

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

Penelitian yang berjudul “Pengaruh Hemolisis dalam Serum Terhadap Aktivitas Enzim *Alanin Aminotransferase* (ALT) telah dilaksanakan di Balai Laboratorium Kesehatan Yogyakarta pada tanggal 2 Januari - 5 Januari 2019.

Sampel yang diperoleh dalam penelitian ini berasal dari mahasiswa Jurusan Analis Kesehatan yang dipilih secara acak. Responden sebelum dilakukan pengambilan sampel diberikan penjelasan mengenai penelitian yang akan dilakukan dan diminta untuk mengisi lembar persetujuan (*Informed Consent*).

Penelitian ini menggunakan sampel yang berasal dari 7 orang. Sampel yang terkumpul dibuat *pooled* serum agar sampel homogen. *Pooled* serum kemudian dibagi menjadi 6 kelompok perlakuan berupa penambahan hemolizat secara serial. Data yang diperoleh dari hasil pemeriksaan aktivitas enzim *Alanin aminotransferase* (ALT) sebanyak 42 data. Data tersebut kemudian dianalisis data secara deskriptif yang disajikan dalam tabel dan diagram batang. Data yang diperoleh adalah data primer dan berskala rasio, sehingga dilakukan analisis kuantitatif dengan menggunakan uji statistik parametrik menggunakan *One-Way ANOVA*. Uji Statistik dilakukan menggunakan Program SPSS 17.0 *for windows* dengan derajat kesalahannya sebesar 5% ($\alpha = 5\%$).

1. Hasil analisis deskriptif

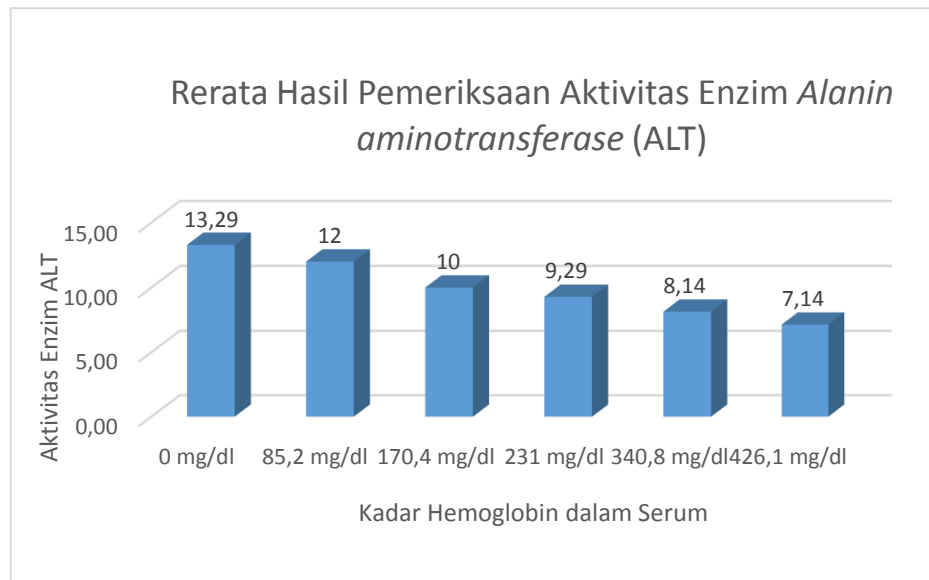
Diperoleh data dari hasil pemeriksaan Aktivitas Enzim *Alanine aminotrasferase* (ALT) dalam serum yang ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Data kadar Aktivitas Enzim *Alanin aminotrasferase* (ALT) dalam Serum dengan Variasi Hemoglobin.

No. Sampel	Aktivitas Enzim <i>Alanin aminotrasferase</i> (ALT) dengan penamabahan konsentrasi Hemoglobin					
	0 mg/dl	85,2 mg/dl	170,4 mg/dl	231 mg/dl	340 mg/dl	426,1 mg/dl
1	14	12	10	10	8	7
2	13	13	10	9	9	8
3	13	12	10	10	8	7
4	13	13	10	9	8	7
5	14	11	10	9	8	7
6	13	11	10	9	8	7
7	13	12	10	9	8	7
Rerata	13,29	12	10	9,29	8,14	7,14

Sumber: Data Primer Terolah, 2019.

Berdasarkan Tabel 1 diatas dapat diketahui bahwa rerata yang mengandung hemoglobin dalam serum pada konsentrasi 0 mg/dl sebesar 13,29 U/L. Rerata yang mengandung hemoglobin dalam serum pada konsentrasi 85,2 mg/dl sebesar 12 U/L. Rerata yang mengandung hemoglobin dalam serum pada konsentrasi 170,4 mg/dl sebesar 10 U/L. Rerata yang mengandung hemoglobin dalam serum pada konsentrasi 231 mg/dl sebesar 9,29 U/L. Rerata yang mengandung hemoglobin dalam serum pada konsentrasi 340,8 mg/dl sebesar 8,14 U/L. Rerata yang mengandung hemoglobin dalam serum pada konsentrasi 426,1 mg/dl sebesar 7,14 U/L. Hasil rerata tersebut dapat dilihat pada gambar 9.



Gambar 9. Rerata Hasil Pemeriksaan Aktivitas Enzim *Alanin aminotransferase* (ALT)

Gambar 9 menunjukkan terjadi penurunan dari konsentrasi rendah ke tinggi. Penurunan hasil pemeriksaan hasil aktivitas Enzim *Alanin aminotransferase* (ALT) semakin tinggi kadar hemoglobin dalam serum maka semakin menurun aktivitas enzim *Alanin aminotransferase* (ALT). Persentase besarnya selisih penurunan dilakukan dengan perhitungan membandingkan hasil pemeriksaan aktivitas enzim *Alanin aminotransferase* (ALT) pada serum yang tidak hemolisis dengan serum yang hemolisis yang mengandung variasi kadar hemoglobin ditunjukkan dalam Tabel 2.

Tabel 2. Selisih hasil pemeriksaan Aktivitas Enzim *Alanin aminotransferase* (ALT) dengan kadar hemoglobin dalam serum.

Nomer Sampel	Selisih Hasil Aktivitas enzim <i>Alanin aminotransferase</i> (ALT)				
	a-b	a-c	a-d	a-e	a-f
1	2	4	4	6	7
2	0	3	4	4	5
3	1	3	3	5	6
4	0	3	4	5	6
5	3	4	5	6	7
6	2	3	4	5	6
7	1	3	4	5	6
Rerata penurunan	1,29	3,29	4,00	5,14	6,14
Presentase penurunan	9,7 %	24,7 %	30,1 %	38,7 %	46,2 %

Sumber: Data Primer Terolah, 2019.

Keterangan Tabel 2 :

a : Hasil aktivitas enzim *Alanin aminotransferase* (ALT) pada serum yang mengandung hemoglobin 0 mg/dl.

b : Hasil aktivitas enzim *Alanin aminotransferase* (ALT) pada serum yang mengandung hemoglobin 85,2 mg/dl.

c : Hasil aktivitas enzim *Alanin aminotransferase* (ALT) pada serum yang mengandung hemoglobin 170,4 mg/dl.

d : Hasil aktivitas enzim *Alanin aminotransferase* (ALT) pada serum yang mengandung hemoglobin 231 mg/dl.

e : Hasil aktivitas enzim *Alanin aminotransferase* (ALT) pada serum yang mengandung hemoglobin 340,1 mg/dl.

f : Hasil aktivitas enzim *Alanin aminotransferase* (ALT) pada serum yang mengandung hemoglobin 426,1 mg/dl.

Tabel 2. Diatas menunjukan semakin besar konsentrasi hemoglobin dalam serum semakin besar pula penurunan hasil pemeriksaan aktivitas enzim *Alanin aminotransferase* (ALT). Serum yang mengandung hemoglobin 85,2 mg/dl mengalami penurunan sebesar 9,7 %, Serum yang mengandung hemoglobin 170,4 mg/dl mengalami penurunan sebesar 24,7 %, Serum yang mengandung hemoglobin 231 mg/dl mengalami penurunan sebesar 30,1 %, Serum yang mengandung hemoglobin 340,8 mg/dl mengalami penurunan sebesar 38,7 %, Serum yang mengandung hemoglobin 426,1 mg/dl mengalami penurunan sebesar 46,2 %. Hemolisis dapat mempengaruhi pemeriksaan aktivitas enzim *Alanin aminotransferase* (ALT), maka dilakukan perhitungan secara kuantitatif dengan analisis statistik untuk mengetahui besarnya pengaruh kadar hemoglobin dalam serum terhadap hasil pemeriksaan aktivitas enzim *Alanin aminotransferase* (ALT).

2. Hasil Analisis Statistik (Terlampir)

a) Uji normalitas data

Uji normalitas data menggunakan *One-Sampel Kolmogorov Smirnov Test* yang digunakan untuk mengetahui distribusi data. Nilai asymp. Sig yang diperoleh dari uji normalitas data menunjukan nilai yang signifikan yaitu sebesar 0,218 (Nilai Asymp. Sig lebih besar dari 0.05) yang berarti data tersebut berdistribusi normal. Data dapat dilanjutkan dengan uji *One-Way ANOVA*.

b) Uji *One-way Anova*Tabel 3. Hasil Uji *One-way Anova*

No.	Uji statistik	α	Signifikan
1	Uji <i>One-way</i> ANOVA	< 0.05	0,000
2	Uji homogenitas (<i>Homogeneity of variance</i>)	≥ 0.05	0,064
3	Uji lanjut (<i>Post hoc</i>)	< 0.05	0.000

Sumber: Data Primer Terolah, 2019.

Uji *One-way* ANOVA digunakan untuk menguji rerata perbedaan data 2 kelompok atau lebih. Nilai Sig. yang diperoleh dari uji *One-Way* ANOVA yaitu 0.000 (Nilai Sig. < 0.05) yang berarti ada perbedaan pada hasil aktivitas enzim *Alanin aminotransferase* (ALT) pada serum yang mengandung hemoglobin. Sehingga untuk mengetahui besarnya kadar hemoglobin dalam serum yang menyebabkan perbedaan hasil pemeriksaan aktivitas enzim *Alanin aminotransferase* (ALT) perlu dilakukan uji homogenitas

Uji homogenitas dilakukan untuk mengetahui homogenitas data dalam menentukan uji jenis *post hoc* yang akan digunakan. Uji homogenitas data diatas didapatkan nilai Sig. sebesar 0.064 (nilai $\geq$ dari 0.05) yang berarti data tersebut homogen.

Uji lanjut (*Post Hoc*) dilakukan untuk mengetahui letak perbedaan dari hasil pemeriksaan aktivitas enzim *Alanine aminotrasferase* (ALT) yang signifikan. Hasil Uji lanjut *post hoc* menunjukan signifikan pada kadar hemoglobin dalam serum sebsar 85,2 mg/dl, yang berarti pada kadar tersebut sudah mampu

menurunkan hasil pemeriksaan aktivitas enzim *Alanin aminotransferase* (ALT). Selanjutnya dilakukan uji korelasi untuk mengetahui hubungan kadar hemoglobin dalam serum dengan penurunan aktivitas enzim *Alanin aminotransferase* (ALT).

c) Uji korelasi

Uji korelasi dilakukan untuk mengetahui kuat lemahnya hubungan antara variabel bebas dengan variabel terikat. Hubungan antar variabel dilihat dari koefisien korelasi. Menurut Sugiyono (2013) interpretasi koefisien korelasi yaitu 0,00 – 0,199 (Sangat rendah), 0,20 – 0,399 (Rendah), 0,40 – 0,599 (Sedang), 0,60 – 0,799 (Kuat), 0,80 – 1,00 (Sangat kuat). Hasil uji korelasi disajikan pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil uji korelasi

		konsentrasi hb dalam serum	kadar aktivitas enzim Alanin aminotransferase
konsentrasi hb dalam serum	Pearson	1	-.966**
	Correlation		
	Sig. (2-tailed)		.000
	N	42	42
kadar aktivitas enzim Alanin aminotransferase	Pearson	-.966**	1
	Correlation		
	Sig. (2-tailed)	.000	
	N	42	42

Sumber: Data Primer Terolah, 2019.

Berdasarkan tabel 4 didapatkan nilai Sig. 0.000 (nilai lebih kecil 0.000) dengan koefisien korelasi -0.966 yang berarti ada hubungan yang sangat kuat antara kadar hemoglobin dalam serum

dengan hasil pemeriksaan aktivitas enzim *Alanin aminotransferase* (ALT). Nilai koefisien korelasi menunjukkan negatif yang berarti menunjukkan arah yang berlawanan yang artinya semakin tinggi kadar hemoglobin dalam serum maka semakin turun hasil pemeriksaan aktivitas enzim *Alanin aminotransferase* (ALT). Mengetahui besarnya pengaruh hemolisi dalam serum terhadap penurunan hasil pemeriksaan aktivitas enzim *Alanin aminotransferase* (ALT), maka dilakukan uji regresi linier.

d) Uji regresi linier

Uji regresi linier dilakukan untuk mengetahui besarnya pengaruh variabel bebas terhadap variabel terikat. Hasil uji regresi linier disajikan pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil Uji Regresi Linier

	Nilai
R	.966
R ²	.933

Sumber: Data Primer Terolah, 2019.

Berdasarkan Tabel 5 menunjukkan presentase penurunan hasil pemeriksaan aktivitas enzim *Alanine aminotransferase* (ALT) karena kadar hemoglobin dalam serum sebesar 93.3 % dan yang 6.7% disebabkan oleh faktor lain. Persamaan regresi disajikan pada Tabel 6.

Tabel 6. Persamaan Regresi

	Koefisien
Konstanta	14.305
Kadar Hb dalam serum	-1.245

Sumber: Data Primer Terolah, 2019.

Berdasarkan Tabel 9. diatas didapatkan persamaan regresi $Y=14.305 -1.245X$, yang artinya setiap kenaikan kadar hemoglobin dalam serum 85,2 mg/dl , aktivitas enzim *Alanin aminotransferase* (ALT) akan menurun sebesar -1,245.

B. Pembahasan

Hasil analisis deskriptif menunjukan terjadi penurunan hasil pemeriksaan aktivitas enzim *Alanin aminotransferase* (ALT) pada serum yang mengandung hemoglobin 0 mg/dl, 85,2 mg/dl, 170,4 mg/dl, 231 mg/dl, 340,8 mg/dl, 426,1 mg/dl. Penurunan kadar menunjukan bahwa semakin tinggi kadar hemoglobin dalam serum, maka hasil pemeriksaan aktivitas enzim *Alanin aminotransferase* (ALT) semakin turun.

Penurunan hasil pemeriksaan aktivitas enzim *Alanin aminotransferase* (ALT) ini disebabkan adanya hemoglobin bebas. Penurunan juga dapat disebabkan oleh pH darah (Robinson,2002). pH dalam darah akan menurun dalam keadaan hemolisis (Caraway, 1962). Pemeriksaan aktivitas enzim *Alanin aminotransferase* (ALT) menggunakan metode kinetik enzimatik sehingga dipengaruhi pH, suhu, waktu dan jenis substrat (Sardini,2007). Aktifitas katalitik enzim akan mencapai titik maksimum pada pH optimum. pH optimum untuk pemeriksaan enzim *Alanin aminotransferase* (ALT) adalah 7,15 sehingga pada kondisi hemolisis terjadi penurunan aktivitas katalitik yang disebabkan oleh penurunan pH.

Hasil analisis statistik dari uji *One-Way ANOVA* menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan terhadap pemeriksaan aktivitas enzim *Alanin aminotransferase* (ALT). Adanya perbedaan tersebut kemudian dilakukan uji lanjut *post hoc* yang hasilnya menunjukkan taraf yang signifikan pada konsentrasi 85,2 mg/dl. Hasil uji korelasi menunjukkan adanya hubungan yang sangat kuat antara kadar hemoglobin dengan pemeriksaan aktivitas enzim *Alanin aminotransferase* (ALT). Besarnya pengaruh dilakukan dengan Uji Regresi Linier dengan hasil persentase penurunan hasil pemeriksaan aktivitas enzim *Alanin aminotransferase* (ALT) kadar hemoglobin dalam serum sebesar 93,3 % dan persentase penurunan 6,7 % disebabkan oleh faktor lain seperti homogenisasi serum, pemipetan yang kurang baik. Persamaan regresi $Y = 14.305 - 1.245X$ dengan $Y =$ aktivitas enzim *Alanin aminotransferase* (ALT) dan $X =$ kadar hemoglobin dalam serum. Persamaan Regresi berarti setiap kenaikan kadar hemoglobin dalam serum 85,2 mg/dl, maka aktivitas enzim *Alanin aminotransferase* (ALT) akan menurun sebesar 1.245 mg/dl.

Hasil penelitian yang dilakukan berbeda dengan penelitian Koseglu,dkk (2011) yang berjudul "*Effect Of Hemolysis Interference On Routine Biochemistry Parameters*" , penelitian ini menyatakan bahwa hemoglobin bebas dapat meningkatkan aktivitas enzim *Alanin aminotransferase* (ALT) dan aktivitas enzim Gamma GT sebesar 1,2 kali pada konsentrasi 4500 mg/dl dalam plasma. Perbedaan dapat disebabkan karena perbedaan konsentrasi hemoglobin yaitu dengan konsentrasi 20

mg/dl, 270 mg/dl, 750 mg/dl, 1270 mg/dl dan 3340 mg/dl, sedangkan pada penelitian yang dilakukan menggunakan konsentrasi yang lebih rendah yaitu 0 mg/dl, 85,2 mg/dl, 170,4 mg/dl, 231 mg/dl, 340,8 mg/dl, 426,1 mg/dl. Sehingga perbedaan dapat terjadi karena semakin tinggi konsentrasi, hemolisis semakin pekat akan mempengaruhi pembacaan spektrofotometer. Perbedaan lain juga dapat disebabkan karena sampel yang digunakan berbeda yaitu pada penelitian ini menggunakan sampel plasma heparin, sedangkan peneliti menggunakan sampel serum sehingga dapat berpengaruh dengan enzim ALT. Penelitian Koseglu,dkk juga sesuai dengan penelitian Kahar (2017), yang menyimpulkan bahwa hemolisis dapat meningkatkan aktivitas enzim SGPT. Hal ini dikarenakan hemolisis terjadi karena pecahnya membran eritrosit mengalami lisis, sehingga enzim SGPT keluar ke cairan ekstraseluler.

Berbeda dengan penelitian sebelumnya, hasil penelitian yang dilakukan serupa dengan penelitian Robinson (2002) yang berjudul “*The Effect of Invitro Hemolysis on The Comprehensive Metabolic Panel*”, yang menyatakan bahwa hemolisis menghasilkan penurunan yang signifikan pada aktivitas enzim *Alanin aminotransferase* (ALT). Persamaan dalam penelitian ini adalah menggunakan hemolizat sehingga didapatkan hemoglobin murni untuk membuat konsentrasi hemoglobin dalam serum. Konsentrasi hemoglobin yang ditambahkan dalam serum yaitu 50 mg/dl, 100 mg/dl, 200 mg/dl, 400 mg/dl, dan 800 mg/dl, konsentrasi pada penelitian ini tidak jauh berbeda dengan penelitian yang dilakukan.

Penurunan ini kemungkinan disebabkan oleh penghambatan reaksi oleh hemoglobin dan juga pH darah. pH dalam darah akan sedikit menurun dalam keadaan hemolisis. Sebuah penurunan pH serum yang cukup besar dapat menyebabkan inaktivasi enzim (Caraway, 1962).

Hasil penelitian yang dilakukan berbeda dengan hipotesis dan penelitian-penelitian sebelumnya yang menyatakan adanya peningkatan hasil pemeriksaan aktivitas enzim *Alanin aminotransferase* (ALT) yang disebabkan karena pelepasan komponen intraseluler sel darah merah dengan tinggi analit dalam serum menghasilkan hasil yang tinggi palsu (Piyophipong, 2010). Sehingga, perlunya dilakukan penelitian kembali pada pemeriksaan aktivitas enzim *Alanin aminotransferase* (ALT) dan belum diketahui kadar minimal hemoglobin dalam serum yang tidak memberikan pengaruh terhadap hasil pemeriksaan yang masih dapat diterima untuk pemeriksaan aktivitas enzim *Alanin aminotransferase* (ALT).

Hemolisis sering terjadi dilapangan, sehingga sebaiknya jika terdapat sampel hemolisis dilakukan pengambilan sampel ulang. Sampel hemolisis tidak dapat diambil sampel ulang, maka diukur kadar hemoglobin dalam serum dan hasil pemeriksaan aktivitas enzim *Alanin aminotransferase* (ALT) yang kemudian dikonversikan berdasarkan nilai regresi sehingga didapatkan nilai aktivitas enzim *Alanin aminotransferase* (ALT) yang sebenarnya.

Kelemahan dalam penelitian ini adalah tidak melakukan pengukuran pH dalam keadaan hemolisis, pengukuran suhu dan kemungkinan terjadinya kesalahan acak seperti homogenisasi yang kurang sempurna, dan pemipetan yang kurang presisi. Kesulitan dalam penelitian ini adalah membuat serum yang mengandung hemoglobin dengan konsentrasi tertentu sehingga perlu dilakukan beberapa kali perhitungan dan percobaan.