

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

Penelitian yang berjudul “Pengaruh Kadar Hemoglobin Dalam Serum Terhadap Hasil Pemeriksaan Aktivitas Enzim *Aspartat Aminotransferase* (AST)” ini telah dilaksanakan pada 2-5 Januari 2019 di Laboratorium Patologi Klinik Balai Laboratorium Kesehatan Yogyakarta.

Sampel yang diperoleh berasal dari mahasiswa semester V dan semester VII di Jurusan Analis Kesehatan Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Yogyakarta yang dipilih secara acak. Sebelum dilakukan pengambilan sampel, peneliti melakukan sosialisasi mengenai penelitian yang akan dilakukan dengan memberikan naskah PSP (Penjelasan Sebelum Persetujuan) dan meminta persetujuan dari responden untuk ikut berpartisipasi dalam penelitian dengan mengisi lembar persetujuan (*informed consent*).

Sampel yang digunakan berupa serum normal, tidak hemolisis, tidak lipemik dan tidak ikterik. Sampel berasal dari 7 orang yang berbeda dan diambil secara acak dimana selanjutnya setiap sampel dibuat homogen dengan cara pembuatan *pooled serum* sehingga faktor luar tidak dapat mempengaruhi hasil penelitian. Sampel yang sudah dibuat homogen dibagi menjadi 6 kelompok untuk diberi perlakuan berupa penambahan hemolisis ringan yang memiliki kadar hemoglobin 840 mg/dl. Setiap kelompok perlakuan dibuat volume sebanyak 3500 µl campuran yang masing-masing

ditambah hemolizat ringan sebanyak 0 µl, 335 µl, 665 µl, 1000 µl, 1335 µl, dan 1665 µl kemudian dibagi dalam 7 *cup* dengan volume 500 µl untuk dilakukan pemeriksaan, sehingga diperoleh data sebanyak 42 data. Data tersebut kemudian dilakukan analisis secara deskriptif dan statistik.

1. Hasil Analisa Deskriptif

Data hasil pemeriksaan aktivitas enzim *Aspartat aminotransferase* berdasarkan variasi kadar hemoglobin dalam serum disajikan pada Tabel

4.

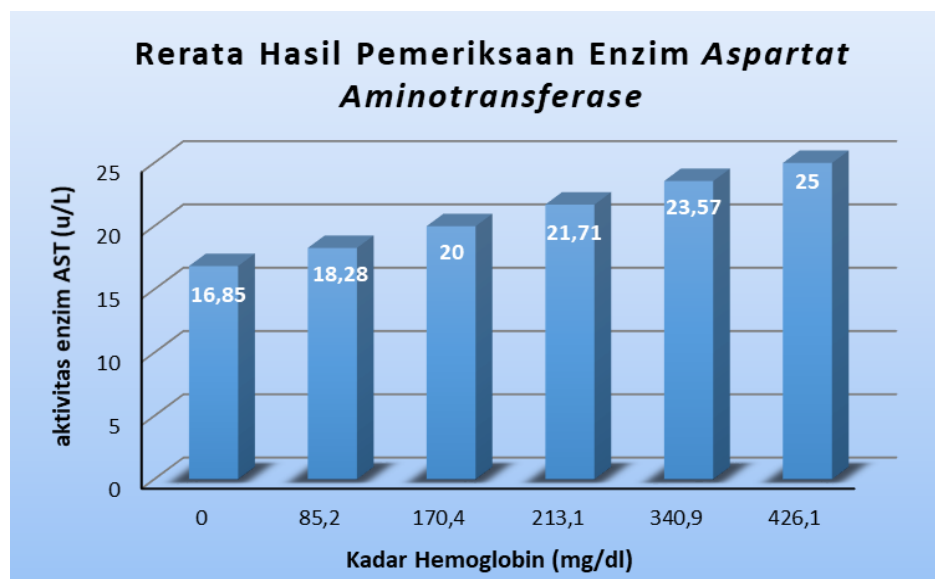
Tabel 4. Data Hasil Pemeriksaan Aktivitas Enzim *Aspartat aminotransferase* (AST) berdasarkan Variasi Kadar Hemoglobin dalam Serum

No Sampel	Aktivitas Enzim AST (u/L)					
	0 mg/dl Hb	85,2 mg/dl Hb	170,4 mg/dl Hb	213,1 mg/dl Hb	340,9 mg/dl Hb	426,1 mg/dl Hb
1	17	18	20	23	23	25
2	17	19	20	22	24	25
3	16	18	20	22	23	25
4	17	19	19	22	24	25
5	17	18	20	21	24	25
6	17	18	20	21	24	25
7	17	18	21	21	24	25
Jumlah	118	128	140	152	165	175
Rerata	16,85	18,28	20	21,71	23,57	25

Sumber : Data Primer Terolah, 2019.

Berdasarkan tabel 4, dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan rerata hasil pemeriksaan aktivitas enzim *Aspartat aminotransferase* pada masing-masing kelompok perlakuan. Rerata hasil pemeriksaan aktivitas enzim *Aspartat aminotransferase* untuk serum yang tidak mengandung hemoglobin (0 mg/dl Hb) sebesar 16,85 u/L. Rerata hasil pemeriksaan aktivitas enzim *Aspartat aminotransferase* untuk serum dengan kadar hemoglobin 85,2 mg/dl sebesar 18,28 u/L. Rerata hasil pemeriksaan

aktivitas enzim *Aspartat aminotransferase* untuk serum dengan kadar hemoglobin 170,4 mg/dl sebesar 20 u/L. Rerata hasil pemeriksaan aktivitas enzim *Aspartat aminotransferase* untuk serum dengan kadar hemoglobin 213,1 mg/dl sebesar 21,71 u/L. Rerata hasil pemeriksaan aktivitas enzim *Aspartat aminotransferase* untuk serum dengan kadar hemoglobin 340,9 mg/dl sebesar 23,57 u/L. Rerata hasil pemeriksaan aktivitas enzim *Aspartat aminotransferase* untuk serum dengan kadar hemoglobin 426,1 mg/dl yaitu sebesar 25 u/L. Nilai rerata hasil pemeriksaan aktivitas enzim *Aspartat aminotransferase* dari masing-masing kelompok tersebut mengalami peningkatan seiring dengan meningkatnya kadar hemoglobin dalam serum. Gambaran hasil pemeriksaan aktivitas enzim *Aspartat aminotransferase* dari setiap kelompok perlakuan dapat dilihat pada gambar 9.



Gambar 9. Gambaran Hasil Pemeriksaan enzim *Aspartat aminotransferase* dengan Berbagai Variasi Kadar Hemoglobin yang Meningkat secara serial

Gambar 9 menunjukkan bahwa semakin tinggi kadar hemoglobin dalam serum, hasil pemeriksaan aktivitas enzim *Aspartat aminotransferase* semakin meningkat. Besarnya selisih hasil pemeriksaan aktivitas enzim *Aspartat aminotransferase* berdasarkan kadar hemoglobin ditunjukkan pada tabel 5.

Tabel 5. Selisih Hasil Pemeriksaan Aktivitas Enzim *Aspartat aminotransferase* berdasarkan Kadar Hemoglobin dalam Serum

No Sampel	Selisih Hasil Pemeriksaan Aktivitas Enzim AST (u/L)				
	b-a	c-a	d-a	e-a	f-a
1	1	3	6	6	8
2	2	3	5	7	8
3	2	4	6	7	9
4	2	2	5	7	8
5	1	3	4	7	8
6	1	3	4	7	8
7	1	4	4	7	8
Jumlah	10	22	34	48	57
Rerata	1,43	3,14	4,86	6,86	8,14
Persentase Peningkatan (%)	8,49	18,64	28,84	40,71	48,31

Sumber : Data Primer Terolah, 2019.

Keterangan tabel 5:

- a : aktivitas enzim *Aspartat aminotransferase* pada serum dengan kadar hemoglobin 0 mg/dl
- b : aktivitas enzim *Aspartat aminotransferase* pada serum dengan kadar hemoglobin 85,2 mg/dl
- c : aktivitas enzim *Aspartat aminotransferase* pada serum dengan kadar hemoglobin 170,4 mg/dl
- d : aktivitas enzim *Aspartat aminotransferase* pada serum dengan kadar hemoglobin 213,1 mg/dl
- e : aktivitas enzim *Aspartat aminotransferase* pada serum dengan kadar hemoglobin 340,9 mg/dl

f : aktivitas enzim *Aspartat aminotransferase* pada serum dengan kadar hemoglobin 426,1 mg/dl

Tabel 5 menunjukkan bahwa semakin besar kadar hemoglobin dalam serum maka semakin besar peningkatan aktivitas enzim *Aspartat aminotransferase*. Presentase peningkatan aktivitas enzim *Aspartat aminotransferase* pada serum dengan kadar hemoglobin 85,2 mg/dl sebesar 8,49%. Presentase peningkatan aktivitas enzim *Aspartat aminotransferase* pada serum dengan kadar hemoglobin 170,4 mg/dl sebesar 18,64%. Presentase peningkatan aktivitas enzim *Aspartat aminotransferase* pada serum dengan kadar hemoglobin 213,1 mg/dl sebesar 28,84%. Presentase peningkatan aktivitas enzim *Aspartat aminotransferase* pada serum dengan kadar hemoglobin 340,9 mg/dl sebesar 40,71%. Presentase peningkatan aktivitas enzim *Aspartat aminotransferase* pada serum dengan kadar hemoglobin 426,1 mg/dl sebesar 48,31%. Untuk mengetahui besarnya pengaruh kadar hemoglobin dalam serum terhadap hasil pemeriksaan aktivitas enzim *Aspartat aminotransferase*, maka dilakukan perhitungan secara kuantitatif menggunakan analisa statistik.

2. Hasil Analisa Statistik (Terlampir)

Data yang diperoleh merupakan data primer dan berskala *ratio*, sehingga dilakukan analisis kuantitatif menggunakan uji statistik parametrik (*One-Way ANOVA*) menggunakan program *SPSS 16.0 For windows* dengan derajat kesalahan (α) sebesar 5%.

a. Hasil Uji Normalitas Data

Uji normalitas data menggunakan *One-Sample Kolmogorov Smirnov Test (K-S)* pada tingkat kepercayaan 95% (α 0,05) digunakan untuk mengetahui distribusi data. Nilai Asymp. Sig yang diperoleh dari uji normalitas data menunjukkan taraf signifikan $(0,379) \geq \alpha$ 0,05 yang artinya data berdistribusi normal.

b. Hasil uji *One-Way ANOVA*

Tabel 6. Hasil Uji *One-Way ANOVA*

No	Uji Statistik	α	Signifikan
1	Uji Anova (<i>One Way Anova Test</i>)	< 0,05	0,000
2	Uji Homogenitas (<i>Test of Homogeneity of Variances</i>)	< 0,05	0,011
3	Uji Lanjut (<i>Post Hoc Test</i>)	< 0,05	0,001

Sumber : Data Primer Terolah, 2019.

Pada tabel 6 menunjukkan nilai Signifikan (*p value*/ nilai *p*) pada uji *One-Way ANOVA* sebesar 0,000 yang berarti $p < 0,05$ sehingga dapat dinyatakan ada perbedaan yang signifikan pada hasil pemeriksaan aktivitas enzim *Aspartat aminotransferase*. Berdasarkan hasil uji Homogenitas menunjukkan Sig. pada *Test of Homogeneity of Variances* $(0,011) < 0,05$ yang berarti bahwa data tidak homogen maka pada uji *Post Hoc* menggunakan *Tamhane's T2*. Uji lanjut (*Post Hoc*) digunakan untuk mengetahui letak perbedaan dari hasil pemeriksaan aktivitas enzim *Aspartat aminotransferase* yang signifikan. Hasil dari uji lanjut menunjukkan taraf signifikan $(0,001) <$

0,05 pada kadar hemoglobin 85,2 mg/dl yang berarti kadar hemoglobin dalam serum sebesar 85,2 mg/dl sudah mampu meningkatkan hasil pemeriksaan aktivitas enzim *Aspartat aminotransferase*.

c. Hasil Uji Korelasi

Uji korelasi digunakan untuk mengetahui kuat lemahnya hubungan antara variabel bebas dengan variabel terikat. Hasil uji korelasi disajikan pada Tabel 7.

Tabel 7. Hasil Uji Korelasi

Correlations			
		Kadar Hemoglobin	Aktivitas enzim AST
Kadar Hemoglobin	Pearson Correlation	1	.983**
	Sig. (2-tailed)		.000
	N	42	42
Aktivitas enzim AST	Pearson Correlation	.983**	1
	Sig. (2-tailed)	.000	
	N	42	42

Sumber : Data Primer Terolah, 2019.

Nilai Sig. pada uji korelasi sebesar 0,000 (lebih kecil dari 0,05) dengan koefisien korelasi 0,983 yang menunjukkan bahwa ada hubungan yang sangat kuat antara kadar hemoglobin dalam serum dengan hasil pemeriksaan aktivitas enzim *Aspartat aminotransferase* dan menunjukkan arah yang positif (searah) yang artinya semakin tinggi kadar hemoglobin dalam serum maka semakin naik hasil pemeriksaan aktivitas enzim *Aspartat aminotransferase*. Untuk mengetahui besarnya pengaruh kadar hemoglobin dalam serum

terhadap peningkatan hasil pemeriksaan aktivitas enzim *Aspartat aminotransferase*, maka dilakukan uji regresi linier.

d. Hasil Uji Regresi Linier

Uji regresi digunakan untuk mengetahui besarnya pengaruh variabel bebas terhadap variabel terikat. Hasil uji regresi linier disajikan pada Tabel 8.

Tabel 8. Hasil Uji Regresi

	Coefficients B	R Square
(constant)	15,076	0,966
Kadar Hemoglobin	1,665	

Sumber : Data Primer Terolah, 2019.

Tabel 8 menunjukkan hasil analisis uji regresi pengaruh kadar hemoglobin dalam serum terhadap hasil pemeriksaan enzim *Aspartat aminotransferase* diperoleh *R square* (0,966) yang artinya peningkatan hasil pemeriksaan aktivitas enzim *Aspartat aminotransferase* karena kadar hemoglobin dalam serum sebesar 96,6% dan 3,4% lainnya disebabkan oleh faktor lain dengan persamaan regresi $Y = 15,076 + 1,665X$, yang artinya setiap kadar hemoglobin dalam serum bertambah 85,2 mg/dl, maka hasil pemeriksaan aktivitas enzim *Aspartat aminotransferase* akan meningkat sebesar 1,665 u/L.

B. Pembahasan

Hasil analisa deskriptif menunjukkan adanya peningkatan hasil pemeriksaan aktivitas enzim *Aspartat aminotransferase* pada serum yang

mengandung hemoglobin. Hal ini sesuai dengan teori yang dikemukakan oleh Lippi, dkk (2008) bahwa hemolisis menyebabkan peningkatan yang konsisten pada pemeriksaan *Aspartat Aminotransferase* (AST). Enzim *Aspartat aminotransferase* bersifat intraseluler dan berada dalam sitoplasma eritrosit sehingga ketika eritrosit pecah (hemolisis), substansi AST akan keluar dari eritrosit dan menyebabkan aktivitas enzim *Aspartat aminotransferase* dalam serum menjadi meningkat (Sardini, 2007). Enzim *Aspartat aminotransferase* mengkatalis pemindahan gugus amin pada L-aspartat ke 2-Oxoglutarat yang ada dalam reagen untuk membentuk glutamat dan oksaloasetat. Glutamat yang terbentuk akan mengalami deaminasi sedangkan oksaloasetat akan mengalami reduksi menjadi malat oleh enzim *Malat dehidrogenase*. Oksigen yang dilepaskan oleh oksaloasetat akan ditangkap oleh NADH dalam reagen untuk membentuk NAD^+ . Jumlah NADH yang teroksidasi akan terbaca sebagai banyaknya enzim *Aspartat aminotransferase* sehingga pada serum yang hemolisis hasil pemeriksaan aktivitas enzim *Aspartat aminotransferase* nya akan meningkat atau tinggi palsu karena akumulasi dari enzim *Aspartat aminotransferase* dalam serum yang sesungguhnya dengan enzim *Aspartat aminotransferase* yang keluar dari eritrosit akan digunakan dalam katalis reaksi.

Hasil analisa statistik juga menunjukkan adanya pengaruh yang signifikan terhadap hasil pemeriksaan aktivitas enzim *Aspartat aminotransferase* pada sampel serum yang mengandung hemoglobin. Hasil uji *One-Way ANOVA* menunjukkan ada perbedaan hasil pemeriksaan aktivitas

enzim *Aspartat aminotransferase* pada serum yang mengandung kadar hemoglobin 0 mg/dl, 85,2 mg/dl, 170,4 mg/dl, 213,1 mg/dl, 340,9 mg/dl, dan 426,1 mg/dl. Hasil dari uji lanjut (*Post Hoc*) menunjukkan taraf signifikan dimana pada uji ini diketahui hemoglobin dengan kadar rendah (85,2 mg/dl) sudah mampu memberikan pengaruh yang bermakna terhadap hasil pemeriksaan aktivitas enzim *Aspartat aminotransferase*.

Hemoglobin dalam serum memberikan pengaruh yang linier terhadap hasil pemeriksaa kimia. Semakin tinggi kadar hemoglobin dalam serum maka semakin tinggi pengaruhnya terhadap hasil pemeriksaan kimia (lippi,dkk. 2008). Hasil uji regresi linier pada penelitian ini juga menunjukkan hasil pemeriksaan aktivitas enzim *Aspartat aminotransferase* yang meningkat secara linier dengan derajat linieritas mendekati +1 yaitu sebesar 0,966 yang artinya hubungan linier kadar hemoglobin dalam serum terhadap hasil pemeriksaan aktivitas enzim *Aspartat aminotransferase* hampir sempurna dengan kemiringan (*slope*) positif. Hal ini memperjelas bahwa peningkatan hasil pemeriksaan aktivitas enzim *Aspartat aminotransferase* dipengaruhi oleh hemoglobin dalam serum dengan presentase probabilitas 96,6% dan 3,4% dipengaruhi oleh faktor lain seperti kualitas reagen, homogenisasi serum atau reagen yang kurang sempurna, pemipetan yang kurang baik, tingkat ketelitian peneliti serta suhu dan waktu transportasi.

Hemoglobin merupakan protein yang memiliki pigmen warna merah sehingga lepasnya hemoglobin ke dalam serum menyebabkan perubahan warna pada serum yang akan mengakibatkan interferensi pengukuran *absorbance*

optis (Sacher dan Mc Pherson, 2004). Interferensi yang terjadi berupa gangguan kromoforik (penyerapan cahaya) pada analisa fotometri. Pada panjang gelombang 340 nm warna yang diserap berupa warna lembayung. Warna merah pada serum menyebabkan warna lembayung yang terbentuk dari reaksi sulit diserap oleh alat karena warnanya lebih pekat sehingga menyebabkan kesalahan pembacaan pada detektor yang mengakibatkan absorbansi meningkat. Gangguan kromoforik ini akan berpengaruh terhadap peningkatan hasil pemeriksaan aktivitas enzim *Aspartat aminotransferase* (Koseoglu, dkk. 2011).

Persamaan regresi yang diperoleh yaitu $Y = 15,076 + 1,665X$, yang artinya setiap kadar hemoglobin dalam serum bertambah 85,2 mg/dl, maka hasil pemeriksaan aktivitas enzim *Aspartat aminotransferase* akan meningkat sebesar 1,665 u/L. Y adalah aktivitas enzim *Aspartat aminotransferase* dan X adalah kadar hemoglobin dalam serum. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kadar hemoglobin dalam serum sebesar 85,2 mg/dl (hemolisis ringan) sudah dapat memberikan pengaruh yang signifikan terhadap hasil pemeriksaan aktivitas enzim *Aspartat aminotransferase*. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian oleh Yayasiami Rohimatika (2014) yang berjudul “*Pengaruh Variasi Hemolisis Serum dalam Darah terhadap Aktivitas Enzim Aspartate Aminotransferase (AST)*”, menyimpulkan bahwa ada pengaruh variasi hemolisis serum dalam darah terhadap aktivitas enzim *Aspartate Aminotransferase* (AST). Hemolisis serum sudah dapat memengaruhi aktivitas enzim *Aspartate Aminotransferase* pada kondisi hemolisis ringan yang diukur

secara visual. Semakin tinggi tingkat variasi hemolisis aktivitas enzim *Aspartate Aminotransferase* (AST) akan semakin meningkat.

Hasil penelitian ini juga sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Koeseglu, dkk (2011) yang berjudul “*Effect of Hemolysis Interference on Routine Biochemistry Parameters*” dalam jurnal milik *Ataturk Training and Research Hospital, Department of Biochemistry and Clinical Biochemistry, Izmir Turkey*, menyimpulkan bahwa hemolisis mempengaruhi hampir semua parameter pemeriksaan biokimia, terutama pada aktivitas enzim *Aspartate Aminotransferase* (AST). Hasil pemeriksaan aktivitas enzim *Aspartate aminotransferase* menunjukkan peningkatan secara linier yang signifikan tergantung pada konsentrasi hemoglobin bebas pada sampel plasma dengan antikoagulan heparin yang dibuat hemolisis

Berdasarkan hasil penelitian ini telah terbukti bahwa serum yang mengandung hemoglobin (hemolisis) mempengaruhi hasil pemeriksaan aktivitas enzim *Aspartate aminotransferase*. Semakin tinggi kadar hemoglobin dalam serum maka hasil pemeriksaan aktivitas enzim *Aspartate aminotransferase* akan semakin meningkat. Oleh karena itu, penyebab terjadinya hemolisis pada saat pengambilan sampel maupun saat preparasi sampel sebaiknya dihindari. Jika ditemui sampel yang hemolisis sebaiknya dilakukan pengambilan sampel ulang kecuali untuk kasus khusus misalnya pada pasien dengan kondisi klinis tertentu dimana sampel darahnya sudah mengalami hemolisis secara *in vivo* atau pada kondisi dimana sudah tidak memungkinkan untuk dilakukan pengambilan sampel ulang maka sampel yang

hemolisis dapat digunakan untuk pemeriksaan dengan mengukur kadar hemoglobin yang terkandung dalam serum terlebih dahulu, kemudian hasil pemeriksaan Aktivitas enzim *Aspartate aminotransferase* dikonversikan berdasarkan nilai regresi sehingga didapatkan aktivitas enzim *Aspartate aminotransferase* yang sesungguhnya.

Kesulitan pada penelitian ini adalah pembuatan variasi kadar hemoglobin dalam serum. Kelemahan pada penelitian ini adalah kemungkinan adanya kesalahan acak yang disebabkan oleh kurang sempurnanya homogenisasi serum atau reagen, variasi pemipetan yang kurang tepat serta suhu dan waktu transportasi. Pada penelitian ini juga tidak dapat diketahui kadar hemoglobin yang tidak memberikan perbedaan signifikan terhadap hasil pemeriksaan aktivitas enzim *Aspartat aminotransferase* sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut.