

## **BAB IV**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **A. Hasil Penelitian**

Penelitian dengan judul “Uji Homogenitas dan Stabilitas Serum Sapi dengan penggunaan pengawet  $\text{NaN}_3$  2% yang disimpan pada suhu  $-20^\circ\text{C}$  sebagai alternatif serum kontrol terhadap kadar Total Protein” telah dilakukan pada tanggal 27 September – 06 Desember 2018. Penelitian ini menggunakan sisa darah sapi, lalu darah tersebut diolah menjadi serum, yang diambil dari rumah pemotongan hewan di Kelurahan Segoroyoso, Kecamatan Pleret, Kabupaten Bantul, Daerah Istimewa Yogyakarta. Sisa darah sapi yang dimaksud adalah darah sapi yang keluar pada waktu sapi disembelih, dibiarkan mengalir beberapa saat. Setelah aliran darah yang keluar dari pembuluh vena jugularis di sekitar area pangkal leher sapi tidak mengalir kencang, darah ditampung dengan tabung sentrifuge steril 15 ml.

Kriteria sapi yang digunakan adalah sapi dengan kondisi sehat berdasarkan pemeriksaan dokter hewan dari UPT Rumah Pemotongan Hewan Kabupaten Bantul. Darah sapi tersebut kemudian diproses menjadi serum, disterilisasi dengan menggunakan filter minizart, dan dibagikan (*aliquot*) kedalam vial dengan volume 1 ml, kemudian diuji homogenitas dan stabilitas kadar Total Protein serta disimpan selama 10 minggu pada suhu  $-20^\circ\text{C}$ . Kondisi serum sapi harus jernih, tidak keruh, tidak hemolisis, tidak ikterik dan tidak lipemik.

Pemeriksaan kadar Total Protein dilakukan sebelum penyimpanan (0 minggu) dan sesudah penyimpanan pada minggu ke-10 di Balai Laboratorium Kesehatan Yogyakarta. Pemeriksaan kadar total protein serum sapi dilakukan secara duplo menggunakan alat *Automated Chemical Analyzer Diasys Respons 920* dengan metode Biuret.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hasil homogenitas dan stabilitas serum sapi yang disimpan pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$  terhadap kadar total protein. Serum sapi dipilih karna mengandung analit atau zat yang mirip dengan manusia, selain itu serum sapi mudah didapatkan, tidak berisiko dari penyakit menular seperti HIV, HBV, dan HCV serta penggunaan serum hewan ini sangat baik sebagai bahan uji kualitas WHO (1986).

#### 1. Analisis Deskriptif

Data yang diperoleh adalah data primer dan berskala rasio, yaitu data dari hasil pemeriksaan kadar total protein dalam serum sapi sebelum dan sesudah penyimpanan selama 10 minggu pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$ , total 26 data (N=10 untuk masing-masing pemeriksaan dalam uji homogenitas dan N=3 untuk masing-masing pemeriksaan dalam uji stabilitas). Data yang diperoleh kemudian dianalisis secara deskriptif untuk menggambarkan hasil pemeriksaan kadar total protein menggunakan jumlah rerata (*mean*), nilai tinggi (*max*), nilai terendah (*min*), Simpangan baku (standar deviasi - SD), dan nilai koefisien variasi (CV) kadar Total Protein serum sapi *pre test* dan *pos test* selama 10 minggu, seperti yang ditunjukkan pada tabel berikut ini:

Tabel 3. Hasil Analisis Deskriptif Pemeriksaan Total Protein (g/dl) Serum Sapi Sebelum dan Sesudah Penyimpanan pada Suhu  $-20^{\circ}\text{C}$  selama 10 Minggu.

Perlakuan	N	Kadar Total Protein (g/dl) serum sapi				
		Nilai Minimum	Nilai Maksimum	Rerata	SD	CV (%)
0 Minggu	10 (duplo)	7,87	8,01	7,93	0,05	0,66
10 Minggu	3 (duplo)	7,54	7,85	7,55	0,2	2,24

Sumber : Data Primer Terolah, Desember 2018

Tabel 3 menunjukkan bahwa kadar total protein sebelum disimpan (0 minggu) mempunyai nilai rerata sebesar 7,93 g/dl. Rerata kadar total protein setelah disimpan selama 10 minggu sebesar 7,55 g/dl. Berdasarkan tabel 3 dapat diketahui selisih kadar total protein sesudah penyimpanan pada minggu ke-0 dan minggu ke-10 seperti yang ditunjukkan pada tabel 4.

Tabel 4. Selisih Hasil Pemeriksaan Total Protein (g/dl) Serum Sapi Sebelum Penyimpanan dan Sesudah Penyimpanan pada Suhu  $-20^{\circ}\text{C}$  selama 10 Minggu.

	Selisih Rerata (g/dl)	Presentase Selisih (%)
a – b	0,18	2,3%

Sumber : Data Primer Terolah, Desember 2018

Keterangan :

- a : Rerata kadar Total Protein serum sapi 0 minggu
- b : Rerata kadar Total Protein serum sapi 10 minggu

Dapat dikatakan bahwa presentase selisih kadar Total Protein sebelum dan sesudah penyimpanan selama 10 minggu pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$  adalah 2,3%

## 2. Uji Homogenitas dan Uji Stabilitas

### a. Uji Homogenitas

Data yang diperoleh Sampel serum sapi dibagi dalam 100 vial dan secara acak diambil 10 vial yaitu nomor 3, 8, 13, 18, 36, 43, 56, 62, 73, dan 85. Kesepuluh vial tersebut kemudian dibagi dua, masing-masing vial dilakukan pemeriksaan kadar total protein (duplo). Pengujian dilakukan sesegera mungkin setelah dikemas dalam vial. Hasil uji homogenitas kadar total protein serum sapi dan diperhitungannya terdapat pada tabel 5.

Tabel 5. Data Uji Homognitas dan Perhitungan Kadar Total Protein Serum Sapi (Rumus sesuai dengan ISO 13528:2005).

No.	Kode sampel	Hasil Pemeriksaan Kadar Total Protein (g/dl)		Xt	Xt-Xr	$\frac{(Xt-Xr)^2}{2}$	Wt	Wt <sup>2</sup>
		A	B					
		1	3					
2	8	7,87	7,88	7,87500	-0,05500	0,00302	0,01000	0,00010
3	13	7,96	7,97	7,96500	0,03500	0,00123	0,01000	0,00010
4	18	7,88	7,89	7,88500	-0,04500	0,00202	0,01000	0,00010
5	36	7,97	7,99	7,98000	0,05000	0,00250	0,02000	0,00040
6	43	7,84	7,88	7,86000	-0,07000	0,00490	0,04000	0,00160
7	56	7,94	7,95	7,94500	0,01500	0,00023	0,01000	0,00010
8	62	7,92	7,92	7,92000	-0,01000	0,00010	0,00000	0,00000
9	73	7,97	7,9	7,93500	0,00500	0,00003	0,07000	0,00490
10	85	8,01	8,03	8,02000	0,09000	0,00810	0,02000	0,00040
			Σ	79,30000				
			Xr	7,93000				
					Σ	0,02235	Σ	0,00780
					Sx <sup>2</sup> =	0,00248	Sw <sup>2</sup> =	0,00039
					Sx =	0,04983	Sw <sup>2</sup> /2 =	0,00019
						Sx <sup>2</sup> - (Sw <sup>2</sup> /2)		0,00229
							Ss =	0,04784

Sumber : Data Primer Terolah, Desember 2018

## Keterangan :

- $X_t$  : Rerata kadar total protein vial A dan B (g/dl)  
 $X_r$  : Rerata total kadar total protein vial A dan B sampel ke-1 hingga sampel ke-10 (g/dl)  
 $W_t$  : Selisih kadar total protein vial A dan B yang dimutlakkan (g/dl)  
 $\Sigma$  : Total data  
 $S_x$  : Standar deviasi rata-rata sampel  
 $S_w$  : Standar deviasi *within samples*  
 $S_s$  : Standar deviasi antar sampel

Tabel 6. Hasil CV Horwitz Uji Homogenitas

CV Horwitz	=	$2^{1-0,5\log C}$
Rerata konsentrasi	=	7,93000
Satuan	=	persen (perseratus)
Fraksi konsentrasi (C)	=	0,0793
log C	=	-1,10073
0,5 log C	=	-0,55036
1-0,5 Log C	=	1,55036
$2^{1-0,5\log C}$	=	2,92891
$CV_{Horwitz}$	=	2,92891
$0,3\sigma$ (0,3 x CV Horwitz)	=	<b>0,87867</b>

Berdasarkan ISO 13528:2005 sampel serum sapi dinyatakan homogen, jika  $S_s \leq 0,3 \sigma$ , dimana  $\sigma$  adalah standar deviasi untuk asesmen profisiensi (SDPA),  $\sigma$  dapat ditetapkan melalui  $CV_{Horwitz}$  sehingga diperoleh harga  $CV_{Horwitz} = 2,92891$ . Harga  $0,3 \sigma = 0,3 \times 2,92891 = 0,87867$ . Pada tabel 5 hasil evaluasi data uji homogenitas kadar total protein diperoleh harga  $S_s = 0,04784$ , maka sampel dinyatakan homogen karena telah memenuhi kriteria  $S_s \leq 0,3 \sigma$  yaitu  $0,04784 \leq 0,87867$ .

b. Uji Stabilitas

Data yang diperoleh adalah data primer dan berskala rasio, yaitu data hasil pemeriksaan uji stabilitas kadar total protein serum sapi yang disimpan selama 10 minggu pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$ . Uji stabilitas diperlukan untuk menunjukkan bahwa sampel uji tidak mengalami perubahan kadar secara signifikan. Uji stabilitas dilakukan dengan cara diambil secara acak diambil 3 vial yaitu nomor 35, 68, dan 92. Ketiga vial tersebut kemudian dibagi dua, masing-masing vial dilakukan pemeriksaan kadar total protein (duplo). Pengujian dilakukan pada penyimpanan minggu ke-10.

Hasil uji stabilitas kadar total protein serum sapi dan perhitungannya terdapat pada tabel 7.

Tabel 7. Data Uji Stabilitas dan Perhitungan Kadar Total Protein Serum Sapi (Rumus sesuai dengan ISO 13528:2005).

No	Kode Sampel	Hasil Pemeriksaan Kadar Total Protein (g/dl)		Yt
		A	B	
1	35	7,84	7,85	7,85
2	68	7,84	7,85	7,85
3	92	7,54	7,55	7,55
		Yr		7,75

Sumber : Data Primer Terolah, Desember 2018

Keterangan :

Yt : Rerata kadar protein vial A dan B (g/dl)

Yr : Rerata total kadar protein vial A dan B, dari Sampel ke-1 hingga sampel ke-3 (g/dl)

Persyaratan Stabilitas dalam ISO 13528:2005 menyatakan bahwa sampel dinyatakan stabil apabila  $|X_r - Y_r| \leq 0,3 \sigma$ . Berdasarkan data uji homogenitas kadar total protein serum sapi (Tabel 5) diperoleh  $X_r = 7,93000$  dan data uji stabilitas kadar total protein serum sapi (Tabel 7) diperoleh  $Y_r = 7,75$ , sehingga  $|X_r - Y_r| = |7,93000 - 7,75| = 0,19$ . Harga  $0,3 \sigma = 0,87867$ , maka sampel dinyatakan stabil karena memenuhi kriteria  $|X_r - Y_r| \leq 0,3 \sigma$  yaitu  $0,19 \leq 0,87867$ .

## B. Pembahasan

Pemantapan mutu internal sebagai penanggungjawab laboratorium, perlu menjamin bahwa hasil pemeriksaan valid dan dapat dipergunakan oleh klinisi untuk mengambil keputusan klinis. Untuk dapat memberikan jaminan itu, perlu melakukan suatu upaya sistemik yang dinamakan kontrol kualitas (*quality control/QC*). Dengan melakukan kontrol kualitas akan mampu mendeteksi kesalahan analitik, terutama kesalahan-kesalahan yang dapat mempengaruhi kemanfaatan klinis hasil pemeriksaan laboratorium (Sukorini dkk, 2010).

Protein adalah biomolekul yang sesungguhnya karena senyawa ini menjalankan berbagai fungsi dasar kehidupan, antara lain protein berkontraksi melakukan gerak dan menjalankan berbagai proses metabolisme dalam bentuk enzim. Penetapan protein dalam serum biasanya mengukur protein total, dan albumin atau globulin (Soewoto dkk, 2001). Pengukuran protein total berguna dalam mengidentifikasi berbagai gangguan pada tubuh. Sampel untuk pemeriksaan total protein adalah serum atau plasma (Insert kit, 2016).

Bahan kontrol adalah bahan yang digunakan untuk memantau ketepatan suatu pemeriksaan di laboratorium atau untuk mengawasi kualitas hasil pemeriksaan sehari-hari (Depkes, 2013). Syarat dari bahan kontrol diantaranya adalah memiliki komposisi analit yang sama atau mirip dengan spesimen. Syarat lainnya yaitu komponen yang terkandung didalam bahan kontrol harus stabil, artinya selama masa penyimpanan bahan kontrol tidak boleh mengalami perubahan.

Serum kontrol harus stabil dan dapat diperiksa dalam jangka waktu yang lama dan agar dapat menilai kinerja suatu laboratorium, termasuk kualitas alat dan reagensia. Serum kontrol komersial disimpan pada lemari pendingin atau pembeku untuk penyimpanan sampel hendaknya mempunyai suhu  $-20^{\circ}\text{C}$ . Suhu daerah penyimpanan hendaknya secara tetap dicek dan didokumentasikan. Beberapa cara penyimpanan bahan kontrol antara lain disimpan dalam lemari es pada suhu  $2-8^{\circ}\text{C}$  atau disimpan pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$  dan dijaga jangan sampai terjadi beku ulang (Handayati, dkk., 2014).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hasil uji homogenitas dan stabilitas serum sapi dengan penggunaan pengawet  $\text{NaN}_3$  2% yang disimpan pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$  sebagai alternatif serum kontrol terhadap kadar total protein. Serum sapi dipilih karena mengandung analit atau zat yang mirip dengan manusia, selain itu serum sapi tidak beresiko dari penyakit menular seperti HIV, HBV dan HCV serta penggunaan serum hewan ini sangat baik sebagai bahan uji kualitas WHO (1986). Serum yang dipakai harus memenuhi syarat yaitu tidak boleh ikterik, hemolisis atau lipemik (Kemenkes, 2013).

Varitas sapi yang disembeli di rumah potong hewan di desa segoroyoso adalah sapi simental, sapi limousine, sapi PO (Peranakan Ongole), ada juga sapi peranakan fries holland, dan cross limpo. Penelitian ini menggunakan varitas sapi cross limpo. Serta sapi dengan kondisi sehat berdasarkan pemeriksaan dokter hewan dari UPT rumah pemotongan hewan Kabupaten Bantul.

Tempat pengambilan darah sapi dilakukan di rumah pemotongan hewan di desa Segoroyoso, Kecamatan Imogiri, Kabupaten Bantul. Proses pengumpulan darah sapi yaitu, darah sapi yang keluar pada waktu disembelih dibiarkan mengalir beberapa saat. Setelah aliran darah yang keluar dari pembuluh vena leher tidak kencang, ditampung dengan tabung sentrifus steril 15 ml kemudian tabung ditutup. Darah sapi yang sudah di tampung dimasukkan kedalam cooling box dan dibawa ke Kampus Jurusan Analisis Kesehatan yang akan diolah di Laboratorium Imunologi. Jarak dari rumah potong hewan berkisar 12 km. Waktu yang di tempuh dikondisikan dengan padatnya lalulintas dan jarak yang ditempuh cukup jauh sehingga waktu pengambilan sisa darah sapi yaitu sekitar 25-45 menit.

Berdasarkan ISO 13528:2005 sampel serum sapi dinyatakan homogen, jika  $S_s \leq 0,3 \sigma$ , dimana  $\sigma$  adalah standar deviasi untuk asesmen profisiensi (SDPA),  $\sigma$  dapat ditetapkan melalui  $CV_{Horwitz}$ .  $CV_{Horwitz}$  dapat dicari menggunakan rumus  $CV_{Horwitz} = 2^{(1-0,5 \log C)}$ . Konsentrasi didapat dari rerata total selisih kadar total protein vial A dan B sampel ke-1 hingga sampel ke-10. Konsentrasi yang didapat adalah 7,93000 (g/dl) dan dilakukan perhitungan

dengan rumus tersebut sehingga didapatkan  $CV_{\text{Horwitz}}$  adalah 2,92891. Berdasarkan data ini maka didapatkan nilai  $0,3 \sigma$  adalah 0,87867, maka sampel dinyatakan homogen karena telah memenuhi kriteria  $S_s \leq 0,3 \sigma$  yaitu  $0,04784 \leq 0,87867$ .

Uji stabilitas sangat penting dalam penelitian ini untuk menunjukkan bahwa sampel uji (serum sapi) tidak akan berubah secara signifikan selama penyimpanan 10 minggu dalam suhu  $-20^\circ\text{C}$ . Persyaratan dalam ISO 13528:2005 menyatakan bahwa sampel dinyatakan stabil apabila  $|X_r - Y_r| \leq 0,3 \sigma$ . Berdasarkan data uji homogenitas kadar total protein serum sapi (Tabel 5) diperoleh  $X_r = 7,93000$  dan data uji stabilitas kadar total protein serum sapi (Tabel 7) diperoleh  $Y_r = 7,75$ , sehingga  $|X_r - Y_r| = |7,93000 - 7,75| = 0,19$ . Kriteria keberterimaan serum kontrol dinyatakan stabil, jika  $|X_r - Y_r| \leq 0,3 \sigma$ . Dilakukan pula perhitungan dengan rumus ISO 13528:2005 sehingga harga  $0,3 \sigma = 0,87867$ , maka sampel dinyatakan stabil karena memenuhi kriteria  $|X_r - Y_r| \leq 0,3 \sigma$  yaitu  $0,19 \leq 0,87867$ .

Untuk penentuan uji kualitas tidak hanya diselesaikan dengan uji statistik tetapi dapat juga menggunakan uji Homogenitas dan Stabilitas sesuai dengan rumus ISO 13528:2005. Dimana sampel serum sapi dinyatakan homogen, jika  $S_s \leq 0,3 \sigma$ . Persyaratan dalam ISO 13528:2005 menyatakan bahwa sampel dinyatakan stabil apabila  $|X_r - Y_r| \leq 0,3 \sigma$ .

Hasil penelitian ini sejalan dengan jurnal WHO (1986) yang berjudul "Persiapan Cairan Serum yang Stabil untuk Kontrol Kualitas Kimia Klinik" yang menyatakan bahwa sapi dipilih karena mengandung analit atau zat yang

mirip dengan manusia, selain itu serum sapi tidak beresiko dari penyakit menular seperti HIV, HBV dan HCV serta penggunaan serum hewan ini sangat baik sebagai bahan uji kualitas.

Penelitian tentang bahan kontrol dari serum sapi pernah dilakukan oleh Wirdulutfi (2012), dengan judul “Pengaruh Lama Penyimpanan Serum *Control* Sapi pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$  terhadap Kadar Protein Total”. Hasil penelitian dari Wirdulutfi (2012), menyatakan bahwa tidak ada pengaruh lama penyimpanan serum *control* sapi pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$  terhadap kadar protein total.

Keuntungan dari penggunaan serum sapi sebagai bahan kontrol adalah mudah didapatkan, harga lebih murah (ekonomis) dibandingkan serum kontrol komersial, dan bebas dari penyakit menular seperti HIV, HBV, dan HCV sesuai rekomendasi WHO. Dengan penyimpanan dan penanganan yang tepat, serum sapi dapat digunakan sebagai alternatif serum kontrol komersial untuk kontrol kualitas.

Penelitian ini masih menggunakan waktu penyimpanan 10 minggu yaitu waktu yang dibutuhkan untuk melaksanakan *quality control* pada laboratorium klinik. Ada dua tahap, yaitu periode pendahuluan dan periode kontrol sehingga bahan kontrol harus stabil selama periode tersebut. Sedangkan, bahan kontrol harus tetap stabil dalam jangka waktu penyimpanan minimal 3 bulan. Oleh karena itu, penggunaan serum sapi sebagai alternatif bahan kontrol perlu diteliti lebih lanjut untuk waktu penyimpanan yang lebih lama.

Beberapa faktor yang menjadi kendala dalam penelitian ini adalah waktu pengambilan sampel pada malam hari sehingga terjadi waktu penundaan untuk

uji homogenitas yang idealnya dilakukan sesegera mungkin setelah menjadi serum, suhu *freezer* almari es yang masih manual atau kurang stabil sehingga diperlukan pemantauan suhu secara berkala. Juga ketika mendapatkan sampel, harus benar-benar terjaga dari lisis.

Tindak lanjut dari penelitian ini, serum sapi dapat digunakan sebagai bahan kontrol pemeriksaan laboratorium pengganti bahan kontrol komersial sehingga dapat dilakukan pembuatan bahan kontrol dari darah sapi yang telah memenuhi syarat homogen dan stabil