

PENGARUH VARIASI LAMA PENYIMPANAN REAGEN ENZIM 1a TERHADAP HASIL PEMERIKSAAN UREUM DARAH METODE BERTHELOT

¹Rahmi Nur Fahisyah, ²Nurlia Naim, ³Zulfian Armah
^{1,2,3}Jurusan Analisis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Makassar

Koresponden: nurlianaim0416@gmail.com

ABSTRAK

Pemeriksaan ureum dengan menggunakan reagen enzim 1a merupakan uji yang sering digunakan oleh para klinisi, teknik laboratorium sangat berpengaruh terhadap hasil pemeriksaan ureum, namun kesalahan yang biasa dilakukan oleh para klinisi yaitu sering membuat reagen yang berlebihan sehingga mengalami penyimpanan. Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Kimia Klinik Analisis Kesehatan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh lama penyimpanan reagen enzim 1a terhadap hasil pemeriksaan ureum darah metode berthelot. Jenis penelitian ini bersifat eksperimen semu dimana sampel pemeriksaan yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 3 sampel. Data hasil penelitian dianalisa dengan menggunakan uji analysis of variance (Anova). Setelah dilakukan penelitian didapatkan hasil bahwa $F_{hitung} (44,49) > F_{tabel} (5,14)$ pada $\alpha 0.05$ berarti H_0 ditolak dan H_a diterima, yang menunjukkan bahwa ada pengaruh yang bermakna antara lama penyimpanan reagen enzim 1a terhadap hasil pemeriksaan ureum darah metode berthelot, sehingga dapat ditarik kesimpulan bahwa lama penyimpanan reagen enzim 1a pada suhu ruangan berpengaruh terhadap hasil pemeriksaan kadar ureum.

Kata Kunci : Lama Penyimpananan, Metode Berthelod,, Reagen Enzim 1a, Ureum

ABSTRACT

Examination of urea by using enzyme reagent 1a is a test that is often used by clinicians, laboratory techniques are very influential on the results of urea examination, but the usual mistake made by the clinician is often making excessive reagents so storage. This research was conducted in Chemistry Laboratory of Clinical Analyst Health. The purpose of this study is to determine the effect of storage duration of enzyme 1a reagent on blood ureum test of berthelot method. This type of research is a quasi experiment where the sample examination used in this study as many as 3 samples. The data of the research were analyzed by using analysis of variance (ANOVA). After the research, it was found that $F_{count} (44,49) > F_{table} (5,14)$ at $\alpha 0.05$ means H_0 rejected and H_a accepted, indicating that there is a significant influence between the storage period of enzyme reagent 1a to the result of blood ureal examination of berthelot method, so it can be concluded that the duration of storage

of enzyme 1a reagents at room temperature has an effect on the result of urea concentration

Keywords : *Berthelod Method, Long Storage, Reagen Enzim 1a, Ureum*

PENDAHULUAN

Ginjal termasuk salah satu organ tubuh manusia yang vital. Organ ini berperan penting dalam metabolisme tubuh seperti fungsi ekskresi, keseimbangan air dan elektrolit, serta endokrin. Fungsi ginjal secara keseluruhan didasarkan oleh fungsi nefron dan gangguan fungsi ginjal disebabkan oleh menurunnya nefron. Penyakit ginjal sering disertai penyakit lain yang mendasarinya seperti diabetes melitus, hipertensi dislipidemia, dan lain-lain. Gejala gangguan ginjal stadium dini cenderung ringan, sehingga sulit didiagnosis hanya dengan pemeriksaan klinis. Pemeriksaan laboratorium dapat mengidentifikasi gangguan fungsi ginjal lebih awal. Pemeriksaan antara lain kadar ureum, hal ini dapat membantu dokter klinisi dalam mencegah dan tatalaksana lebih awal untuk mencegah gangguan ginjal menjadi gagal ginjal (Verdiansah, 2016)

Ureum merupakan hasil akhir metabolisme protein. Berasal dari asam amino yang telah dipindah amoniannya di dalam hati dan mencapai ginjal, dan diekskresikan rata-rata 30 gram sehari. Kadar ureum darah yang normal adalah 30 mg setiap 100 cc darah, tetapi hal ini tergantung dari jumlah normal protein yang dimakan dan fungsi hati dalam pembentukan ureum (Andriyani, R. dkk 2015).

Di beberapa laboratorium rumah sakit atau laboratorium klinik biasa menggunakan reagen kerja (campur), hasil dari preparasi reagen dalam skala besar ini, diperuntukkan atau dilakukan agar dalam pemeriksaan kimia darah didapatkan pelaksanaan kerja yang cepat, efisien dan efektif.

Pada pemeriksaan di Laboratorium ada beberapa faktor kesalahan yang mungkin terjadi yang dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan, diantaranya faktor reagen, alat, metode, SDM, dan sampel (Depkes, RI 2008)

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh lama penyimpanan reagen enzim 1a terhadap hasil pemeriksaan ureum darah metode Berthelot di Laboratorium Analisis Kesehatan Poltekkes Makassar.

METODE

Desain, tempat dan waktu

Jenis penelitian ini adalah eksperimen semu (*quasy experiment*) yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh variasi lama penyimpanan reagen enzim 1a terhadap hasil pemeriksaan ureum metode Berthelot. Penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia Klinik jurusan Analisis Kesehatan Politeknik Kesehatan Makassar. Penelitian ini telah dilakukan di Laboratorium Analisis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Makassar bulan Februari - Maret 2018

Bahan dan Alat

Spektrofotometer 5010, Klinipet 10 µl, 100 µl, 1000 µl, Rak tabung reaksi, Tabung reaksi, Tip biru dan kuning, Timer, Sentrifus, Tissue

Bahan : Serum normal

Reagen : Urea *liquicolor* kit

Persiapan reagen :

RGT2 dan STD siap untuk digunakan
 Reagen enzim 1a disiapkan dengan mencampur isi botol ENZ dengan isi botol RGT1, misalnya

1 ml ENZ + 100 ml RGT1
 atau

10 ml ENZ + 1000 ml RGT1

Prosedur Kerja

Prosedur pemeriksaan kadar ureum :

Disiapkan alat dan bahan yang bersih dan kering, disusun tabung reaksi, masing-masing untuk tabung sampel, standar, blanko dan kontrol, dipipet reagen enzim 1a, masing-masing 1000 µl dan dimasukkan kedalam tabung sampel, standar, dan blanko, untuk tabung sampel dipipet serum sebanyak 10 µl dan standar 10 µl dimasukkan pada tabung standar, dicampur dan inkubasi selama 5 menit pada suhu 20 - 25°C, ditambahkan masing-masing

reagen 2 (RGT2) 1000 µl pada tabung sampel, standar, dan blanko, dicampur dan diinkubasi pada suhu 20 - 25°C selama 10 menit, dibaca pada alat spektrofotometer 5010 dengan panjang gelombang 578 nm. Dari hasil pemeriksaan ureum dilakukan perhitungan

Ket: faktor urea Serum/plasma = 80 mg/dl atau 13,3 mmol/l

Nilai normal = 10 – 50 mg/dl atau 1,7 – 8,3 mmol/l

Pengolahan dan analisis data

Data yang diperoleh akan dilakukan dengan perhitungan Uji Statistik dengan menggunakan *analysis of variance* (Anova).

HASIL

Berdasarkan hasil penelitian yang dilaksanakan mulai tanggal 12-26 Februari 2018 di Laboratorium Kimia Klinik Analisis Kesehatan Makassar tentang pengaruh variasi lama penyimpanan reagen enzim 1a terhadap hasil pemeriksaan ureum darah metode Berthelot dengan jumlah 3 sampel, maka diperoleh hasil sebagai berikut :

Tabel 1 : Hasil Pemeriksaan Ureum yang dilakukan

Kode	Jumlah Replikasi	Hasil Pemeriksaan Ureum Darah (mg/dl)		
		Segera	7 hari	14 hari
A	1	24	25	240
	2		27	234
	3		26	275
	4		28	233
	5		30	257
	6		27	243
	7		29	283

	8		27	242
	9		25	235
	10		27	251
	11		26	273
B	1	33	33	134
	2		35	141
	3		32	187
	4		35	183
	5		35	189
	6		33	171
	7		35	168
	8		32	173
	9		34	152
	10		32	143
	11		35	152
C	1	32	38	201
	2		33	173
	3		40	192
	4		41	217
	5		42	207
	6		42	225
	7		42	180
	8		38	208
	9		38	188
	10		40	182
	11		42	225

Berdasarkan **tabel 1** didapatkan bahwa rata-rata kadar ureum darah mengalami kenaikan yang signifikan yaitu pada 14 hari penyimpanan reagen enzim

Tabel 2 : Hasil Analisis Uji One-Way Anova Data Hasil Pemeriksaan

Perlakuan	N	Mean (X)	Std.deviation (SD)		
				F _{hitung}	F _{tabel}
Segera	3	29.67	4.933		
7 hari	3	33.67	6.506	44,48	5,14
14 hari	3	204.67	44.185		
Total	9	89.33	89.387		

Berdasarkan hasil uji One-Way Anova menunjukkan bahwa nilai $F_{hitung}(44,48) > F_{tabel}(5,14)$. Berarti

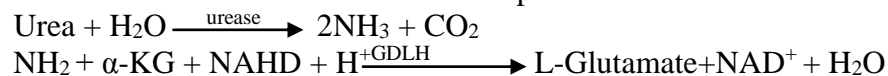
H_0 ditolak dan H_a diterima, yang menunjukkan ada pengaruh yang bermakna antara lama penyimpanan

reagen enzim Ia terhadap hasil pemeriksaan ureum darah metode berthelot.

PEMBAHASAN

Pemeriksaan ureum merupakan pemeriksaan fungsi ginjal dengan test urea secara kinetika enzimatik dan menginterpretasikan hasil pemeriksaan yang diperoleh. Ureum dapat dijadikan salah satu parameter kerusakan ginjal karena merupakan hasil akhir metabolisme protein didalam hati, dimana ammonia bereaksi dengan karbon dioksida (CO₂) hasil respirasi sel dalam tubuh akan menghasilkan ureum yang mencapai ginjal dan diekskresi rata-rata 30 gram sehari.

Prinsip pemeriksaan ureum dengan metode kolorimetri adalah urea dihidrolisis oleh urease menjadi ammonia dan karbon dioksida.



Pada pemeriksaan ureum metode yang sering digunakan oleh laboratorium klinik adalah metode berdasarkan reaksi enzimatik. Suatu reaksi enzimatik dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti pH atau keasaman, konsentrasi enzim, substrat dan kofaktor, inhibitor enzim.

Pada reagen kerja terdapat substrat. Dimana lama penyimpanan akan mempengaruhi bentuk substrat, sehingga pada proses pencampuran antara reagen kerja dan sampel serum tidak terjadi pengikatan yang sempurna antara substrat dan enzim. Ketidakefektifan reaksi antara reagen dan serum berakibat

Kemudian ammonia bereaksi dengan alkali hipoklorit dan sodium salisilat dengan adanya sodium nitroprusid membentuk warna kompleks berwarna hijau, intensitas warna yang terbentuk sebanding dengan kadar ureum dalam sampel, dan dibaca pada spektrofotometer 5010 dengan panjang gelombang 546 nm.

Hasil uji One-Way Anova terhadap pengaruh variasi lama penyimpanan reagen enzim Ia terhadap hasil pemeriksaan ureum darah metode berthelot menunjukkan bahwa nilai F_{hitung}(44,48) > F_{tabel}(5,14). Berarti H₀ ditolak dan H_a diterima, yang menunjukkan ada pengaruh yang bermakna antara lama penyimpanan reagen enzim Ia terhadap hasil pemeriksaan ureum darah metode berthelot.

Adapun reaksi yang terjadi pada pemeriksaan ureum

meningkatkan hasil pemeriksaan ureum dari hari kehari.

Dilihat dari faktor-faktor yang mempengaruhi kerja enzim diatas, maka besar kemungkinan terdapat peningkatan atau penurunan hasil, karena pada saat penelitian ini yang diukur hanya suhu dan lama penyimpanan reagen.

Suhu mempengaruhi aktivitas katalis enzim. Diluar suhu optimum aktivitas enzim menjadi tidak maksimal. Bila suhu terlalu rendah, enzim menjadi tidak aktif, karena tidak terjadi benturan antara molekul enzim dengan substrat. Sedangkan bila suhu terlalu tinggi, dimana benturan yang terjadi semakin banyak maka struktur

dari enzim akan terganggu sehingga enzim akan mengalami denaturasi, atau dapat dikatakan enzim akan kehilangan sifat alamiahnya.

pH, umumnya enzim efektifitas maksimum pada pH optimum, yang lazimnya berkisar 6,5 – 7,0. Pada pH yang terlalu tinggi atau terlalu rendah umumnya enzim menjadi non aktif secara irreversibel karena menjadi denaturasi protein.

Konsentrasi enzim, seperti pada katalis lain kecepatan suatu reaksi yang menggunakan enzim tergantung pada konsentrasi enzim tersebut. Pada suatu konsentrasi substrat tertentu, kecepatan reaksi bertambah dengan bertambahnya konsentrasi enzim.

Konsentrasi substrat, hasil eksperimen menunjukkan bahwa dengan konsentrasi substrat akan menaikkan kecepatan reaksi. Akan tetapi, pada batas tertentu tidak terjadi kecepatan reaksi, walaupun konsentrasi substrat diperbesar.

Zat-zat penghambat, hambatan atau inhibisi suatu reaksi akan berpengaruh terhadap penggabungan substrat pada bagian aktif yang mengalami hambatan. Suatu enzim hanya dapat bekerja spesifik pada suatu substrat untuk suatu perubahan tertentu (Kurniawan, F. B. 2014).

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat ditarik kesimpulan bahwa lama penyimpanan reagen enzim Ia pada suhu ruangan berpengaruh terhadap hasil pemeriksaan kadar ureum dalam serum dengan menggunakan metode Berthelot dan alat fotometer dimana nilai F_{hitung}

$(44,48) > F_{tabel} (5,14)$. Berarti H_0 ditolak dan H_a diterima.

SARAN

Untuk petugas laboratorium perlu diperhatikan reagen kerja yang digunakan, serta lama penyimpanan reagen kerja tidak boleh disimpan terlalu lama karna akan mengalami kerusakan pada dan kesalahan terhadap hasil pemeriksaan yang dikeluarkan oleh petugas laboratorium.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pihak Analisis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Makassar.

DAFTAR PUSTAKA

- Alam, S., & Hadibroto, I. 2007. *Gagal Ginjal*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.
- Andriyani, R., Triana, A., & Juliarti, W. 2015. *Biologi Reproduksi dan Perkembangan*. Yogyakarta: Deepublish.
- Ariffriana, D., Taher, E., & Wahidah, N. I. 2016. *Kimia Klinik*. Jakarta: Buku Kedokteran.
- Alfiyani, R. 2017. *Jurnal Praktikum Analitik III Spektrofotometer UV-Vis*. (http://www.academia.edu/32506712/JURNAL_PRAKTIKU_M_ANALITIK_III_SPEKTROSKOPI_UV-VIS, diakses 02 Desember 2017).
- Baradero, M., Dayrit, M. W., & Siswadi, Y. 2008. *Klien Gangguan Ginjal*. Jakarta: Buku Kedokteran.
- Bashar, L. Y. 2012. *Makalah Instrumentasi Spektrofotometer*.

- (<http://www.atlm.web.id/2013/04/makalah-spektrofotometer.html>, diakses 04 Desember 2017).
- Bastiansyah, E. 2008. *Panduan Lengkap Membaca Hasil Tes Kesehatan*. Jakarta: Penebar Plus.
- Depkes RI, 2008. *Pedoman Praktik Laboratorium Kesehatan Yang Benar (Good Laboratory Practice)*. Jakarta: Departemen Kesehatan.
- Elsa. 2016. *Jenis-jenis spektrofotometer dan fungsinya*. (<https://news.labsatu.com/jenis-jenis-spektrofotometer-dan-fungsinya/>, diakses 06 Desember 2017).
- Gandjar , I. G., & Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Hartono, R. 2018. *Penuntun Statistik*. Politeknik Kesehatan Makassar Jurusan Analisis Kesehatan.
- Hurustiaty, dan Mawar .2013. Pengaruh Lama Penyimpanan Reagen Kerja Terhadap Hasil Penetapan Kadar Kreatinin Metode Jaffe Tanpa Deprotonisasi. Makassar: Jurnal Media Analisis Kesehatan.
- Kurniawan, F. B. 2014. *Kimia Klinik*. Jakarta: Buku Kedokteran.
- Kalma, Herman, Naim, N., & Bakhri, S. 2015. *Panduan Penulisan Skripsi*. Makassar: Politeknik Kesehatan Makassar Jurusan Analisis Kesehatan.
- Laksana, R. P. 2016. *Petunjuk Teknis Pengoperasian Alat Spektrofotometer UV-Vis*. (www.biomaterial.lipi.go.id/sigap/wp.../Instruksi-Kerja-spektrofotometer-uv-vis.pdf, diakses 04 Desember 2017)
- Nanda, N. T. 2015. *Analisa Kadar Ureum Dalam Serum Penderita TB Paru*. ([http://103.15.241.30/opac/uploaded_files/dokumen isi/Monograf/12034119_001.pdf](http://103.15.241.30/opac/uploaded_files/dokumen%20isi/Monograf/12034119_001.pdf), diakses 30 November 2017).
- Sloane, E. 2012. *Anatomi dan Fisiologi untuk Pemula*. Jakarta: Buku Kedokteran.
- Verdiansah. 2016. *Pemeriksaan Fungsi Ginjal*. (www.cdkjournal.com/index.php/CDK/article/download/25/23, diakses 06 Desember 2017)