR BILIRUBIN  
CONTOH DARAH DENGAN BERAGAM PERLAKUAN SERUM PASIEN  
RSU TARAKAN

PURWANINGSIH

H521 05 019

Disetujui oleh :

Pembimbing Utama



Dr. Amran Ilyas Tandjung, M.Sc., Apt.  
NIP. 130 355 937

Pembimbing Pertama



Dra. Christiana Lethe, Apt.  
NIP. 131 122 062

Pembimbing kedua



Drs. Andrew Ollich, Apt.  
NIP. 131 287 214

Pada tanggal : 11 April 2007

## Ucapan Terima Kasih

Alhamdulillah, tiada kata yang lebih patut diucapkan oleh seorang hamba yang beriman selain ucapan puji syukur ke hadirat Allah swt, Tuhan Yang Maha Mengetahui, Pemilik segala Ilmu, karena atas petunjuk-Nya maka skripsi ini dapat diselesaikan.

Sungguh banyak kendala yang penulis hadapi dalam rangka penyusunan skripsi ini Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan tugas akhir ini banyak rintangan dan hambatan yang dihadapi. Namun berkat dukungan dan bantuan berbagai pihak, akhirnya penulis dapat melewati kendala – kendala tersebut. Oleh karena itu, penulis tulus menghaturkan banyak terima kasih dan penghargaan yang setinggi – tingginya kepada Dr. Amran Ilyas Tandjung, M.Sc., Apt sebagai pembimbing utama, Dra. Cristiana Lethe, Apt sebagai pembimbing pertama dan Drs. Adrew Ollich, Apt sebagai pembimbing kedua yang telah mendorong dan membimbing penulis sejak awal penyusunan proposal sampai skripsi ini dapat diselesaikan.

Demikian pula penulis menyampaikan terima kasih kepada: dr. Wiranegara Tan, M.M. selaku direktur Rumah Sakit Umum Tarakan, dr. H. Agus Alim Abdullah , SpPK selaku Wakil Direktur Pelayanan Rumah Sakit umum Tarakan yang senantiasa memantau kelancaran penelitian di Laboratorium dan Seluruh staf karyawan Laboratorium Rumah Sakit Umum Tarakan, Ketua Program Konsentrasi Teknologi Laboratorium Kesehatan ( TLK ). Ketua Jurusan Farmasi FMIPA Unhas,

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin. Para dosen Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan alam khususnya Jurusan Farmasi Program Konsentrasi TLK. dan, seluruh staf dan karyawan jurusan Farmasi Program TLK

Terkhusus lagi kepada teman-teman seperjuangan mahasiswa angkatan kedua Program Konsentrasi Teknologi Laboratorium Kesehatan (Nurul, Hartini, Sunarti, Tuti, Murniah, Baihaqi, Fihirudin dan Makmur) yang telah banyak membantu, saling mendukung dalam suka duka.

Akhirnya semua ini tiada artinya tanpa dukungan moril keluarga Tarakan khususnya Ibu Sriyatmi, suami tercinta Sukmoyono, anak-anak kami (Alaika, Siftufilla, Dayat, Latifah) yang sudah mendukung baik moril maupun materiil.

Akhirnya semoga karya kecil ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan. Amin.

Makassar 11 April 2007

Purwaningsih

## ABSTRAK

Purwaningsih, Pengaruh cahaya terhadap kadar bilirubin contoh darah dengan beragam perlakuan serum pasien RSUD Tarakan (Dibimbing oleh Amran Ilyas Tandjung, Christiana Lethe, Adrew Ollich).

Telah dilakukan penelitian terhadap kadar bilirubin serum 30 pasien dari RSUD Tarakan, Pemeriksaan bilirubin total dan direk dilakukan dalam waktu 1 jam sebagai kontrol dan setelah disimpan 3 jam dengan berbagai perlakuan.

Perlakuan meliputi penyimpanan dalam botol bening, penyimpanan botol coklat dan penyimpanan botol putih yang ditutup karbon. Penentuan kadar bilirubin dilakukan dengan metode Jendrassik Groff.

Hasil penelitian menunjukkan beragam perlakuan memberikan pengaruh penurunan kadar bilirubin. Dengan uji LSD ternyata terjadi penurunan kadar bilirubin yang sangat signifikan pada serum contoh yang disimpan dalam botol bening dan botol berwarna coklat, sedang berdasarkan data hanya sampel yang ditutup karbon yang tidak memperlihatkan penurunan kadar dibanding kontrol.

Dari hasil penelitian ini disimpulkan bahwa cahaya sangat mempengaruhi penurunan kadar bilirubin.

Kata kunci : Bilirubin total, bilirubin direk, pengaruh cahaya, variasi wadah



## ABSTRACT

Purwaningsih, The Influence of light to bilirubin content of blood sample with various serum treatments for patient at RSU Tarakan (Guided by Amran Ilyas Tandjung, Christians Lethe, Adrew Ollich).

It has been conducted the research about bilirubin serum rate to 30 patient from RSU Tarakan. The inspection of bilirubin total xecuted a conducted for 1 hour as control and after kept for 3 hours with various treatments. The treatments consist the storage in transparent bottle, brown bottle and carbon covered transparent bottle. Bilirubin rate conducted with Jendrassik Groff method.

The result of research showed that various treatments giving the influence on decrease of bilirubin content. With LSD test (significanice difference) test, if was actually the occurrence of significance decrease on bilirubin content at the sample serum stored in the transparent and brown bottle, while based on data, it was only carbon covered sample showed the decrease compared to control. From the result of this research it was concluded that light was very influence the degradation of bilirubin content.

Key Word : Bilirubin total, bilirubin direct, the influence of light, container variation.

## DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK .....	iv
ABSTRACT.....	v
UCAPAN TERIMA KASIH.....	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR .....	xi
DAFTAR LAMPIRAN .....	xii
DAFTAR SINGKATAN .....	xiii
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
II.1. Bilirubin.....	4
II.1.1. Definisi bilirubin .....	4
II.1.2 Golongan / macam bilirubin.....	4
II.1.3. Struktur bilirubin.....	5
II.1.4. Fraksi bilirubin dalam dara.....	5
II.1.5 Sintesa hemoglobin dan pembentukan bilirubin....	6
II.5.1. Sintesa hemoglobin.....	6
II.5.2. Pembentukan bilirubin .....	8
II.5.3. Metabolisme bilirubin normal.....	12



II. 6. Patofisiologi.....	15
II.2. Metode pemeriksaan bilirubin.....	18
II.2.1. Pemeriksaan bilirubin secara kualitatif.....	18
II.2.2. Pemeriksaan bilirubin secara kuantitatif	19
<b>BAB III. PELAKSANAAN PENELITIAN</b>	<b>22</b>
III.1. Alat dan bahan yang digunakan	22
III.2. Tempat dan waktu penelitian	22
III.3. Sampel penelitian	22
III.4. Prosedur penelitian	22
III.4.1 Pengambilan darah vena	22
III.4.2 Perlakuan terhadap sampel	23
III.5. Cara kerja	24
III.6. Pengolahan dan analisis data	24
III.6.1. Prinsip pemeriksaan	25
III.6.2. Prinsip kerja Selektro - E	25
III.6.3. Nilai rujukan	25
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	<b>26</b>
IV.1. Hasil penelitian	26
IV.2. Pembahasan	30
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN</b>	<b>34</b>
V.1. Kesimpulan	34
V.2. Saran	34
<b>DAFTAR PUSTAKA</b>	<b>35</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Hasil pemeriksaan bilirubin total dengan 4 perlakuan ...	27
2. Hasil pemeriksaan bilirubin direk dengan 4 perlakuan ...	27
3. Hasil analisis Varians ( anova ) pengukuran bilirubin Total dengan 4 perlakuan .....	28
4. Hasil an alisis varians ( anova ) pengukuran bilirubin Direk dengan 4 perlakuan .....	29



## DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Struktur bilirubin.....	5
2. Sintesa hemoglobin.....	7
3. Pembentukan dan pemecahan bilirubin .....	11
4. metabolisme dan ekresi bilirubin .....	16
5. Grafik rata - rata kadar bilirubin total untuk 4 perlakuan ..	27
6. Grafik rata – rata kadar bilirubin direk uhtuk perlakuanh ...	29

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Skema kerja .....	37
2. Hasil Pengukuran Bilirubin Total .....	38
3. Perhitungan statistik uji anova bilirubin total .....	39
4. Hasil Pengukuran Bilirubin Direk .....	41
5. Perhitungan statistik uji anova bilirubin direk .....	42
6. Gambar bahan, serum dan reagen bilirubin .....	44
7. Gambar alat autometik kimia klinik Selekra -E .....	44
8. Gambar alat- alat pemeriksaan bilirubin .....	45
9. SPSS uji anova dan Uji LSD bilirubin total .....	46
10. SPSS uji anova dan uji LSD bilirubin direk .....	47



## DAFTAR SINGKATAN

SINGKATAN	ARTI
NADPH	Nicotine Adenine Diphosphate
DSA	Diazo Asam Sulfanilat
ALA	Asam amino Laevulinik
BT	Billirubin total
BD	Bilirubin direk
R1	Reagen 1
R2	Reagen 2
nm	Nanometer
mg/%	Miligram perseratus persen
LSD	Least significant different
BNT	Beda nyata terkecil
RAK	Rancangan acak kelompok
SD	Standard Deviation
Cv	Coefficient of variation



# BAB I

## PENDAHULUAN

Pemeriksaan bilirubin merupakan pemeriksaan yang sering dilakukan di laboratorium dan biasanya diminta oleh klinisi sebagai bagian dari pemeriksaan fungsi hati. Tujuan dari pemeriksaan bilirubin adalah untuk mengevaluasi fungsi hepatobilier (berkenaan dengan fungsi hati dan empedu) dan eritropoetik ( proses pembentukan eritrosit ), menentukan dan mendiagnosa ikterus untuk menentukan jenis terapi pasien (1).

Keakuratan suatu hasil pemeriksaan sangat ditentukan oleh kuantitas sampel yang akan diperiksa (tahap pra analitik) di samping pengamatan tahap analitik dan pasca analitik. Oleh karena itu perhatian terhadap proses tahap analitik sangat besar artinya terhadap mutu hasil pemeriksaan. Identifikasi dan persiapan pasien, pengambilan darah, pengumpulan sampel darah dari pasien, penanganan sampel, penyimpanan, pengiriman sampel merupakan faktor – faktor yang sangat penting dalam tahap pra analitik yang dapat mempengaruhi keakuratan hasil pemeriksaan laboratorium (2).

Serum untuk pemeriksaan kimia klinik sebaiknya diperiksa sesegera mungkin setelah pengambilan darah. Pemeriksaan hendaknya dilakukan dalam waktu 1 jam setelah pengambilan darah. Penundaan pemeriksaan tanpa perlakuan khusus terhadap sampel dapat memberikan hasil yang kurang akurat terutama beberapa komponen tertentu, seperti bilirubin (3).

Semua metode pemeriksaan, menganjurkan pemeriksaan bilirubin dilakukan segera setelah pengambilan darah. Hal ini disebabkan oleh sifat bilirubin yang sensitif cahaya, bersifat labil bila terpapar cahaya matahari langsung maupun tidak langsung (3). Sinar matahari langsung dapat menyebabkan penurunan kadar bilirubin serum sampai 50 % dalam 1 jam. Karena itu serum harus disimpan di tempat gelap, dan pengukuran hendaknya dikerjakan dalam waktu 2 sampai 3 jam setelah pengumpulan darah. Sensitivitas bilirubin selain dipengaruhi oleh waktu penyimpanan juga tergantung pada wadah penyimpanan (1).

Bila terjadi penundaan pemeriksaan, sampel harus disimpan di tempat gelap dengan temperatur rendah untuk menjaga hasil pemeriksaan kadar bilirubin. Bilirubin dapat stabil dalam 3 hari apabila disimpan dalam refrigerator, selama 3 bulan bila sampel dibekukan pada temperatur  $-70^{\circ}\text{C}$  dan disimpan dalam tempat gelap (4).

Pemeriksaan sampel di laboratorium sering tidak dapat segera dilakukan oleh karena beberapa kendala, seperti jumlah sampel yang banyak dan adanya kerusakan alat. Hal tersebut diatas menyebabkan pemeriksaan tidak dapat dilakukan dalam beberapa jam.

Dengan adanya faktor – faktor yang dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan bilirubin seperti dijelaskan di atas dan kendala – kendala di laboratorium yang menyebabkan pemeriksaan tidak dapat dilakukan segera, maka telah dilakukan penanganan sampel dan penyimpanan serum sebelum diperiksa.



Berdasarkan uraian di atas maka, telah dilakukan penelitian mengenai pengaruh cahaya terhadap contoh darah pada pemeriksaan kadar serum bilirubin dengan beberapa perlakuan penyimpanan.

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka telah dilakukan penelitian dengan rumusan masalah, yaitu apakah terdapat perbedaan kadar bilirubin serum yang diperlakukan penyimpanan dalam botol bening, botol coklat, botol yang dibungkus karbon dengan ditunda selama 3 jam.

Adapun tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui perbedaan kadar bilirubin serum yang disimpan pada botol bening, botol coklat, botol yang dibungkus karbon.

Manfaat dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan cara yang tepat dalam hal penanganan sampel untuk pemeriksaan bilirubin.



## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **II.1. Bilirubin**

##### **II.1.1 Definisi Bilirubin**

Bilirubin berasal dari bahasa latin, bilis – bile yang berarti empedu dan ruber yang berarti merah (5). Bilirubin adalah suatu pigmen empedu yang terdiri dari senyawa tetrapireol yang larut dalam lemak, yang berasal dari pemecahan enzimatis dari gugus haem dari berbagai hemoprotein darah yang berasal dari seluruh tubuh (6).

##### **II.1.2. Golongan atau Macam-macam Bilirubin**

###### **a. Bilirubin Terkonyugasi**

Bilirubin direk atau bilirubin terkonyugasi yaitu bilirubin yang sudah mengalami konyugasi dengan asam glukoronat, dapat bereaksi langsung dengan pereaksi diazo dari Ehrlich tanpa penambahan alkohol, tidak larut dalam lemak, polar, larut dalam air oleh karena itu bilirubin direk ditemukan di urin (8).

###### **b. Bilirubin Tak terkonyugasi**

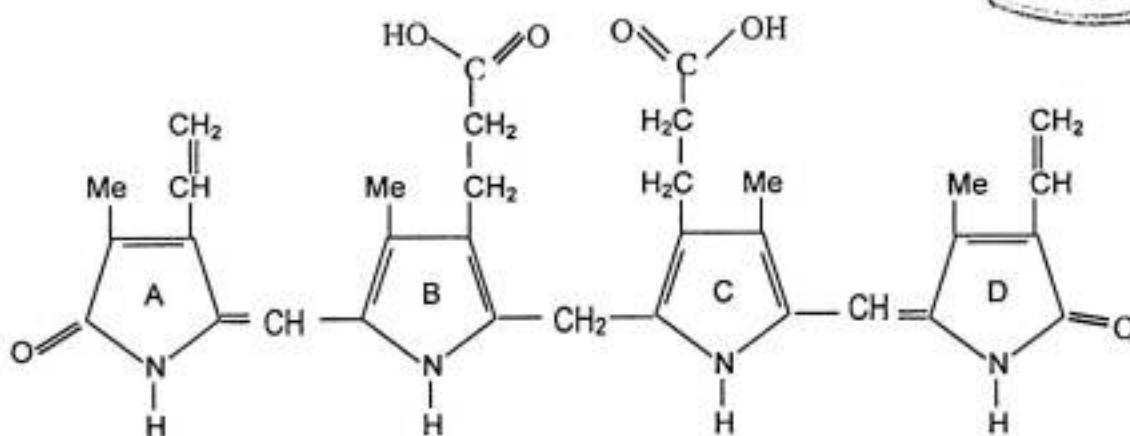
Bilirubin tak terkonyugasi atau bilirubin indirek yaitu bilirubin yang belum mengalami konyugasi dengan asam glukoronat. Bilirubin ini baru dapat bereaksi dengan pereaksi diazo dari Ehrlich setelah penambahan alkohol, larut dalam lemak, non polar, tidak larut dalam air (7).

Nilai normal bilirubin dalam serum

1. Bilirubin terkonjugasi : Sampai 0,4 mg %
2. Bilirubin tak terkonjugasi : Sampai 0,7 mg %
3. Bilirubin Total : 1,1 mg % (8)



### II.1.3. Struktur Bilirubin



Gambar 1. Struktur tetrapirrol linier (9).

#### Keterangan

Methyl (Me) dan Vinyl ( $\text{CH}_2 = \text{CH}$ ) kelompok yang berbeda molekulnya. Bilirubin mempunyai rumus kimia  $\text{C}_{33}\text{H}_{36}\text{O}_6\text{N}_4$  yang terdiri dari 4 cincin pirol, yang dihubungkan oleh 3 karbon. Pada 4 cincin ini terikat gugus metil, 2 gugus vinyl dan 2 gugus propionat.

### II.1.4. Fraksi Bilirubin dalam Darah

Bilirubin dalam serum darah dikelompokkan atau dibedakan menjadi empat macam fraksi yaitu:

1. Fraksi  $\alpha$ , yaitu bilirubin yang tidak mengalami konjugasi dengan asam glukoronat.

2. Fraksi  $\beta$ , yaitu bilirubin yang mengalami konyugasi dengan satu molekul asam glukoronat.
3. Fraksi  $\gamma$ , yaitu bilirubin yang mengalami konyugasi dengan dua molekul asam glukoronat .
4. Fraksi  $\delta$ , yaitu bilirubin yang mengalami ikatan dengan albumin serum (7,9).

Metode rutin atau tradisional yaitu dengan menggunakan reaksi diazo, yaitu reaksi antara asam sulfanilat dengan natrium nitrit membentuk azo yang berwarna merah.

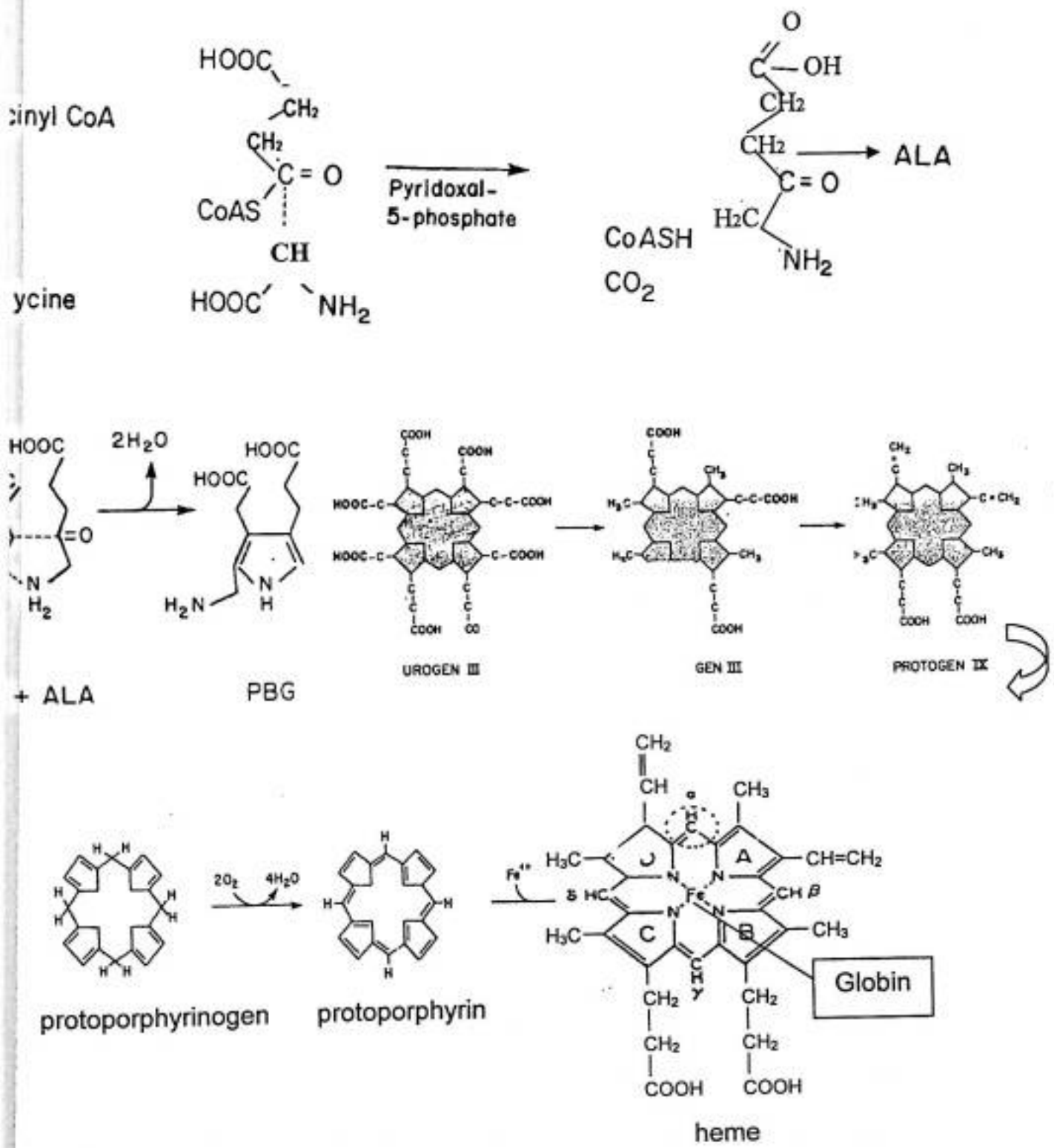
Bilirubin indirek ialah bentuk yang tak larut air, terikat dengan albumin . sedangkan bilirubin direk yaitu bilirubin yang mengalami konyugasi dengan satu molekul asam glukoronat. Bilirubin indirek dan direk ini yang bereaksi dengan diazotized sulfanilic acid menghasilkan azobilirubin berwarna merah jambu atau ungu. Warna yang terbentuk sebanding dengan kadar bilirubin serum.(7)

## **II.1.5. Sintesa hemoglobin dan pembentukkan / metabolisme bilirubin**

### **II.1.5.1. Sintesa hemoglobin**

Suksinat (sebagai suksinil Ko-A) dan glisin mula-mula bereaksi didalam organ hemopoitik membentuk asam  $\alpha$  amino  $\beta$  ketoadipat dan kemudian membentuk asam amino levulinat (ALA = amino laevulinic acid) dihasilkan dibawah pengaruh ALA sintese yang merupakan enzim pengatur kecepatan bagi keseluruhan sintesis hemoglobin. Dua molekul

ALA berkondensasi menjadi satu molekul porfobilinogen (PBG), dengan monopirol pengganti dan empat molekul porfobilinogen berkondensasi (menggunakan uroporfirinogen I sintase dan uroporfirinogen III kosintase) untuk membentuk komponen isomer tetrapiol (porfirin) siklik, uroporfirinogen seri I dan III. Uroporfirinogen I merupakan prekursor porfirin lain, tetapi tak berperan lebih lanjut dalam sintese heme. Uroporfirinogen III merupakan prekursor seri porfirin III dan dikonversi menjadi koproporfirinogen III serta kemudian melalui protoporfirinogen menjadi porfirinogen IX yang menhelasi besi (II) (ion ferro) untuk membentuk heme. Heme menghambat ALA sintesa dan membentuk kontrol umpan balik atas sintesa porfirin serta hemoglobin. Tiap molekul heme bergabung dengan satu molekul globin membentuk molekul heme dan globin (Hb) yang mengandung 4 pasang cincin pirol + globin.(11)



Gambar 2. Skema Sintesa Hemoglobin

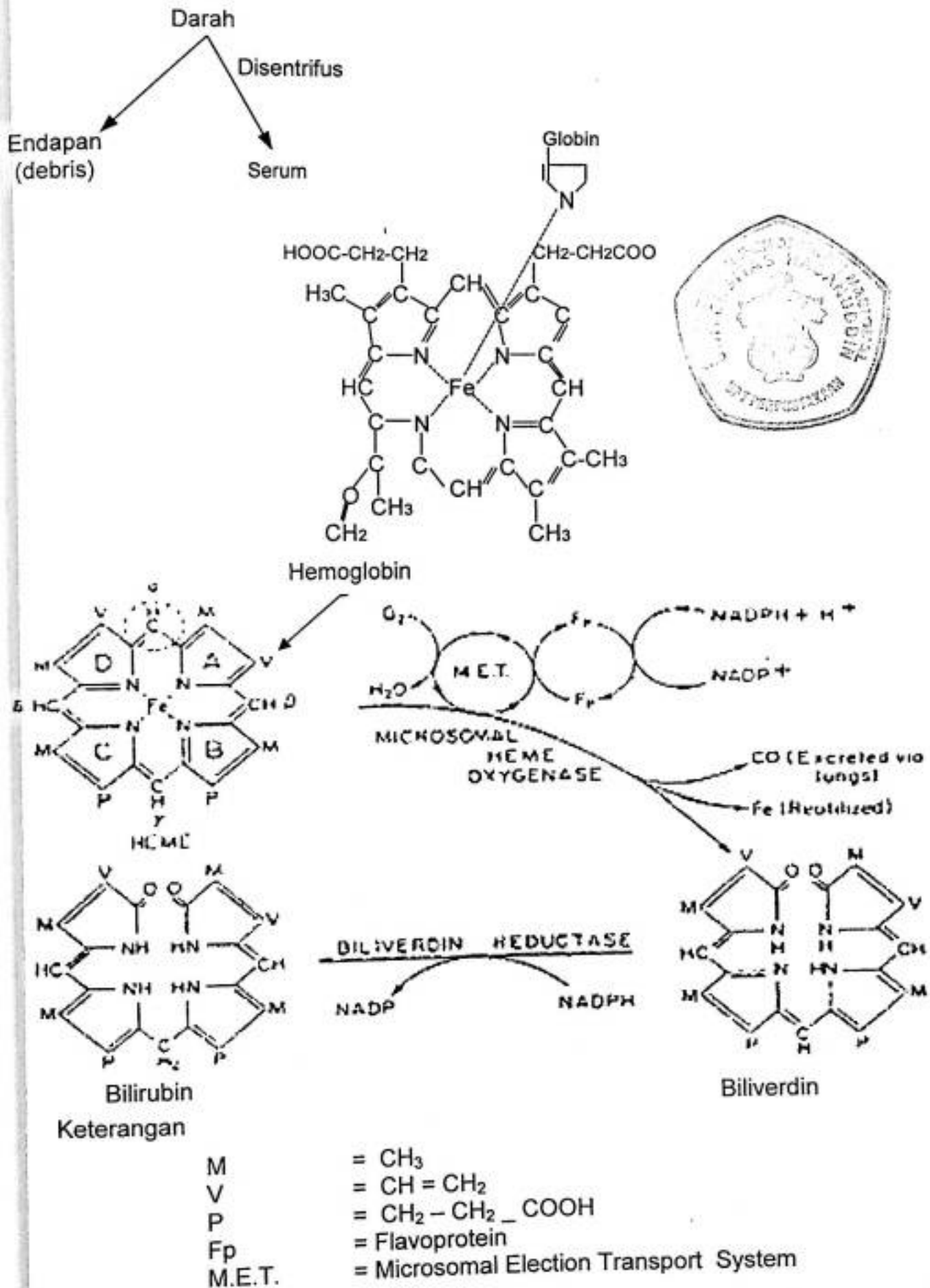


### II.1.5.2 Pembentukan dan metabolisme bilirubin

Kira-kira 85% dari total bilirubin yang dihasilkan berasal dari pemecahan hemoglobin eritrosit yang terjadi di dalam sel-sel retikulo endotelial pada hati, limpa, dan sumsum tulang. Sisanya sebesar 15% bilirubin berasal dari prekursor sel-sel darah merah yang dirombak di dalam sumsum tulang serta dari pemecahan heme yang berasal dari zat-zat lain seperti myoglobin, sitokrom, dan peroxidase. Bilirubin adalah pigmen empedu berwarna kuning-jingga, dihasilkan dari prothorphirin IX melalui oksigenase heme didalam mikrosom. Produk dari tetrapirrol dalam bentuk cincin terbuka pada jembatan  $\alpha$ -metene ini merupakan biliverdin sebagai pigmen hijau, sesudah proses hidrogenasi menjadi bilirubin melalui reduksi oleh enzim sitosolik biliverdin, sebuah enzim dependen - NADPH (Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate). Untuk setiap molekul heme dikatabolis melalui saluran ini menghasilkan 1 mol masing-masing karbon dioksida, bilirubin dan besi ferri dihasilkan. Produksi bilirubin pada manusia tiap hari total antara 250-300 mg. yang terdistribusikan melalui tubuh (9)..

Setelah produksi di dalam jaringan-jaringan sekitarnya, bilirubin ditranspor ke dalam hati setelah berikatan dengan albumin. Bilirubin selanjutnya dengan cepat diambil oleh hepatosit dimana akan terjadi sebuah proses transpor-aktif melewati membran sinusoid. Pada saat masuk kedalam sel hati, bilirubin distabilkan dengan protein-protein sehingga dapat larut. Terdapat dua jenis ikatan protein sitosolik, protein

ligandin dan protein Z, yang menjadi bagian dari sebagian besar ikatan bilirubin. Ligandin, mengisi ~ 5% dari total protein sitosol hati pada manusia, ikatan-ikatan bilirubin lebih kuat dari pada ikatan pada protein Z. Ligandin juga berfungsi mengikat beberapa senyawa yang lain seperti steroid, bromsulfoplaine, indosianin hijau, zat-zat kolesistografik, dan beberapa karsinogen. Ligandin dapat memainkan peran yang sangat penting dalam proses senyawa-senyawa ini; dia dapat meningkatkan efisiensi jaringan dengan cepat, dengan memperlambat penyerapan dari zat-zat ini kembali ke plasma. Di dalam hepatosit, bilirubin dengan cepat terkonyugasi dengan asam glukuroniat untuk menghasilkan mono dan di - glukuronida bilirubin, yang kemudian dikeluarkan melalui empedu. Enzim bilirubin UDP- glucuronil transferase di dalam mikrosom mengkatalis pembentukan senyawa monoglucuronida bilirubin. Belum diketahui apakah konversi monoglucurida menjadi diglucorida bilirubin juga dikatalisasi oleh enzim yang sama, atau oleh enzim lain yang berada di dalam saluran empedu (canaliculus). Ekskresi bilirubin yang terkonyugasi kedalam empedu terhadap gradien konsentrasi yang cukup signifikan memberi sebuah energi yang menentukan, proses transpor aktif. Pada orang dewasa, sebagian besar bilirubin yang diekresi ke dalam empedu dalam bentuk konyugasi glikosidik; glukoronida ~ 95% ester glukuronid, glucuronid merupakan fraksi (terbesar) (~ 90%) dan monoglucoronide merupakan fraksi minor (terkecil) (~ 10%)(9).



Gambar 3. Pembentukan Bilirubin dan pemecahan / metabolisme



### 1.5.3. Metabolisme Bilirubin normal

Pada individu normal, pembentukan dan ekskresi bilirubin berlangsung melalui tahapan sebagai berikut. Sekitar 80 % - 85 % bilirubin berasal dari pemecahan sel darah merah tua dalam sistem monosit makrofag. Masa hidup rata - rata sel darah merah adalah 120 hari. Setiap hari, 50 ml darah dihancurkan, menghasilkan 200 - 250 mg bilirubin. Sekitar 15 % - 20 % pigmen empedu total tidak berasal pada mekanisme ini. Tetapi berasal dari destruksi sel eritrosit matang dalam sumsum tulang dan haemoprotein lain, terutama dari hati (12).

Pada pemecahan hemoglobin (terutama terjadi dalam limpa), globin mula - mula dipisahkan dari heme, setelah itu heme diubah menjadi biliverdin. Bilirubin tak terkonyugasi kemudian dibentuk dari reduksi biliverdin. bilirubin terkonyugasi membentuk ikatan dengan albumin, diangkut oleh darah ke sel hati. Metabolisme bilirubin oleh sel hati berlangsung 3 langkah : Penyerapan kembali (*uptake*) bilirubin oleh sel - sel parenkim hati, dan sekresi bilirubin terkonyugasi ke dalam empedu. Pengambilan oleh proses sebagai protein sitosol Y dan Z. Konyugasi molekul bilirubin dengan asam glukoronat berlangsung dalam retikulum endoplasma sel hati. Langkah ini bergantung pada adanya enzim glukoronil transferase, yaitu enzim yang mengkatalisis reaksi (13).

Setelah tiba dipermukaan sinusoid sel hati, kompleks bilirubin - albumin melekat ke membran sel. Kemudian bilirubin dipisahkan dari

albumin, berikatan dengan protein Y (ligandin) dan protein Z, dan diangkut ke retikulum endoplasma halus untuk dikonyugasi

Bilirubin yang tak larut dalam air tetapi larut dalam lemak disebut bilirubin tak terkonyugasi. Bilirubin tak terkonyugasi memasuki sel hati melalui 2 mekanisme, yaitu difusi pasif dan endositosis melalui perantara reseptor. Konyugasi molekul bilirubin sangat mengubah sifat – sifat bilirubin. bilirubin terkonyugasi tidak larut dalam lemak, tetapi larut dalam air dan dapat diekresikan dalam air kemih. Sebaliknya bilirubin tak terkonjugasi larut dalam lemak tidak larut dalam air, dan tidak dapat diekskresi dalam air kemih (11,13).

#### 1. Bilirubin Terkonyugasi

Bilirubin sebelum diekskresikan ke dalam empedu (untuk kemudian dikeluarkan ke usus), terlebih dulu ia harus dibuat dapat larut dalam air. Untuk mencapai maksud tersebut, maka di dalam sel parenkim hati, sebagian besar bilirubin akan dikonyugasikan dengan asam glukuronat (5).

Dalam proses konyugasi yang berlangsung di dalam sel retikulum endoplasmal hati tersebut, mekanisme yang terjadi adalah melekatnya asam glukuronat (secara enzimatik) kepada salah satu atau kedua gugus asam propionat dari bilirubin IXa (Z,Z). Hasil konyugasi (yang kita sebut sebagai bilirubin terkonyugasi) ini, sebagian besar berada dalam bentuk diglukuronida (80%), dan sebagian kecil dalam bentuk monoglukuronida.

Penempelan gugus glukuronida pada gugus propionat terjadi melalui suatu ikatan ester, sehingga proses yang terjadi disebut proses

esterifikasi. Proses esterifikasi tersebut dikatalisasi oleh suatu enzim yang disebut bilirubin uridin-difosfat glukuronil transferase (lazimnya disebut enzim glukuronil transferase saja), yang berlokasi dalam sel retikulum endoplasmik hati (5).

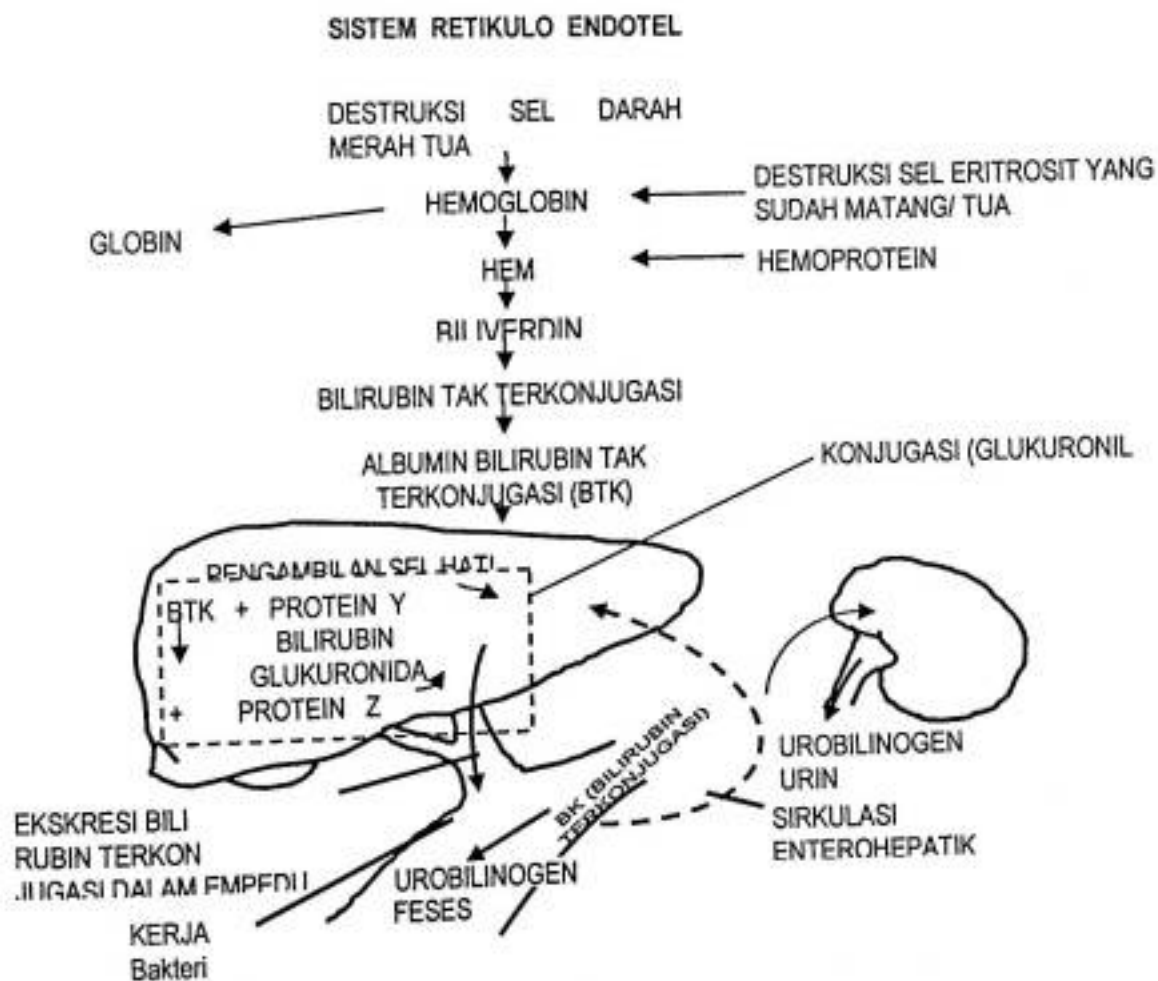
Akibat konyugasi tersebut, terjadi perubahan sifat bilirubin. Perbedaan yang paling menyolok antara bilirubin terkonyugasi dan tidak terkonyugasi adalah sifat kelarutannya dalam air dan lemak. Bilirubin tidak terkonyugasi bersifat tidak larut dalam air, tapi mempunyai afinitas tinggi terhadap lemak. Karena sifat inilah, bilirubin tak terkonyugasi tidak akan diekskresikan ke urin. Sifat yang sebaliknya terhadap pada bilirubin terkonyugasi (5).

Karena kelarutannya yang tinggi pada lemak, bilirubin tidak terkonyugasi dapat larut di dalam lapisan lemak dari membran sel. Peningkatan dari bilirubin tidak terkonyugasi dapat menimbulkan efek yang sangat tidak kita inginkan, berupa kerusakan jaringan otak. Hal ini terjadi karena otak merupakan jaringan yang banyak mengandung lemak (5).

## 2. Sterkobilin dan Urobilin

Bilirubin terkonyugasi akan dikeluarkan melalui membran sel hati ke dalam kantong empedu. Ia akan sampai ke kantong empedu untuk disimpan, kemudian dikeluarkan ke dalam usus halus. Bilirubin terkonyugasi yang dikeluarkan ke dalam usus halus akan dimetabolisme oleh bakteri usus dan mengalami proses oksidasi menjadi sterkobilin dari urobilinogen, sterkobilin adalah senyawa yang membuat feses berwarna kecoklatan. Bila karena suatu hal senyawa ini tidak terbentuk (misalnya

pada ikterus obstruktif), maka feses akan berwarna putih seperti dempul. Sebagian urobilinogen (10-20%) akan diserap dari rongga usus dan masuk ke dalam vena porta untuk menjalani siklus enterohepatik. Sebagian lagi akan diserap untuk dikeluarkan melalui ginjal. Urobilinogen (yang tidak berwarna) mudah mengalami oksidasi dan berubah menjadi urobilin (yang merupakan pigmen coklat). Urobilin memberi kontribusi terhadap warna dari urin (5).



**Gambar 4.** Metabolisme bilirubin normal, bilirubin terkonyugasi, bilirubin tak terkonyugasi (14).

## II. 1.6 Patofisiologi

Disfungsi hati terjadi akibat kerusakan pada sel – sel parenkim hati yang bisa secara langsung disebabkan oleh penyakit primer hati atau secara tidak langsung oleh obstruksi aliran empedu atau gangguan sirkulasi hepatic. Disfungsi hati bisa bersifat akut atau kronis, namun demikian, disfungsi yang kronis lebih sering dari pada akut.

Manifestasi disfungsi hepatoseluler berupa perubahan fungsi metabolik dan ekskretorik hati. Konsentrasi bilirubin akan meningkat sehingga menimbulkan ikterus (perubahan warna kulit, membran mukosa, sklera dan jaringan lainnya menjadi kuning) keadaan terjadi akibat obstruksi saluran – saluran empedu akibat intrahepatik. Kelainan pada metabolisme karbohidrat, lemak dan protein akan menyertai disfungsi hati. Metabolisme protein yang abnormal menyebabkan penurunan konsentrasi albumin serum dan oedema.(14,15).

### II.1.6.1 Pembentukan bilirubin secara berlebihan

Penyakit hemolitik atau peningkatan kecepatan destruksi sel darah merah merupakan penyebab utama dari pembentukan bilirubin yang berlebihan. Ikterus yang timbul sering disebut ikterus hemolitik. Konyugasi dan transfer pigmen empedu berlangsung normal, tetapi suplai bilirubin tak terkonyugasi melampaui kemampuan hati. Akibatnya kadar bilirubin tak terkonyugasi dalam darah meningkat. Bilirubin tak terkonyugasi tidak larut dalam air, maka tidak dapat diekskresikan ke dalam urin, dan bilirubinuria tidak terjadi. Pembentukan urobilirubinogen menjadi meningkat (akibat

peningkatan beban bilirubin terhadap hati dan peningkatan konyugasi dan ekskresi), yang selanjutnya mengakibatkan peningkatan ekskresi dalam feses dan urin. Urin dan feses dapat berwarna gelap(14).

#### **II.1.6.2. Gangguan konyugasi bilirubin**

Hiperbilirubinemia tak terkonyugasi yang ringan mulai terjadi pada hari kedua sampai kelima lahir ( Neonatus ) disebut ikterus fisiologis pada neonatus. Ikterus neonatal yang normal ini disebabkan oleh kurang matangnya enzim glukuronil transferase. Aktifitas glukuronil transferase biasanya meningkat beberapa hari setelah lahir sampai sekitar minggu kedua, dan setelah itu ikterus akan menghilang (14).

#### **II.1.6.3 Penurunan ekskresi bilirubin terkonyugasi**

Gangguan ekskresi bilirubin, baik yang disebabkan oleh faktor-faktor fungsional maupun obstruksi, terutama mengakibatkan hiperbilirubinemia terkonyugasi. Karena bilirubin terkonyugasi larut dalam air, maka bilirubin ini dapat diekskresi kedalam urin, sehingga menimbulkan bilirubinuria dan kemih berwarna gelap. Urobilinogen feses dan urobilinogen urin sering berkurang seperti peningkatan kadar sehingga feses terlihat pucat. Peningkatan kadar bilirubin terkonyugasi dapat disertai bukti-bukti kegagalan ekskresi hati lainnya, seperti peningkatan alkali fosfatase dalam serum, Ikterus yang diakibatkan oleh hiperbilirubinemia terkonyugasi biasanya lebih kuning dibandingkan dengan hiperbilirubinemia tak terkonyugasi (14,16).



## II.2 Metode Pemeriksaan Bilirubin

### II.2.1 Pemeriksaan bilirubin secara kualitatif

Pemeriksaan bilirubin didasarkan pada reaksi diazo merupakan metode yang rutin dipakai secara luas dalam tes bilirubin. Pada reaksi diazo, pereaksi diazo (*diazotized sulfanilic acid*) bereaksi dengan bilirubin membentuk 2 azobilirubin yang berwarna ungu kemerahan pada pH netral menunjukkan adanya bilirubin dalam serum( 3).

Bilirubin ditemukan dalam serum orang normal pertama kali oleh Hijman van den Bergh dan Snapper (Th 1984). Mereka menemukan bahwa bilirubin dalam serum normal bereaksi dengan pereaksi Ehrlichs diazo hanya jika ditambahkan alkohol. Pada pengamatan berikutnya didapatkan bahwa pigmen pada empedu manusia bereaksi dengan pereaksi diazo tanpa penambahan alkohol. Pigmen yang dapat bereaksi tanpa penambahan alkohol disebut Bilirubin direk. Pigmen yang memerlukan alkohol agar bereaksi dengan pereaksi diazo disebut bilirubin inderek (3,7).

### II.2.2 Pemeriksaan bilirubin secara kuantitatif Pemeriksaan rutin / Metode tradisional

Prinsip pengukuran bilirubin bereaksi dengan pereaksi diazo ( diazo asam sulfanilat) intensitas warna yang terbentuk berbanding lurus dengan kadar bilirubin yang ada dan diukur dengan fotometri. Prinsip penentuan bilirubin adalah didasarkan reaksi pembentukan warna antara pereaksi

diazo dengan gugus amin primer bilirubin membentuk warna azo dan diukur pada panjang gelombang 546 nm (8).

### 1. Metode Malloy – Evelyn

Prinsip pengukuran pada metode Malloy – Evelyn adalah bilirubin bereaksi dengan *diazotized sulfanilic acid* membentuk azobilirubin. Intensitas warna yang terbentuk sebanding dengan konsentrasi bilirubin dalam serum. Bilirubin direk (terkonyugasi) bereaksi dengan pereaksi diazo dalam larutan untuk membentuk senyawa diazo dalam waktu 1 menit. Penambahan metanol berikutnya menyebabkan bereaksinya bilirubin tak terkonyugasi. Nilai bilirubin total dapat diperoleh setelah dilakukan inkubasi selama 30 menit panjang gelombang 578 nm(8).

### 2. Metode Jendrasik – Grof ( 1938 )

Metode ini dipakai secara luas dalam pengukuran bilirubin serum. Pada metode ini bilirubin bereaksi dengan pereaksi diazo (*diazotized sulfanilic acid*), menghasilkan azobilirubin berwarna merah jambu atau ungu. Intensitas warna yang terbentuk sebanding dengan konsentrasi bilirubin. Untuk menentukan bilirubin direk (terkonyugasi), sampel pertama kali direaksikan dengan pereaksi diazo tanpa penambahan akselerator (mempercepat reaksi) yaitu Natrium benzoat – kafein. Reaksi ini dibiarkan selama 1 menit. Penambahan akselerator menyebabkan bilirubin tak terkonyugasi dan bilirubin terkonyugasi bereaksi dengan pereaksi diazo.



Untuk mengukur bilirubin total dilakukan inkubasi selama 10 menit dengan panjang gelombang 546 nm (7,8).

### II.3 Prinsip Pemeriksaan Bilirubin

Bilirubin bereaksi dengan DSA (Diazo Sulphanilat asamfhanillic) menghasilkan warna azo merah. Intensitas dari warna yang terbentuk sebanding dengan kadar bilirubin serum, yang diukur pada panjang gelombang 546 nm. Bilirubin direk larut dalam air, bereaksi secara langsung dengan DSA (Diazotized sulphanillic Acid). Sedangkan bilirubin indirek hanya bisa bereaksi dengan DSA setelah pemberian accelerator (cafein – natrium benzoat) skema prinsip kerja penentuan sebagai berikut

Bilirubin Total = Bilirubin Direk + bilirubin Indirek

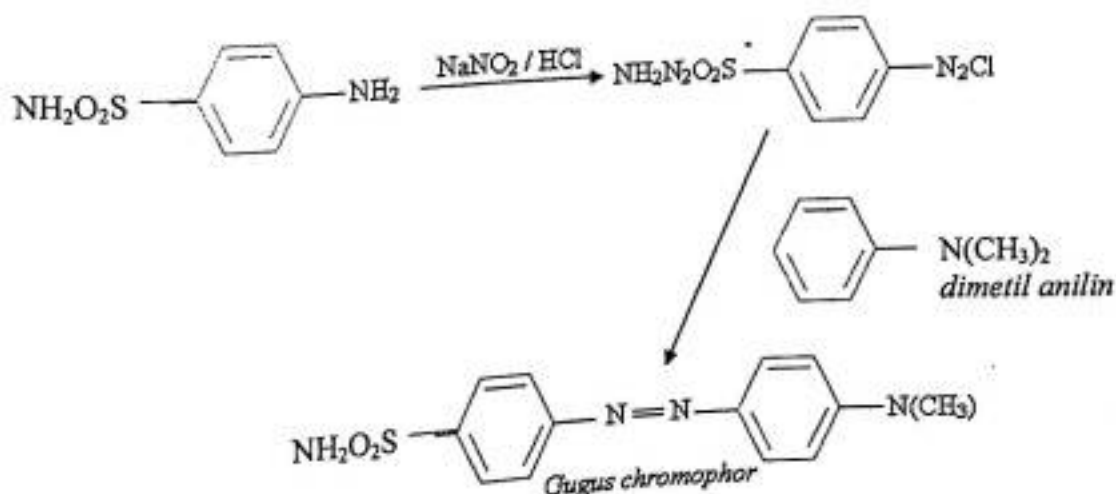
Asam sulfanilat + natrium nitrit  $\rightarrow$  DSA

Bilirubin + DSA  $\rightarrow$  Direk Azo bilirubin

Bilirubin + DSA + Accelerator  $\rightarrow$  Total Azo bilirubin (10).



#### Reaksi Diazotasi



Selanjutnya : Bilirubin + DSA (Diazol Sulphanilat + asam) → Azo bilirubin

#### **II.4. Prinsip Kerja Alat ( Selekra – E )**

Cahaya masuk dari lampu diteruskan ke filter yang diabsorpsi sesuai dengan absorben yang diprogram, kuvet rotor tempat sampel dan pereaksi di ukur dan diteruskan ke sensor untuk dibaca hasilnya. Panjang gelombang yang digunakan 546 nm. Hasil ditampilkan ke layar Selekra.

## BAB III PELAKSANAAN PENELITIAN



### III.1. Alat dan Bahan Yang Digunakan

Alat – alat yang digunakan adalah tabung vakum, jarum steril, holder / adapter, karet pembendung, kapas, sentrifus, rak tabung, pipet klinis (clinipet) 100 millimikron dan 1000 millimikron, botol bening, botol coklat, botol yang ditutup karbon, alat otomatis untuk pemeriksaan kimia klinik merek SELEKTRA – E.

Bahan – bahan yang digunakan adalah darah vena dan disentrifus menjadi serum, alkohol 70 %, pereaksi bilirubin total dan direk.

### III.2. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Rumah Sakit Umum Tarakan, dari tanggal 21 Desember 2006 sampai dengan 10 Januari 2007.

### III.3. Sampel Penelitian

Sampel penelitian adalah serum pasien dewasa rawat jalan dan rawat inap yang kadar bilirubin total dan bilirubin direknya diperiksa di laboratorium Rumah Sakit Umum Tarakan. Serum yang dipilih adalah yang tidak hemolisis, mempunyai kadar bilirubin total  $\geq 1$  mg / dl.

### III.4. Prosedur Penelitian

#### 4.1. Pengambilan Darah Vena

1. Karet pembendung darah diikatkan pada lengan atas 7,5 – 10 cm diatas bagian yang akan dilakukan pengambilan darah vena

2. Tempat yang akan ditusuk diusap dengan kapas alkohol 70 %, biarkan 30 detik untuk mengeringkan alkohol.
3. Menusuk bagian vena dengan ujung lobang jarum menghadap keatas dengan sudut kemiringan antara jarum dan kulit 15 derajat. Bila menggunakan tabung vakum, menekan tabung vakum sehingga vakumnya bekerja dan darah terisap ke dalam tabung.
4. Mengisi tabung vakum sampai jumlah darah yang dikehendaki
5. Melepaskan karet pembendung agar darah mengalir
6. Tabung vakum dilepas dari jarum, dengan cara kapas steril menutupi tempat tusukan, kemudian jarum dilepas (17).

#### III.4.2. Perlakuan terhadap sampel

1. Mengambil darah pasien secukupnya dengan tabung vakum dan waktu pengambilan darah vena dicatat waktunya
2. Darah dibiarkan membeku selama 30 menit pada temperatur ruangan, kemudian disentrifus selama 10 menit pada 3000 rpm. Maka akan terpisah antara komponen darah dan serum. Komponen darah pada bagian bawah, dan serum berada pada bagian atas(18).
3. Serum yang diperoleh dibagi menjadi 4 wadah penampungan.
4. Serum pada botol pertama langsung diperiksa kadar bilirubin, selanjutnya sampel pada botol kedua, ketiga, dan keempat dimasukkan kedalam botol bening, botol coklat, botol

yang dibungkus karbon dan selanjutnya diamkan selama 3 jam kemudian diukur kadar bilirubinnya.

### III.5 Cara kerja

Metode tes bilirubin serum yang digunakan adalah Jendrassik – Grof dengan menggunakan pereaksi bilirubin total dan direct dari PT. Rajawali Nusindo(8).

1. Menyiapkan alat otomatis SELEKTRA–E, dan menyiapkan pula pereaksi yang digunakan dalam pemeriksaan bilirubin total dan direk.

- Bilirubin total

- \* Reaksi kofein –Natrium Benzoat dimasukkan kedalam tabung R1

- \* Larutan Asam sulfanilat dan Natrium nitrit dicampur dengan perbandingan 10 : 1, dan dimasukkan kedalam tabung R2

Campuran pereaksi 1 dan 2 merupakan pereaksi bilirubin total

- Bilirubin direk

- \* Asam klorida dimasukkan kedalam tabung R1

- \* Larutan Asam sulfanilat dicampur dengan natrium nitrit dengan perbandingan 10 : 1, dan dimasukan kedalam tabung R2

Campuran pereaksi 1 dan 2 sebagai pereaksi bilirubin direkPereaksi R1 dan R2 bilirubin total dan direk dimasukkan kedalam botol pereaksi pada pada rak SELEKTRA – E.

2. Menyiapkan sampel ( serum ) yang akan diperiksa. Serum dimasukkan kedalam cup. Sampel dan diletakkan pada rak sampel Selekra E.

3. Memilih parameter bilirubin total dan direk pada keyboard..

Tes dilakukan 10 menit untuk bilirubin total dan 5 menit bilirubin direk.

4. Sebelum tes dikerjakan, dilakukan kontrol internal dengan serum kontrol Precinorm U.

5. Pengukuran dilakukan pada panjang gelombang 546 (20).

### III.6. Pengolahan dan analisis data

Pada penelitian ini digunakan uji statistik, untuk melihat perbedaan kadar bilirubin serum yang diperiksa segera ( dalam waktu 1 jam ) dengan yang mengalami penundaan dan perlakuan. Kadar bilirubin serum yang diperiksa dibandingkan antara kadar bilirubin serum yang tanpa perlakuan dan penundaan pemeriksaan yaitu :

1. Disimpan pada botol bening dan didiamkan tempat terbuka selama 3 jam
2. Disimpan pada botol coklat dan diamkan selama 3 jam
3. Disimpan pada botol yang dibungkus karbon diamkan selama 3 jam

### III.7. Nilai rujukan:

- Bilirubin Indirek sampai 0,7 mg %
- Bilirubin direk sampai 0,4 mg %.
- Bilirubin total sampai 1,1 mg % (8).



## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### IV.1. Hasil Penelitian

Hasil penelitian dilakukan terhadap kadar bilirubin 30 orang serum darah pasien dari Rumah Sakit Umum Tarakan. Pemeriksaan bilirubin dalam waktu 1 jam sebagai kontrol dan setelah disimpan 3 jam dengan berbagai perlakuan yaitu serum dalam botol bening, botol coklat, dan botol yang didibungkus karbon.

##### IV.1.1 Hasil Pemeriksaan Kadar Serum Bilirubin Total

Pengaruh berbagai perlakuan terhadap penurunan kadar bilirubin total dilakukan Analisis Varians (ANOVA) dalam Rancangan Acak Kelompok (RAK) seperti yang ditunjukkan pada tabel berikut.

Tabel 1. Hasil Analisis Varians (ANOVA) Pengukuran Bilirubin Total dengan Berbagai Perlakuan

Sumber variasi	dB	Kuadrat Total (KT)	Kuadrat Rata (KR)	F Hitung	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	3	2,117	0,706	54,72**	2,69	3,96
Kelompok	29	321,043	11,070	858,17**	1,55	1,85
Acak	83	1,072	0,013			
Total	119	324,232				

Ket : \*\*) Berpengaruh sangat nyata dengan  $\alpha = 1\%$

Dari hasil perhitungan ANOVA diperoleh nilai F hitung = 54,72 > F tabel<sub>(3;1 %)</sub> = 3,96, berarti perlakuan berpengaruh sangat nyata terhadap penurunan kadar bilirubin total serum darah pasien.

Dari uji beda nyata (LSD) untuk  $\alpha = 1\%$  (Tabel 1) menunjukkan bahwa hanya rata-rata penurunan kadar antara kontrol dengan botol

dibungkus karbon tidak berbeda nyata sedangkan dengan perlakuan lain sangat berbeda nyata dalam penurunan kadar bilirubin total.

Bilirubin total dalam pemeriksaannya digunakan larutan coffein dan campuran larutan asam sulfanilat dan natriun nitrit. Reaksi antara bilirubin akan membentuk azo berwarna merah (8). Hasil pemeriksaan bilirubin total ditunjukkan pada Tabel 2 berikut.

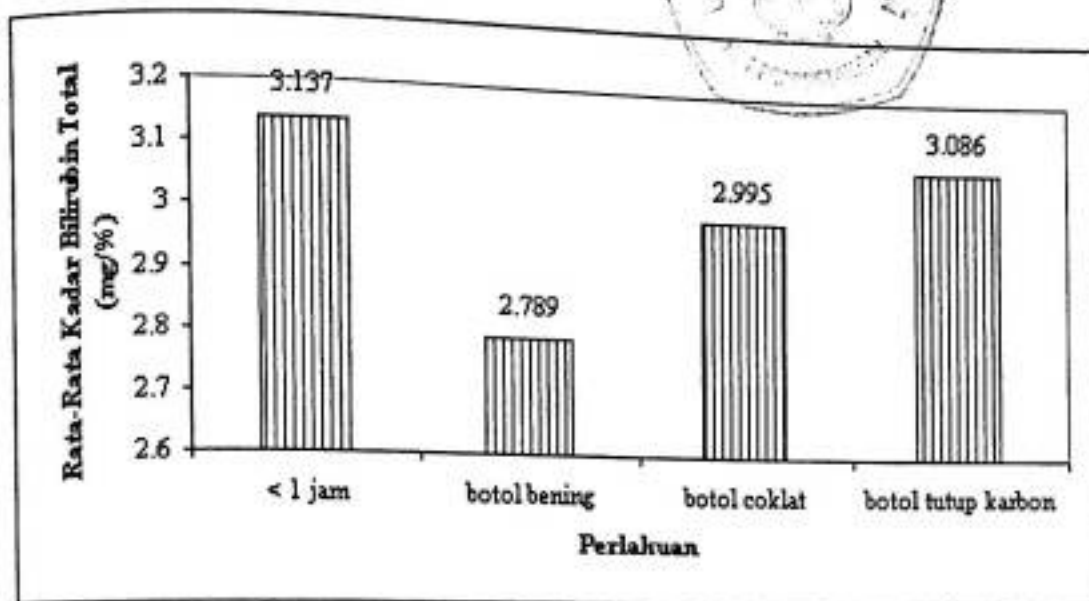
Tabel 2. Hasil Pemeriksaan Bilirubin Total dengan Beragam Perlakuan

Perlakuan	Interval Kadar Bilirubin Total (mg/%)	Rata-Rata Kadar Bilirubin Total (mg/%)
< 1 jam (kontrol)	1,30 – 7,90	3,137 <sup>a</sup>
Botol bening	1,00 – 7,20	2,789 <sup>b</sup>
Botol coklat	1,00 – 7,80	2,995 <sup>c</sup>
Botol dibungkus karbon	1,20 – 7,80	3,086 <sup>a</sup>

Keterangan : - huruf yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan nyata  
- huruf yang tidak sama menunjukkan terdapat perbedaan

Berdasarkan Tabel 2 di atas menunjukkan bahwa kadar bilirubin total contoh pada serum kontrol berkisar 1,30 – 7,90 mg/%, setelah 3 jam serum dalam botol bening berkisar antara 1,00 – 7,20 mg/%, botol coklat berkisar antara 1,00 – 7,80 mg/%, dan botol dibungkus karbon berkisar antara 1,20 – 7,80 mg/%.





Rata-rata kadar bilirubin total sampel penelitian seperti yang tampak pada Gambar 5 di atas menunjukkan bahwa kadar tertinggi pada serum kontrol yaitu sekitar 3,137 mg/%, kemudian pada botol dibungkus karbon yaitu sekitar 3,086 mg/%, botol coklat sekitar 2,995 mg/% dan terendah pada botol bening sekitar 2,789 mg/%.

#### IV.1.2. Hasil Pemeriksaan Kadar Serum Bilirubin Direk

Bilirubin direk biasa dikenal dengan bilirubin terkonyugasi adalah bilirubin yang sudah mengalami konyugasi dengan asam glukoronat, yang larut dalam air dan tidak dapat larut dalam lemak (13). Dalam pemeriksaannya digunakan asam clorida dan campuran larutan asam sulfanilat dan natrium nitrit.

Tabel 3. Hasil Analisis Varians (ANOVA) Pengukuran Bilirubin Direk dengan Berbagai Perlakuan

Sumber variasi	dB	Kuadrat Total (KT)	Kuadrat Rata (KR)	F Hitung	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	3	2,334	0,778	122,79**	2,69	3,96
Kelompok	29	255,290	8,803	1.389,36**	1,55	1,85
Acak	83	0,735	0,006			
Total	119	258,359				

Ket : \*\*) Berpengaruh sangat nyata untuk  $\alpha = 1\%$

Dari hasil ANOVA diperoleh nilai F hitung = 122,79 > F tabel<sub>(3,119)</sub> = 3,96, berarti berbagai perlakuan berpengaruh sangat nyata terhadap penurunan kadar bilirubin direk serum darah pasien.

Dari uji LSD untuk  $\alpha = 1\%$  diperoleh hasil bahwa tidak ada perbedaan rata-rata kadar bilirubin kontrol dengan botol dibungkus karbon sedangkan antara perlakuan lainnya berbeda sangat nyata dalam mempengaruhi penurunan kadar bilirubin direk.

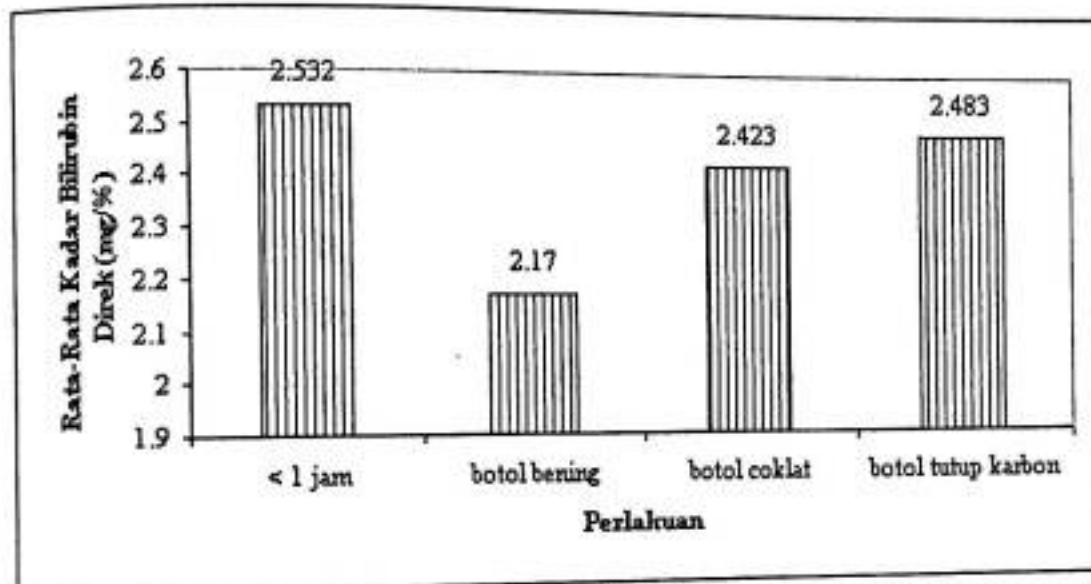
Reaksi antara bilirubin dengan DSA akan membentuk warna azo merah dengan hasil pemeriksaan ditunjukkan pada Tabel 4 berikut.

Tabel 4. Hasil Pemeriksaan Bilirubin Direk dengan Berbagai Perlakuan

Perlakuan	Interval Kadar Bilirubin Direk (mg/%)	Rata-Rata Kadar Bilirubin Direk (mg/%)
< 1 jam (kontrol)	0,90 – 6,50	2,532 <sup>a</sup>
Botol bening	0,60 – 6,00	2,170 <sup>b</sup>
Botol cokelat	0,80 – 6,40	2,423 <sup>c</sup>
Botol tutup karbon	0,90 – 6,50	2,483 <sup>a</sup>

Keterangan : - huruf yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan nyata  
- huruf yang tidak sama menunjukkan terdapat perbedaan

Berdasarkan Tabel 4 di atas menunjukkan bahwa kadar bilirubin direk pada serum kontrol berkisar 0,90 – 6,50 mg/%, sedangkan setelah 3 jam serum pada botol bening berkisar antara 0,60 – 6,00 mg/%, botol coklat berkisar antara 0,80 – 6,40 mg/%, dan botol dibungkus karbon berkisar antara 0,90 – 6,50 mg/%.



Gambar 6. Rata-Rata Kadar Bilirubin Direk untuk 4 Perlakuan Selama Penelitian

Rata-rata kadar bilirubin direk sampel penelitian seperti yang tampak pada Gambar 6 menunjukkan bahwa rata-rata tertinggi pada serum kontrol yaitu sekitar 2,532 mg/%, kemudian pada botol dibungkus karbon yaitu sekitar 2,483 mg/%, pada botol coklat sekitar 2,423 mg/% dan terendah pada botol bening sekitar 2,170 mg/%.

## IV.2. PEMBAHASAN

### IV.2.1 Pengaruh Perlakuan terhadap Kadar Bilirubin Total

Kadar bilirubin total yang merupakan gabungan reaksi antara bilirubin direk dengan indirek setelah dilakukan inkubasi dalam waktu 10

menit dilakukan dalam waktu 1 jam (kontrol) dan setelah 3 jam dengan berbagai perlakuan yaitu serum pada botol bening, botol coklat dan botol dibungkus karbon.

Berdasarkan hasil analisis varians (ANOVA) dengan Rancangan Acak Kelompok (RAK), menunjukkan bahwa perlakuan berpengaruh sangat nyata pada penurunan kadar bilirubin total. Dari hasil uji LSD menunjukkan bahwa terjadi penurunan kadar bilirubin total yang sangat signifikan pada serum perlakuan yang disimpan dalam botol bening dan botol warna coklat setelah disimpan selama 3 jam, sedangkan pada botol dibungkus karbon tidak memperlihatkan penurunan kadar bila dibandingkan dengan kontrol.

Hal ini kemungkinan disebabkan karena pada pemeriksaan serum pada botol dibungkus karbon tidak terkena cahaya sehingga tidak terjadi penurunan kadar bilirubin total seperti pada serum kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa jika terjadi penyimpanan serum darah pasien dalam beberapa jam maka harus diberikan perlakuan khusus sehingga tidak terdapat penurunan kadar yang signifikan.

#### **IV.2.2 Pengaruh Perlakuan terhadap Kadar Bilirubin Direk**

Kadar bilirubin direk yang merupakan bilirubin yang telah mengalami konjugasi dengan asam glukoronat dimana penurunannya juga diukur dalam waktu kurang 1 jam sebagai kontrol, dan pemeriksaan setelah 3 jam yaitu serum kontrol pada botol bening, botol coklat dan botol dibungkus karbon.

Berdasarkan hasil ANOVA dengan RAK, menunjukkan bahwa terdapat perlakuan yang berpengaruh sangat nyata pada penurunan kadar bilirubin direk. Dari hasil uji LSD menunjukkan bahwa terjadi penurunan kadar bilirubin direk yang sangat signifikan pada serum kontrol yang disimpan dalam botol bening dan botol warna coklat, sedangkan pada botol dibungkus karbon tidak memperlihatkan penurunan kadar bila dibandingkan dengan kontrol.

Seperti pada kadar bilirubin total, tidak terjadinya penurunan kadar pada botol dibungkus karbon hal ini disebabkan karena serum darah dalam botol tidak terkena cahaya sehingga rata-rata kadar bilirubin direknya tidak berbeda dengan kontrol.

Sedangkan pada botol bening dan coklat yang menunjukkan terjadinya penurunan kadar bilirubin direk yang sangat signifikan disebabkan karena serum pada botol menerima pancaran cahaya dalam ruangan pemeriksaan untuk botol bening serta adanya pengaruh botol coklat terhadap bilirubin.

#### **IV.2.3 Pengaruh Cahaya terhadap Penurunan Kadar Bilirubin**

Penelitian tentang penurunan kadar bilirubin baik bilirubin total maupun bilirubin direk, dalam pemeriksaannya keduanya menggunakan cahaya yang berasal dari lampu penerangan dalam ruangan. Serum darah pasien yang diambil diperiksa dalam 2 waktu yang berbeda yaitu pemeriksaan segera (kurang dari 1 jam) sebagai kontrol dan pemeriksaan setelah penundaan selama 3 jam. Selama 3 jam berlangsung, serum

dimasukkan ke dalam botol dengan berbagai perlakuan yaitu terdapat botol bening, botol coklat dan botol yang didibungkus karbon.

Berdasarkan hasil perhitungan secara statistik melalui ANOVA dalam RAK menunjukkan terdapat pengaruh perlakuan yang sangat signifikan terhadap penurunan kadar bilirubin. Dari hasil uji LSD, ternyata pada botol dibungkus karbon tidak mengalami penurunan kadar bilirubin seperti yang terjadi pada serum kontrol. Hal ini disebabkan karena pada botol dibungkus karbon tidak terkena cahaya. Karbon yang menutupi botol mampu memantulkan kembali cahaya sehingga sampel yang ada di dalam botol tidak terkena pengaruh cahaya dalam ruangan pemeriksaan. Berbeda pada botol bening dan coklat, keduanya tidak memantulkan cahaya yang diterima tetapi diteruskan masuk ke dalam botol sehingga serum dalam botol terkena pengaruh cahaya lampu sehingga terjadi penurunan kadar bilirubin yang sangat signifikan.

Hal ini sesuai dengan pendapat Hardjoeno, dkk bahwa serum yang terpapar cahaya matahari langsung selama 1 jam akan mengalami penurunan kadar sebesar 50%. Dimana sifat bilirubin sensitive terhadap cahaya, yaitu semakin lama terpapar oleh cahaya maka kadar bilirubinnya juga semakin mengalami penurunan(1).

Perbandingan kadar bilirubin total dan bilirubin direk yang terdeteksi / terukur selama pemeriksaan pada sampel menunjukkan bahwa penurunan bilirubin direk lebih besar dibandingkan dengan bilirubin total.

## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### V.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan yang telah diuraikan sebelumnya, maka dapat disimpulkan bahwa :

1. Perlakuan pada botol bening dan botol coklat mengalami penurunan kadar bilirubin total dan direk terhadap kontrol ( serum pasien yang diukur kadar bilirubin > 1 jam ) , sedangkan perlakuan botol bening yang dibungkus karbon tidak memperlihatkan adanya penurunan kadar.
2. Cahaya sangat mempengaruhi penurunan kadar bilirubin yaitu semakin lama terpapar cahaya dan banyak cahaya / intensitas maka makin rendah kadar bilirubin terdeteksi.

#### V.2 Saran

1. Apabila pemeriksaan bilirubin tidak bisa dilakukan setelah pengambilan darah, sampel hendaknya disimpan dalam botol bening yang dibungkus karbon. .
2. Dianjurkan penelitian lebih lanjut dengan variasi waktu tempat penyimpanan.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Hardjoeno, Mangarengi, F., dan Pakasi, R.DN., 2003. *Interprestasi Hasil Tes Laboratorium diagnostik*. Edisi 3. FKUH. Makassar. 38, 265 - 266
2. Hendrawati, T. 1995. *Pentingnya Proses Pre Analitik*. Informasi Laboratorium Prodia. Edisi 4. Makassar. 5 - 7
3. Henry, J.B. 1996. *The Clinical Laboratory Organizations Purpose and Practice*. In : Henry JB, Ed *Clinical and management by Laboratory methods* 9<sup>th</sup> ed. Philadelphia WB sounders. 3 - 25
4. Suyono, J.K. 1994. *Pemilihan Uji Laboratorium yang efektif*. EGC. Jakarta. 56 - 58
5. Handoko, I.S. *Bilirubin*. [WWW. Klinikku. Com](http://WWW.Klinikku.Com). Diakses 2 Feb 2007.
6. Widman, F.K. 1989. *Tinjauan Klinis atas Hasil Pemeriksaan*. Edisi 25. EGC. Jakarta. 266 - 268, 321 - 322
7. Gulian, I.M. *Bilirubin Testing*. [WWW. Clin Chem Clin Biochem](http://WWW.Clin Chem Clin Biochem). diakses 6 Februari 2007.
8. Soemahardjo, S. 1983. *Tes Faal Hati Dasar - dasar Teoritik dan Pemakaian Dalam Klinik*. Edisi 1. Alumni. Bandung. 15-20, 22
9. Balistreri, F. W. 1986. *Textbook Of Clinical Chemistry* WB. Philadelphia Saunders Company 1385, 1387.
10. Koolman, J. 1987. *Atlas Berwarna dan Teks Biokimia*. FKUI. Jakarta. 178-208
11. Babior, B.M., and Stosell, T.P. 1984. *Hematology a Pathophysiological Approach*. Churchill Livingstone. New York. 58 - 59
12. Baron, D.N. 2004. *Kapita Selekta Patologi Klinik*. Edisi 4. Terjemahan oleh Petrus Andrianto dan Johannes Gunawan. EGC. Jakarta. 140 - 141
13. Mayes, P.A. 1987. *Biokimia Kimia*. Edisi 20, Terjemahan oleh I Yan Darmawan. EGC. Jakarta. 371-374
14. Price, A. S. 2005. *Patofisiologi Konsep Klinik Proses- proses penyakit*. Edisi 6. EGC. Jakarta. 481-484



15. Dharma, A. 1995. *Patofisiologi Konsep Klinis Proses-proses Penyakit*. Edisi 2 . EGC. Jakarta. 335-338
16. Pincus, M.R., and Schaffner, J.A. 1996. *Assessment of Liver Function*. Philadelphia. W.B. Saunders. 258, 260
17. Muliaty D. 2001. *Teknik Flebotomi Petunjuk Praktis*. Cetakan II. Laboratorium Klinik Prodia dan Bd Vacutainer Systems. Jakarta. 21 - 22, 28-30
18. Direktorat Jendral Pelayanan Medik. 2004. *Pedoman Praktek Laboratorium yang Benar ( Good laboratory practice )*. Cetakan ke -3. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. 25,51.
19. Brosur *Pemeriksaan Bilirubin*. Rajawali Nusindo. Jakarta
20. MERCK. 2000. *Vitalab Selekttra – E Panduan teknis*. In: Merck.178-208.