

KARYA TULIS ILMIAH



**KADAR KOLINESTERASE PADA VARIASI SUHU DAN
LAMA PENYIMPANAN**

Disusun oleh :

ANISA KUSUMANINGSIH

201703019

PROGRAM DIII TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS

STIKes MITRA KELUARGA

BEKASI

2020



**KADAR KOLINESTERASE PADA VARIASI SUHU
DAN LAMA PENYIMPANAN**

Karya Tulis Ilmiah

Karya Tulis untuk memenuhi salah satu syarat
memperoleh gelar Ahli Madya Teknologi Laboratorium Medis

Disusun oleh :

ANISA KUSUMANINGSIH

201703019

PROGRAM DIII TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS

STIKes MITRA KELUARGA

BEKASI

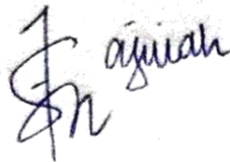
2020

LEMBAR PERSETUJUAN

Karya Tulis Ilmiah dengan judul **Kadar Kolinesterase pada Variasi Suhu dan Lama Penyimpanan** yang disusun oleh Anisa Kusumaningsih (201703019) sudah layak untuk diujikan dalam Sidang Karya Tulis Ilmiah dihadapan Tim Penguji pada tanggal 8 Mei 2020.

Bekasi, 17 April 2020

Pembimbing Karya Tulis Ilmiah



(Siti Nurfajriah, S.Pd., M.Si)

NIDN. 0324128503

Mengetahui,

Koordinator Program Studi DIII Teknologi Laboratorium Medis
STIKes Mitra Keluarga



(Siti Nurfajriah, S.Pd., M.Si)

NIDN. 0324128503

LEMBAR PENGESAHAN

Karya Tulis Ilmiah dengan judul **Kadar Kolinesterase pada Variasi Suhu dan Lama Penyimpanan** yang disusun oleh Anisa Kusumaningsih (201703019) telah diujikan dan dinyatakan **LULUS** dalam Ujian Sidang dihadapan Tim Penguji pada tanggal 8 Mei 2020

Bekasi, 8 Mei 2020

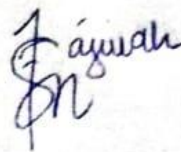
Penguji



(Neni Arshita, S.Si., M. Biomed)

NIDN.0308129201

Mengetahui, Pembimbing



(Siti Nurfajriah, S.Pd., M.Si)

NIDN. 0324128503

PERNYATAAN ORISINILITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam Karya Tulis Ilmiah yang saya buat untuk diajukan memperoleh gelar Ahli Madya Teknologi Laboratorium Medis di suatu Perguruan Tinggi, sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Bekasi, 8 Mei 2020



Anisa Kusumaningsih

201703019

KADAR KOLINESTERASE PADA VARIASI SUHU DAN LAMA PENYIMPANAN

Oleh :
Anisa Kusumaningsih
201703019

Abstrak

Kolinesterase adalah enzim yang menghidrolisis asetilkolin menjadi kolin dan asam asetat. Jenis spesimen yang dapat digunakan dalam pemeriksaan enzim kolinesterase adalah serum, plasma, dan darah utuh (*whole blood*). Serum merupakan jenis spesimen yang baik karena dapat stabil dalam beberapa minggu dengan suhu yang sesuai. Penundaan pemeriksaan kolinesterase dapat terjadi di dalam laboratorium karena alat yang akan digunakan belum siap atau *warming up*, alat belum terkalibrasi, dan terdapat masalah pada reagen yang akan digunakan. Penundaan dapat menyebabkan sampel rusak dan mempengaruhi hasil pemeriksaan. Suhu dan lama penyimpanan perlu diperhatikan selama penundaan pemeriksaan. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui perbedaan kadar kolinesterase pada suhu penyimpanan 16 °C, -9 °C dan -20 °C dan lama penyimpanan pada minggu pertama, ketiga, dan kelima. Desain penelitian dilakukan adalah *cross sectional* untuk mengetahui ada atau tidaknya perubahan kadar kolinesterase yang ditunda pemeriksaannya setelah 1, 3, dan 5 minggu. Metode yang digunakan untuk mengukur kadar kolinesterase adalah DGKC (*Deutsche Gessellshafur Klinische Chemie*). Hasil penelitian didapatkan kadar kolinesterase yang disimpan pada suhu 16 °C dengan lama penyimpanan 1,3,dan 5 minggu adalah 3678,1 U/L, 3173,2 U/L,dan 2907,5 U/L. Kadar kolinesterase pada suhu -9 °C dengan lama penyimpanan 1,3,dan 5 minggu adalah 3703,1 U/L, 3505,7 U/L, dan 3268,6 U/L. Kadar kolinesterase pada suhu -20 °C dengan lama penyimpanan 1,3,dan 5 minggu adalah 3820,3 U/L, 3598,1 U/L, 3460,6 U/L. Hasil uji statistic *Two Way Anova* diperoleh nilai sig < 0,05 yang menandakan adanya perbedaan kadar kolinesterase pada suhu 16 °C, -9 °C dan -20 °C dan lama penyimpanan pada minggu pertama, ketiga, dan kelima.

Kata kunci : kolinesterase, suhu, lama penyimpanan

CHOLINESTERASE IN TEMPERATURE AND STORAGE TIME VARIATION

By :
Anisa Kusumaningsih
201703019

Abstract

Cholinesterase is an enzyme that hydrolyzes acetylcholine into choline and acetic acid. Specimens that can be used in the test of cholinesterase enzymes are serum, plasma, and whole blood. Serum is a good specimen because it can stabilize within a few weeks with the appropriate temperature. Cholinesterase test delays can happen in the laboratory, because the device to be used is not ready or warming up, the device has not been calibrated, and there is a problem with the reagent to be used. Delays can cause damaged samples and affect the results of the test. Storage temperature and duration need to be considered during the test delay. The purpose of this study was to determine differences in cholinesterase at storage temperatures of 16 °C, -9 °C and -20 °C and storage time in the first, third, and fifth weeks. The study design was a cross sectional study to determine whether or not there were changes in cholinesterase levels that were postponed after 1, 3, and 5 weeks. The method used to measure cholinesterase is DGKC (*Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie*). The results showed that cholinesterase stored at 16 °C with a storage time of 1, 3, and 5 weeks was 3678.1 U / L, 3173.2 U / L, and 2907.5 U / L. Cholinesterase at a temperature of -9 °C with a storage time of 1, 3, and 5 weeks is 3703.1 U / L, 3505.7 U / L, and 3268.6 U / L. Cholinesterase at a temperature of -20 °C with a storage time of 1, 3, and 5 weeks is 3820.3 U / L, 3598.1 U / L, 3460.6 U / L. Two Way Anova statistical test results obtained sig <0.05, which indicates the difference in cholinesterase at temperatures of 16 °C, -9 °C and -20 °C and the storage time in the first, third, and fifth weeks

Keyword : cholinesterase, temperature, storage

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah Subhanahuwata'ala yang telah melimpahkan rahmat-Nya sehingga penyusunan Karya Tulis Ilmiah yang berjudul **KADAR KOLINESTERASE PADA VARIASI SUHU DAN LAMA PENYIMPANAN** dapat diselesaikan.

Karya Tulis Ilmiah ini untuk memenuhi salah satu syarat untuk memperoleh gelar Ahli Madya Teknologi Laboratorium Medik di STIKes Mitra Keluarga. Karya Tulis Ilmiah ini dapat diselesaikan atas bimbingan, pengarahan, dan bantuan banyak pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terimakasih kepada :

1. Ibu Dr. Susi Hartati, S.Kp., M.Kep, Sp.Kep.An selaku Ketua STIKes Mitra Keluarga Bekasi
2. Ibu Siti Nurfajriah S.Pd., M. Si selaku dosen pembimbing KTI
3. Ibu Neni Arshita, S.Si., M. Biomed selaku dosen penguji KTI
4. Kedua orangtua yang sudah memberikan dukungan selama penyusunan KTI
5. Teman-teman dan adik-adik D3 Teknologi Laboratorium Medik yang sudah membantu dan memberi dukungan selama penelitian dan penyusunan KTI

Penulis menyadari bahwa penulisan Karya Tulis Ilmiah ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, saran dan kritik dari pembaca sangat diharapkan. Semoga Karya Tulis Ilmiah ini bermanfaat bagi pihak yang membutuhkan.

Bekasi, 8 Mei 2020

Anisa Kusumaningsih

DAFTAR ISI

HALAMAN COVER	i
HALAMAN JUDUL	ii
LEMBAR PERSETUJUAN	iii
LEMBAR PENGESAHAN	iv
PERNYATAAN ORISINILITAS	v
Abstrak.....	vi
Abstract	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR SINGKATAN	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang	1
B. Hipotesa.....	3
C. Rumusan Masalah	3
D. Tujuan Penelitian	3
E. Manfaat Penelitian	3
1. Manfaat bagi masyarakat.....	3
2. Manfaat bagi institusi	3
3. Manfaat bagi peneliti	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
A. Kolinesterase	5

1. Jenis Kolinesterase	5
2. Fungsi Kolinesterase	6
3. Sintesis Kolinesterase	6
B. Inhibitor Kolinesterase	7
C. Metode pemeriksaan	8
1. Prinsip pemeriksaan.....	8
2. Interpretasi hasil	9
D. Spesimen dan Stabilitas	9
BAB III METODE PENELITIAN	10
A. Jenis Penelitian.....	10
B. Waktu dan Tempat Penelitian	10
C. Cara Kerja	10
1. Persiapan Reagen.....	10
2. Pemeriksaan sampel	10
D. Alat dan Bahan.....	11
1. Alat	11
2. Bahan.....	11
E. Variabel Penelitian	11
F. Populasi dan Sampel	12
1. Populasi	12
2. Sampel	12
G. Pengolahan dan Analisis Data.....	13
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	14
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	20
A. Kesimpulan	20

B. Saran.....	20
DAFTAR PUSTAKA.....	21
Lampiran	24

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1 Reaksi Biosintesis Asetilkolin.....	7
Gambar 2 Prinsip Reaksi Pemeriksaan Kolinesterase	9

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Lembar Penjelasan Kepada Calon Subjek.....	24
Lampiran 2. Lembar Persetujuan Keikutsertaan Responden	26
Lampiran 3 Kit Insert Glory Diagnostic	27
Lampiran 4. Perhitungan Uji Statistik SPSS 19.....	28
Lampiran 5. Lembar Konsultasi.....	30
Lampiran 6. Kegiatan saat Penelitian.....	32

DAFTAR SINGKATAN

ACh	Asetilkolin neurotransmitter
AchE	Asetilkoliesterase
BuChE	Butilkoliesterase
C	Celcius
cc	Cubic centimeter
CoA	Koenzim A
DGKC	<i>Deutsche Gessellshafifur Klinische Chemie</i>
DTNB	5,5'-Dithiobis(2-nitrobenzoic acid)
MNBA	5-mercapto-2-nitrobenzoate acid
µL	Mikroliter
NM	Nano meter
R1	Reagen 1
R2	Reagen 2
So	Serum Kontrol
S1	Sampel 1
S2	Sampel 2
S3	Sampel 2
U/L	Unit/liter
Rpm	Rotasipermenit

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Kolinesterase adalah suatu bentuk enzim dari katalis biologik di dalam jaringan tubuh yang berperan untuk menjaga agar otot, kelenjar dan saraf berkerja secara terorganisir dan harmonis. Penurunan aktivitas kolinesterase jaringan tubuh secara tepat sampai tingkat rendah akan berdampak pada Bergeraknya otot secara sadar dengan gerakan halus maupun kasar (Zuraida, 2012). Enzim kolinesterase adalah suatu enzim yang terdapat pada cairan seluler yang fungsinya untuk memecah asetilkolin dengan menghidrolisis menjadi kolin dan asam asetat (Colovic, et al., 2013).

Kolinesterase dapat ditemukan disaraf pusat, trombosit, dan membran eritrosit (Suhartono, et al., 2018). Jenis spesimen yang dapat digunakan dalam pemeriksaan enzim kolinesterase adalah serum, plasma, dan darah utuh (*whole blood*). Serum merupakan jenis spesimen yang baik karena dapat stabil dalam beberapa minggu dengan suhu yang sesuai (Goodall, 2004).

Kolinesterase dalam keadaan normal jarang untuk dilakukan pemeriksaan. Kolinesterase digunakan untuk pemeriksaan toksikologi sebagai parameter keracunan pestisida. Sampel yang digunakan untuk pemeriksaan kolinesterase kemungkinan disimpan dalam jangka waktu yang lama. Sampel yang disimpan digunakan untuk pemeriksaan kembali sebagai konfirmasi dari hasil sebelumnya.

Penundaan dalam pemeriksaan enzim kolinesterase dapat terjadi di dalam laboratorium karena alat yang akan digunakan belum siap (*warming up*), alat belum terkalibrasi, dan terdapat masalah pada reagen yang akan digunakan. Penundaan pemeriksaan yang dilakukan dapat menyebabkan sampel rusak dan dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan. Hasil pada penelitian sebelumnya yang dilakukan menggunakan darah anjing adalah sampel dapat stabil pada penyimpanan suhu -20°C. Sampel

dapat stabil pada penyimpanan satu bulan dan terdapat penurunan yang signifikan ($P < 0,001$) pada lama penyimpanan tiga dan enam bulan dengan variasi mulai dari 4,4% hingga 12,2% (Tecles, et al., 2002).

Suhu dan lama penyimpanan yang tidak sesuai dapat mempengaruhi stabilitas aktivitas enzim kolinesterase. Enzim kolinesterase yang stabil jika disimpan pada temperatur 4°C dapat bertahan selama 140 hari (Handayani, 2009). Hasil penelitian sebelumnya mengenai aktifitas kolineseterase pada plasma kuda didapatkan hasil tidak terdapat perubahan yang signifikan pada enzim kolinesterase yang diperiksa setelah 72 jam pada suhu 4°C (Ariza, 2012).

Hasil penelitian lainnya menyatakan bahwa sampel kolinesterase yang disimpan selama 1 minggu masih dapat digunakan untuk mengukur aktifitas kolinesterase jika disimpan pada suhu 5°C (Plumlee, et al., 1994). Sampel yang akan digunakan pada penelitian ini berbeda dengan penelitian yang sudah dilakukan sebelumnya. Penelitian sebelumnya menggunakan sampel darah lengkap dan plasma dari anjing dan kuda sedangkan penelitian yang akan dilakukan menggunakan sampel serum dari darah manusia.

Suhu yang digunakan pada penelitian ini adalah 16 °C, -9 °C dan -20 °C dengan pemeriksaan yang dilakukan pada pertama, ketiga, dan kelima. Suhu 16 °C merupakan suhu pada lemari pendingin (*showcase*) yang dapat digunakan sebagai tempat penyimpanan serum. Suhu -9 °C merupakan suhu pada bagian atas *frezeer* yang paling dekat dengan pintu freezer sehingga suhu dapat naik atau turun 1-2 °C saat dibuka dan dapat mempengaruhi stabilitas serum.

Suhu -20 °C merupakan suhu pada *frezeer* yang pada penelitian sebelumnya serum kolineseterase dapat stabil selama penyimpanan satu bulan (Tecles, et al., 2002). Pemeriksaan dilakukan setelah penyimpanan satu, tiga dan lima minggu karena pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Handayani (2009) tidak terdapat perubahan bermakna pada sampel yang diperiksa setelah dua dan empat minggu sehingga peneliti

ingin melihat perubahan kadar enzim kolinesterase yang diperiksa dari minggu pertama, ketiga, dan kelima.

Bedasarkan uraian diatas peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang kadar kolinesterase pada variasi suhu dan lama penyimpanan yang berbeda dari penelitian sebelumnya. Serum manusia digunakan karena sampel lebih mudah didapatkan dibandingkan dengan sampel yang diambil dari darah atau plasma binatang. Perlakuan suhu dan lama penyimpanan yang dilakukan juga berbeda dengan penelitian sebelumnya.

B. Hipotesa

Terdapat perbedaan kadar kolinesterase pada suhu 16 °C, -9 °C dan -20 °C dan lama penyimpanan pada minggu pertama, ketiga, dan kelima.

C. Rumusan Masalah

Bedasarkan latar belakang yang diatas maka rumusan masalah yang didapat adalah berapa kadar enzim kolinesterase pada suhu 16 °C, -9 °C dan -20 °C dengan lama penyimpanan pada minggu pertama, ketiga, dan kelima?

D. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kadar kolinesterase pada suhu 16 °C, -9 °C dan -20 °C dengan lama penyimpanan pada minggu pertama, ketiga, dan kelima.

E. Manfaat Penelitian

1. Manfaat bagi masyarakat

Hasil penelitian dapat memberikan informasi kepada masyarakat mengenai kadar kolinesterase pada variasi suhu dan lama penyimpanan.

2. Manfaat bagi institusi

Peneliti dapat memberikan informasi kepada institusi mengenai kadar kolinesterase pada variasi suhu dan lama penyimpanan.

3. Manfaat bagi peneliti

Hasil penelitian dapat menambah pengetahuan dan keterampilan peneliti dalam pemeriksaan dibidang toksikologi. Hasil penelitian dapat menjadi dasar untuk penelitian sebelumnya.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Kolinesterase

Kolinesterase adalah enzim yang mengkatalis hidrolisis asetilkolin neurotransmitter (ACh) menjadi kolin dan asam asetat. Pembentukan enzim asetil kolin dilakukan pada sistem saraf pusat yang memiliki fungsi mengantar pesan atau impuls dari sel saraf ke sel otot melalui sinaps. Asetilkolinesterase akan menghentikan penghantaran impuls setelah impuls sampai ke sel otot. (Colovic, et al., 2013)

Asetilkolinesterase terdapat pada sistem saraf pusat, trombosit, dan membran eritrosit (Suhartono, et al., 2018). Kolinesterase mengatur otot, kelenjar, dan sel saraf bekerja secara terorganisir di dalam tubuh. Kolinesterase yang terhambat akan menyebabkan terhentinya penyampaian rangsangan saraf. Penurunan aktifitas kolinesterase menyebabkan bergeraknya otot serat otot secara sadar dengan gerakan halus maupun kasar serta gerakan otot akan lebih lemah dan lambat (Zuraida, 2012).

1. Jenis Kolinesterase

Terdapat dua jenis enzim kolinesterase yaitu asetilkolinesterase (AChE) dan butilkolinesterase (BuChE). Asetilkolinesterase terletak di membran prasinaps dan pascasinaps. Asetilkolinesterase berfungsi memecah asetilkolin menjadi asetat dan kolin. Asetilkolinesterase memiliki dua sisi aktif yaitu sisi anion dan ester sebagai tempat berikatan dengan asetilkolin. Sisi anion berikatan dengan gugus kolin dan sisi ester berikatan dengan karboksil asetilkolin membentuk kompleks asetilkolin-kolinesterase. Asetilkolin yang dipecah bertujuan untuk mengontrol transmisi impuls saraf (Colovic, et al., 2013).

Butilkolinesterase terdapat di sistem saraf pusat, pankreas, hati, dan mukosa intestinal. BuChE berfungsi memecah butilkolin dan eliminasi suksinikolin. Asetilkolinesterase dan Butilkolinesterase memiliki peran yang sama dalam menghidrolisis asetilkolin menjadi kolin dan asam asetat. Asetilkolinesterase dan Butilkolinesterase terletak ditempat yang berbeda

tetapi mampu bekerja sama dengan baik. BuChE mampu membantu asetilkolinesterase dalam mengatur tingkat asetilkolin dalam tubuh (Sicinska, et al., 2017).

2. Fungsi Kolinesterase

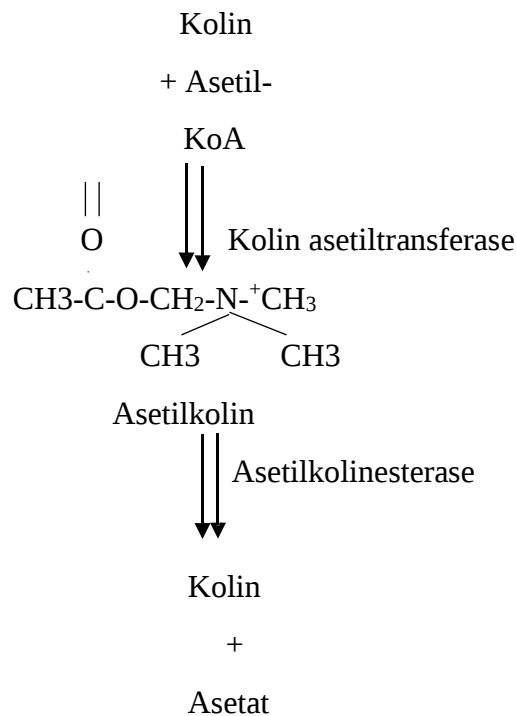
Pengukuran aktivitas enzim kolinesterase membantu menilai fungsi sintesis hati. Aktivitas kolinesterase menurun pada gangguan fungsi sintesis hati, penyakit hati kronik, dan hipoalbumin karena albumin berperan sebagai protein pengangkut kolinesterase. Penurunan kolinesterase lebih spesifik dibandingkan albumin untuk menilai fungsi sintesis hati karena kurang dipengaruhi faktor-faktor di luar hati (Dufour, 2006). Pada hepatitis akut dan kronik kolinesterase menurun sekitar 30%-50%. Penurunan kolinesterase 50%-70% dapat dijumpai pada sirosis hati dan karsinoma yang metastatis ke hati. Pengukuran kolinesterase dapat membantu untuk menilai prognosis pasien penyakit hati dan monitoring fungsi hati setelah transplantasi hati (Hall & Johny, 2012).

Kolinesterase dalam bidang pertanian berfungsi sebagai parameter pemeriksaan keracunan pestisida. Pestisida golongan organofosfat yang masuk dalam tubuh akan mengikat enzim asetilkolinesterase dan menyebabkan menumpuknya asetilkolin karena tidak aktifnya enzim asetilkolinesterase. Enzim asetilkolinesterase yang terhambat menyebabkan asetilkolin tidak terhidrolisis. Hidrolisis enzim asetilkolinesterase yang terhambat mengakibatkan jumlah asetilkolin meningkat dan berikatan dengan reseptor sistem saraf pusat. Hal ini akan menimbulkan gejala keracunan pada tubuh yang terpapar organofosfat (Febriansyah, 2015).

3. Sintesis Kolinesterase

Asetilkolin terbentuk melalui reaksi kolin dengan asetat. Kolin merupakan amina penting yang juga merupakan prekursor membran fosfolipid fosfatidikolin serta memberikan sinyal fosfolipid ke *platelet activating factor*. Asetat diaktifkan melalui penggabungan antara gugus asetat dengan koenzim A tereduksi. Reaksi antara kolin dan asetat kemudian dikatalis oleh enzim kolin asetiltransferase dalam konsentrasi tinggi terdapat di sitoplasma ujung

saraf kolinergik. Asetilkolin kemudian diambil ke dalam vesikel sinaps oleh pengangkut veskular (Ganong, 2008).



Gambar 1 Reaksi Biosistesis Asetilkolin

Asetilkolin disintesis oleh reaksi tunggal yang dikatalisis oleh enzim *choline asetiltransferase* yang merupakan penanda neuron kolinergik. Sebagian besar asetilkolin pada ujung saraf terkandung dalam 100 nm vesikel dan sebagian kecil bebas dalam sitosol. Selama transmisi saraf, asetilkolin dilepaskan dari saraf ke celah sinaps dan mengikat reseptor asetilkolin pada membran pasca sinaps untuk menyampaikan sinyal dari saraf. Asetilkolinesterase yang juga terletak pada membran pasca sinaps mengakhiri transmisi sinyal dengan menghidrolisis asetilkolin. Kolin yang dibebaskan dari dekomposisi asetilkolin diambil kembali oleh saraf pra-sinaps dan neurotransmitter yang disintesis dengan menggabungkan dengan asetil-CoA melalui aksi kolin asetiltransferase (Colovic, et al., 2013)

B. Inhibitor Kolinesterase

Inhibitor asetilkolinesterase atau anti-kolinesterase dapat menghambat kerja enzim kolinesterase dalam memecah asetilkolin. Inhibitor asetilkolinesterase menurut aksinya terbagi menjadi dua yaitu *ireversibel* dan *reversibel*. Inhibitor

reversibel, kompetitif atau tidak kompetitif, sebagian besar memiliki aplikasi terapeutik, sedangkan ikatan irreversibel berkaitan dengan ketoksikan senyawa. Inhibitor kolinesterase secara struktur kimia dapat dibedakan berdasarkan gugus fungsi kimia yaitu karbamat, gugus amonium kuarterner atau tersier) (Colovic, et al., 2013).

Inhibitor kolinesterase diantaranya adalah organofosfat dan karbamat. Organofosfat yang masuk ke dalam tubuh akan mengikat kolinesterase, sehingga kolinesterase menjadi tidak aktif dan menyebabkan akumulasi asetilkolin. Asetilkolin yang menumpuk tidak dapat dihidrolisis dan menyebabkan gangguan sistem saraf berupa aktifitas kolinergik secara terus menerus. Tanda-tanda tersebut merupakan gejala yang ditimbulkan dari keracunan organofosfat (Arrasyid, 2017).

Enzim kolinesterase sebagian besar dihambat oleh antikolinesterase. Antikolinesterase yang menghambat kolinesterase dapat berupa obat-obatan seperti neostigmin, piridostigmin, dan juga pestisida golongan organofosfat. Neostigmin dan piridostigmin menyebabkan inaktivasi asetilkolinesterase di sinaps sehingga enzim tidak dapat menghidrolisis asetilkolin dan menyebabkan asetilkolin akan tertimbun dan berulang-ulang merangsang serabut otot sehingga menimbulkan *spasme* otot (Guyton & Hall, 2012)

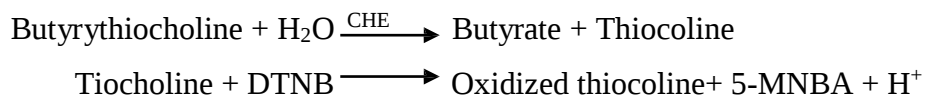
C. Metode pemeriksaan

Metode yang digunakan untuk mengukur kadar kolinesterase adalah DGKC (*Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie*). Metode ini secara kinetik digunakan untuk menentukan kadar kolinesterase menggunakan spektrofotometri.

1. Prinsip pemeriksaan

Prinsip metode ini adalah butirikolin dihidrolisis oleh kolinesterase menghasilkan butirat dan tiokolin. Tiokolin mereduksi 5' 5-mercaptobis-2- nitrobenzoic acid (DTNB) menjadi senyawa berwarna 5-mercapto-2-

nitrobenzoate (5-MNBA). Reaksi diamati secara kinetik pada panjang gelombang 405 nm dengan laju pembentukan warna kuning yang dihasilkan (Glory Diagnostic, 2017)



Gambar 2 Prinsip Reaksi Pemeriksaan Kolinesterase

2. Interpretasi hasil

Kadar kolinesterase normal pada laki-laki adalah 4620-11500 U/L dan pada wanita 3930-10800 U/L (Banday, et al., 2015). Kadar kolinesterase dapat diinterpretasikan menurut derajat keracunan yaitu latent, keracunan normal, keracunan sedang, dan keracunan berat. Nilai latent yaitu >50% dari normal atau >501 U/L. Keracunan ringan 20-50% dari normal atau >1401-3500 U/L. Keracunan sedang 10-20% atau 701-1400 U/L dan keracunan berat <10% dari normal atau <700 U/L (Kumar, et al., 2010).

D. Spesimen dan Stabilitas

Spesimen yang dapat digunakan dalam pemeriksaan kolinesterase adalah serum, plasma, dan *whole blood*. Serum adalah plasma dikurangi fibrinogen dan prekursor pembekuan lainnya yang telah terpakai selama proses pembekuan (Sherwood L, 2001). Serum didapatkan dengan melakukan sentrifugasi pada darah utuh yang ditampung pada tabung *plain*. Serum yang didapatkan dari sentrifugasi harus segera disegera disimpan dalam keadaan terpisah dari sel eritrosit pada suhu 20-25°C selama 2 hari atau 4°C selama 6 hari agar serum tetap stabil (Depkes, 2008).

Serum merupakan salah satu spesimen yang baik untuk pemeriksaan kolinesterase. Serum yang disimpan untuk pemeriksaan kolinesterase perlu diperhatikan suhu dan lama penyimpanannya. Suhu dan lama penyimpanan yang tidak tepat dapat mempengaruhi stabilitas dan hasil pemeriksaan dari kolinesterase. Serum kolinesterase dapat bertahan pada suhu 4°C selama satu minggu dan dapat bertahan selama satu tahun yang disimpan dalam keadaan beku dalam *freezer* (Goodall, 2004).

BAB III METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah eksperimen yaitu penelitian yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh perlakuan tertentu dalam kondisi yang terkontrol (Sugiyono, 2011). Desain penelitian yang akan dilakukan adalah *cross sectional* untuk mengetahui ada atau tidaknya perubahan kadar kolinesterase yang ditunda pemeriksaannya setelah 1, 3, dan 5 minggu.

B. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan selama lima bulan pada bulan Januari-Mei 2019. Penelitian dilakukan di laboratorium kimia klinik Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Mitra Keluarga Bekasi.

C. Cara Kerja

1. Persiapan Reagen

R1 ditambahkan dengan 25 mL akuades dan dihomogenkan, diamkan selama 15 menit sebelum digunakan. R2 ditambahkan dengan 2 mL akuades dan dihomogenkan. Reagen R1 dan R2 siap digunakan dapat stabil selama 6 minggu pada penyimpanan suhu 2-8 °C.

2. Pemeriksaan sampel

a. Pemisahan serum

Sampel darah diambil sebanyak 3 cc menggunakan jarum suntik dan ditampung dalam tabung vacutainer merah. Spesimen didiamkan selama 30 menit dan disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Serum dibagi menjadi 10 bagian ke dalam *microtube*. Satu tabung *microtube* segera diperiksa sebagai kontrol (So), tiga tabung *microtube* disimpan pada suhu 16 °C (S1), tiga tabung mikrotube pada suhu -9 °C (S2), dan tiga tabung pada -20 °C (S3).

b. Penentuan kadar kolinesterase pada serum kontrol (So)

So segera diperiksa dengan cara sebanyak 1,5 mL R1 dipipet ke dalam tabung serologi. So ditambahkan sebanyak 10 µL ke dalam tabung serologi dan dihomogenkan. Reagen 2 ditambahkan sebanyak 50 µL ke

dalam tabung serologi dan dihomogenkan. So diukur pada panjang gelombang 405 nm dengan warna yang dihasilkan bewarna kuning. Hasil yang tertera pada layar dicatat.

c. Penentuan kadar kolinesterase pada serum yang ditunda

S1/S2/S3 dikeluarkan dari *showcase* dan didiamkan hingga suhunya sama dengan suhu ruang. R1 dipipet ke dalam tabung serologi sebanyak 1,5 mL dan ditambahkan S1 sebanyak 10 μ L dan dihomogenkan. Reagen 2 ditambahkan sebanyak 50 μ L ke dalam tabung serologi dan dihomogenkan. S1 diukur pada panjang gelombang 405 nm dengan warna yang dihasilkan bewarna kuning. Hasil yang tertera pada layar dicatat.

D. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan untuk pengambilan dan persiapan spesimen darah adalah jarum suntik (*onemed*), tabung vacutainer merah (*BD Vacutainer*), kapas alkohol, tourniquet, *microtube (eppendorf)*, tabung serologi dan sentrifuge (*centrifuge PLC series*). Alat yang digunakan untuk penyimpanan sampel adalah *showcase* dan *freezer*. Alat yang digunakan untuk pemeriksaan sampel adalah semi auto *chemistry analyzer (Mindray)*, mikropipet (*Ratio Pette*) ukuran 1000 μ L, 50 μ L, dan 10 μ L.

2. Bahan

Bahan yang digunakan untuk penelitian diantaranya akuades, reagen *Buffer/Chromogen (R1)* dan *Substrate (R2)* kolinesterase kit kolinesterase (*Glory Diagnostics GD-CHOL100*), dan serum darah.

E. Variabel Penelitian

Variable bebas pada penelitian ini adalah perlakuan suhu dan lama penyimpanan. Variabel terikat yang dipengaruhi oleh variabel bebas pada penelitian ini adalah kadar kolinesterase.

F. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi dari penelitian ini adalah mahasiswa Teknologi Laboratorium Medis (TLM) STIKes Mitra Keluarga tingkat I dan II yang berjumlah 69 orang

2. Sampel

Sampel yang akan digunakan memiliki kriteria eksklusi diantaranya :

1. Serum ikterik
2. Serum lipemik
3. Darah yang diambil tidak memenuhi kebutuhan sebanyak 3 cc

Jumlah sampel berjumlah 59 orang yang ditentukan menggunakan rumus slovin. Sampel diambil dengan menggunakan teknik acak sederhana (*simple random sampling*).

$$n = \frac{N}{1 + Ne^2}$$

(Sarwono, 2006)

n = sampel

N = populasi

e = derajat kebebasan (0,05)

d : 0,05

$$\begin{aligned}
 n &= \frac{N}{1 + Ne^2} \\
 &= \frac{69}{1 + 69(0,05)^2} \\
 &= \frac{69}{1,1725} \\
 &= 58,84 \\
 &= 59
 \end{aligned}$$

G. Pengolahan dan Analisis Data

Uji statistik yang digunakan pada penelitian ini adalah uji *Two Way Anova*. Pengolahan data menggunakan program komputer pengolahan statistik *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) 19

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kolinesterase adalah enzim yang memiliki peran untuk mengkoordinasikan kerja otot dan saraf. Kolinesterase berperan dalam hidrolisis neurotransmitter asetilkolin menjadi asetat dan kolin (Colovic, et al., 2013). Kolinesterase berfungsi sebagai parameter keracunan pestisida. Organofosfat merupakan salah satu jenis pestisida yang paling banyak digunakan di Indonesia. Organofosfat yang masuk dalam tubuh bekerja sebagai inhibitor kolinesterase yang menghambat asetilkolinesterase dalam menghidrolisis asetilkolin. Asetilkolin yang tidak dihidrolisis menyebabkan penumpukan dan menyebabkan timbulnya gejala dan tanda-tanda keracunan (Zuraida, 2012).

Pemeriksaan kolinesterase memiliki prinsip butirikolin dihidrolisis oleh kolinesterase menghasilkan butirat dan tiokolin. Tiokolin mereduksi 5' 5-mercaptobis-2-nitrobenzoic acid (DTNB) menjadi senyawa berwarna 5-mercapto-2-nitrobenzoate (5-MNBA). Reaksi diamati secara kinetik pada panjang gelombang 405 nm dengan laju pembentukan warna kuning yang dihasilkan (Glory Diagnostic, 2017).

Reagen 1 (*Buffer/Chromogen*) yang digunakan berfungsi sebagai buffer/kromogen dan membentuk senyawa berwarna hasil reduksi DTNB. Reagen 2 (*Substrate*) berfungsi sebagai substrat yang akan dihidrolisis oleh kolinesterase dalam serum menghasilkan butirat dan tiokolin. Tiokolin kemudian mereduksi DTNB menjadi senyawa berwarna 5-MNBA.

Jumlah responden pada penelitian ini dengan perhitungan rumus slovin adalah 59 orang, tetapi jumlah sampel yang didapat adalah 51 dengan sampel lisis 1 sehingga hanya didapatkan sampel sebanyak 50. Pemeriksaan dilakukan setelah penyimpanan satu, tiga, dan lima minggu. Hal ini disebabkan karena pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Handayani (2009) tidak terdapat perubahan bermakna pada sampel yang diperiksa setelah dua dan empat minggu. Peneliti ingin melihat

perubahan kadar enzim kolinesterase yang diperiksa dari minggu pertama ketiga, dan kelima.

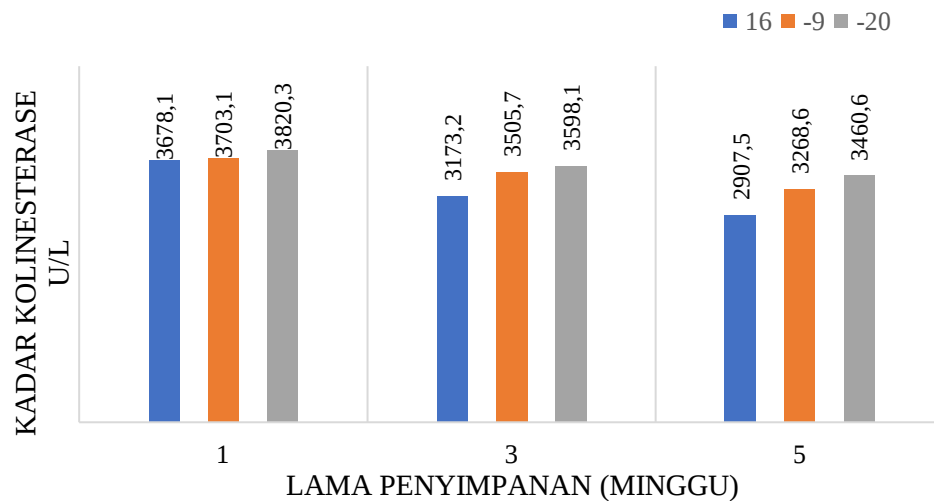
Suhu dan lama penyimpanan dalam penelitian ini memiliki pengaruh pada kadar kolinesterase. Pedoman standar penanganan spesimen darah menyatakan bahwa serum atau plasma harus segera dipisahkan dalam 20-30 menit setelah darah membeku (Dirar, et al.,2010). Penyimpanan spesimen yang tidak langsung diperiksa sebaiknya disimpan dalam bentuk serum dan disimpan dalam lemari es dengan suhu 2 -8°C atau dibekukan suhu -20°C, -70°C atau -120°C (jangan sampai terjadi beku ulang) (Permenkes 43,2013).

Tabel 4. 1 Hasil Kadar Kolinesterase

Lama Penyimpanan	Suhu (° C)	Min (U/L)	Max (U/L)	Rerata (U/L)
Kontrol		2431,8	5427,4	3819,7
1 Minggu	16°	2169,8	5150,1	3678,1
3 Minggu	16°	1798,8	4436,6	3173,2
5 Minggu	16°	1210,1	4212,7	2907,5
1 Minggu	-9°	2192,2	5342,3	3703,1
3 Minggu	-9°	2085,8	4806,7	3505,7
5 Minggu	-9°	1857,9	4615,1	3268,6
1 Minggu	-20°	2072,6	5374,6	3809,3
3 Minggu	-20°	2364,0	5284,7	3618,1
5 Minggu	-20°	2212,6	4979,5	3460,6

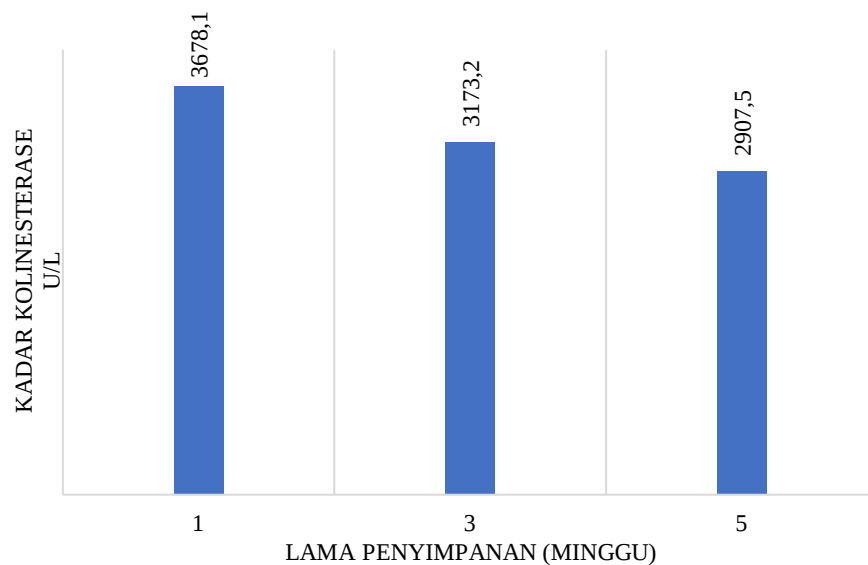
Pemeriksaan kontrol dilakukan segera setelah pengambilan sampel. Pemeriksaan kontrol dilakukan tanpa perlakuan suhu dan waktu penundaan. Hasil kontrol yang didapatkan merupakan rata-rata dari 50 responden yang didapatkan. Hasil kontrol yang didapatkan sebesar 3819,7 U/L dengan hasil terendah 2431,8 U/L dan hasil tertinggi 5427,4 U/L.

Hasil kadar kolinesterase mengalami penurunan pada minggu ke 5 pada suhu 16° , -9° , dan -20° C . Aktivitas penurunan kadar kolinesterase dapat dilihat pada gambar grafik histogram 4.1



Gambar 4. 1 Grafik Aktifitas Kadar Kolinesterase

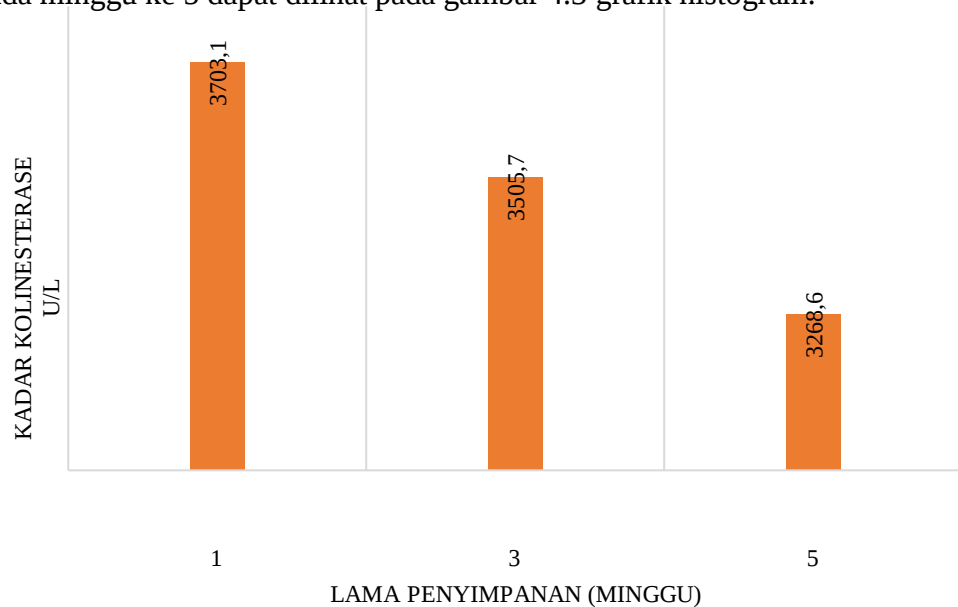
Bedasarkan grafik 4.1 terdapat penurunan yang signifikan pada suhu 16° C. Hasil uji statistik pada suhu 16° C dengan lama penyimpanan 1,3, dan 5 minggu terdapat perbedaan yang bermakna dengan nilai signifikan $p < 0,05$. Hasil terendah pada suhu terendah terdapat pada lama penyimpanan 5 minggu sebesar 2907,5 U/L. Penurunan kadar kolinesterase pada penyimpanan 16° C dapat dilihat pada gambar grafik histogram 4.2



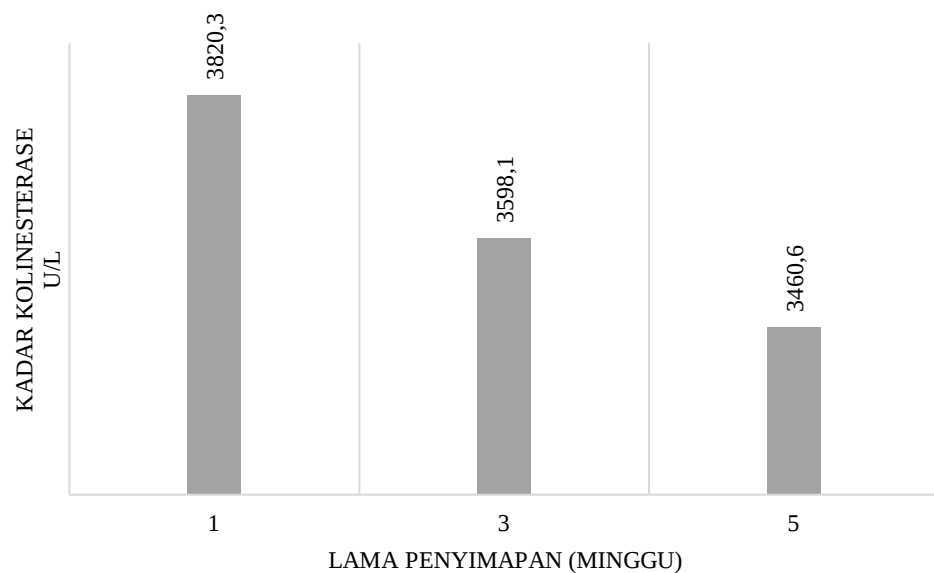
Gambar 4. 2 Grafik Aktifitas Kadar Kolinesterase pada Suhu 16°

C

Hasil kadar kolinesterase pada suhu -9°C dengan lama penyimpanan 5 minggu terdapat perbedaan yang bermakna dengan nilai signifikansi $p < 0,05$. Kadar kolinesterase yang disimpan pada suhu -9°C dengan lama penyimpanan 1 dan 3 minggu tidak terdapat perubahan yang bermakna dengan nilai signifikansi $p > 0,05$. Perbedaan yang bermakna pada suhu -9°C pada minggu ke 5 dapat dilihat pada gambar 4.3 grafik histogram.



Gambar 4. 3 Grafik Aktifitas Kadar Kolinesterase pada Suhu -9°C



Gambar 4. 4 Grafik Aktifitas Kadar Kolinesterase pada Suhu -20°C

Hasil uji statistik kadar kolinesterase yang disimpan pada suhu -20°C dengan lama penyimpanan 5 minggu terdapat perbedaan yang bermakna dengan nilai signifikansi $p < 0,05$. Kadar kolinesterase yang disimpan pada suhu -20°C dengan lama penyimpanan 1 dan 3 minggu tidak terdapat perubahan yang bermakna dengan nilai signifikansi $p > 0,05$.

Suhu 16°C tidak dapat digunakan sebagai suhu penyimpanan kolinesterase karena pada penelitian yang dilakukan terdapat perbedaan yang bermakna pada minggu 1,3,dan 5 .Suhu -9°C dan -20°C merupakan suhu yang sesuai untuk penyimpanan spesimen kolinesterase pada penelitian ini dengan lama penyimpana 3 minggu. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa aktifitas kolinesterase dapat stabil jika disimpan pada suhu- 20°C dan $4-6^{\circ}\text{C}$ Handayani (2009).

Kolinesterase dapat stabil pada suhu -9°C dan -20°C karena suhu rendah dapat memperlambat reaksi enzimatik. Kenaikan temperatur melewati temperatur optimum akan menyebabkan enzim terdenaturasi (Wuryanti, 2004). Denaturasi menyebabkan ikatan kimia terputus dan ezim kehilangan bentuk spesifiknya. Peningkatan temperatur dapat mengakibatkan substrat mengalami perubahan konformasi sehingga sisi aktif substrat terhambat untuk memasuki sisi aktif enzim dan menyebabkan turunnya aktifitas enzim (Kosim & Surya, 2010).

Tabel 4. 2 Uji Statistik Two Way Anova

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	34084542.210	8	4260567.776	8.568	.000
Intercept	5.379E9	1	5.379E9	10817.079	.000
Waktu	20630727.241	2	10315363.62	20.745	.000
Suhu	10733900.882	2	5366950.441	10.793	.000
Waktu * Suhu	2719914.087	4	679978.522	1.367	.244
Error	2.193E8	441	497242.291		
Total	5.632E9	450			
Corrected Total	2.534E8	449			

a. R Squared = ,135 (Adjusted R Squared = ,119)

Suhu dan lama penyimpanan memiliki pengaruh pada kadar kolinesterase dengan nilai signifikansi $p < 0,05$. Aktivitas kolinesterase mengalami penurunan pada penyimpanan lebih dari 1 bulan. Lama penyimpanan pada penelitian mengalami penurunan yang signifikan pada minggu ke 5 dengan suhu penyimpanan -9°C dan -20°C . Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa kolinesterase yang disimpan masih stabil pada penyimpanan 1 bulan dan terdapat penurunan yang signifikan setelah 1 bulan (Tecles, et al., 2002)

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Suhu dan lama penyimpanan dapat mempengaruhi stabilitas kolinesterase dalam serum manusia. Suhu penyimpanan rendah dapat menyebabkan aktifitas enzimatis menjadi lambat. Suhu penyimpanan yang melebihi batas optimum dapat menyebabkan kolinesterase terdenaturasi. Lama penyimpanan yang terlalu lama dapat menyebabkan penurunan aktifitas kolinesterase. Hasil uji statistik dengan menggunakan uji *two way anova* didapatkan hasil terdapat pengaruh suhu dan lama penyimpanan terhadap kadar kolinesterase dengan nilai signifikansi $p < 0.005$.

Hasil dari penelitian dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan kadar kolinesterase pada suhu 16 °C, -9 °C dan -20 °C dan lama penyimpanan pada minggu 1,3,dan 5. Kadar kolinesterase yang disimpan pada suhu 16 °C dengan lama penyimpanan 1,3,dan 5 adalah 3678,1 U/L, 3173,2 U/L,dan 2907,5 U/L. Kadar kolinesterase pada suhu -9 °C dengan lama penyimpanan 1,3,dan 5 adalah 3703,1 U/L, 3505,7 U/L, dan 3268,6 U/L. Kadar kolinesterase pada suhu -20 °C dengan lama penyimpanan 1,3,dan 5 adalah 3820,3 U/L, 3598,1 U/L, 3460,6 U/L. Kolinesterase dapat disimpan pada suhu -9 °C dan -20 °C dengan lama penyimpanan 3 minggu.

B. Saran

Berdasarkan penelitian yang sudah dapat dilakukan perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai jenis spesimen yang digunakan. Kadar kolinesterase pada serum dapat dibandingkan dengan kadar kolinesterase pada plasma. Interval lama penyimpanan seharusnya dapat lebih bervariasi untuk penelitian selanjutnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Ariza , C., 2012. Baseline Plasma Cholinesterase Activities In Argentine Saddle Horses From Sabana De Bogotá. *Rev. Med. Vet. Zoot*, Volume 59(I), pp. 12-20.
- Arrasyid, M., 2017. Pemeriksaan Kadar Pestisida Dalam Darah Petani Bawang. *Journal of Sainstek*, Volume 9(1), pp. 14-18.
- Banday, T. H., Tathineni, . B., Desai, M. S. & Naik, V., 2015. Predictors of Morbidity and Mortality in Organophosphorus Poisoning: A Case Study in Rural Hospital in Karnataka, India. *North American Journal of Medical Sciences*, 7(6), pp. 259-265.
- Colovic, M. B. et al., 2013. Acetylcholinesterase Inhibitors: Pharmacology and Toxicology. *Current Neuropharmacology*, pp. 315-334.
- Departemen Kesehatan , R., 2008. *Pedoman Praktek Laboratorium Yang Benar (Good Laboratory Practice)*.
- Dirar, A. M., Abdallah, D. A., Abdelsalam, K. E. A. 2010. Effect of Storage Time and Temperature on some Serum Analytes. *International Journal of Pathology*, Volume 8(2), pp. 68-71
- Dufour, D., 2006. Liver disease Clinical Chemistry and Molecular Diagnostic. Missouri: Elsevier saunders.
- Febriansyah, M., 2015. Faktor-faktor yang Berhubungan dengan Tingkat Keracunan Pestisida Berdasarkan Toleransi Tingkat Kolinesterase pada TeknisiPerusahaan Pest Control di Jakarta Tahun 2014, Jakarta: Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.
- Ganong, W. F., 2008. Buku Aajar Fisiologi Kedokteran. 22 penyunt. Jakarta: EGC.
- Glory Diagnostic.2017. Cholinesteras. Spain

- Goodall, R., 2004. Cholinesterase: Phenotyping And Genotyping. *Ann Clin Biochem* , Volume 41, p. 98–110.
- Guyton, A. C. & Hall, J. E., 2012. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. 11 penyunt. Jakarta: EGC.
- Hall, P. & Johnny, C., 2012. What Is The Real Fuction Of The Liver 'Fuction' Test. *Ulster Med J*, Volume 81, pp. 30-36.
- Handayani, T., 2009. Pengaruh Suhu dan Lama Penyimpanan pada Kestabilan Sampel Enzim Asetilkolinesterase dari Darah Manusia. *Tesis*, Medan: Sekolah Pasca Sarjana Univesritas Sumatera Utara.
- Indra, I., 2012. Aktivitas Otonom. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala*, Volume 12(3) , pp. 180-186.
- Kosim, M., Surya, R.P., 2010, Pengaruh Suhu pada Protease dari *Bacillus subtilis*, Fakultas MIPA ITS, Surabaya
- Kumar, S. . V. et al., 2010. Current Review On Organophosphorus Poisoning. *Scholars Research Library*, Volume 2 (4) , pp. 199-215.
- Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 43 Tahun 2013 Tentang Cara Penyelenggaraan Laboratorium Klinik Yang Baik. Jakarta : Permenkes RI
- Plumlee, K. H. et al., 1994. Effect Of Time And Storage Temperature On Cholinesterase Activity In Blood From Normal And Organophosphorus Insecticide-Treated Horses. *J Vet Diagn Invest* , Volume 6, pp. 247-249
- Sarwono, J., 2006. *Metode Penelitian Kuantitatif dan Kualitatif*. Edisi Pertama. Yogyakarta: Graha ilmu.
- Sherwod, L., 2001. *Fisiologi Manusia dari Sel ke Sistem*. Jakarta: EGC.
- Sicinska, P. et al., 2017. Decreased Activity Of Butyrylcholinesterase In Blood Plasma Of Patients With Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Clinical Research*, Volume 13(3), p. 645–651.

- Sugiyono, 2011. Metode Penelitian Kuantitatif, Kualitatif, dan R&D. Bandung: Alfabeta.
- Suhartono, E. et al., 2018. Hubungan Kadar Enzim Asetilkolinesterase Terhadap Kadar Glukosa. *Jurnal Publikasi Kesehatan Masyarakat Indonesia*, Volume Vol. 5 No. 2, pp. 47-52.
- Tecles, F., Panizo, C. . G., Subiela, S. . M. & Cero'n, J. J., 2002. Effects Of Different Variables On Whole Blood Cholinesterase. *J Vet Diagn Inves*, Volume 132–139, p. 14.
- Wuryanti, 2004. Isolasi dan Penentuan Aktivasi Spesifik Enzim Bromelin dari Buah Nanas (*Ananas comosus* L.), Artikel: JKSA, Vol. VII No. 3: 83-87
- Zuraida, 2012. Faktor yang Berhubungan dengan Tingkat Keracunan Pestisida pada Petani di Desa Srimahi Tambun Utara Bekasi Tahun 2011. Jakarta: Universitas Indonesia.

Lampiran

Lampiran 1. Lembar Penjelasan Kepada Calon Subjek

Saya, Anisa Kusumaningsih dari STIKes Mitra Keluarga Bekasi akan melakukan penelitian yang berjudul “Kadar Kolinesterase pada Variasi Suhu dan Lama Penyimpanan”. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar

kolinesterase pada variasi suhu dan lama penyimpanan. Saya mengajak saudara/i untuk ikut serta dalam penelitian ini. Penelitian ini memerlukan 59 subjek penelitian yang dimulai sejak Februari-Juni 2020

A. KEIKUTSERTAAN DALAM PENELITIAN

Anda bebas memilih keikutsertaan dalam penelitian ini tanpa paksaan dan dapat mengundurkan kapanpun. Apabila anda memutuskan untuk ikutserta dalam penelitian ini maka anda harus mengikuti prosedur yang telah ditetapkan.

B. PROSEDUR PENELITIAN

Apabila anda bersedia ikutserta dalam penelitian ini, Anda diminta menandatangani lembar persetujuan yang telah disediakan. Prosedur penelitian adalah sebagai berikut :

1. Responden bersedia berpartisipasi dalam penelitian dan mengisi lembar persetujuan.
2. Pengambilan sampel darah vena sebanyak 3cc pada lengan responden.
3. Sampel darah disentrifuge untuk memisahkan serum dari darah
4. Serum dibagi menjadi 10 didalam mikrotube, satu tabung *microtube* segera diperiksa sebagai kontrol (So), tiga tabung *microtube* disimpan pada suhu 16 °C (S1), tiga tabung mikrotube pada suhu -9 °C (S2), dan tiga tabung pada -20 °C (S3).
5. Serum kontrol (So) segera dilakukan pemeriksaan.
6. S1, S2, S3 diperiksa pada minggu pertama, ketiga, dan kelima.

C. KEWAJIBAN SUBJEK PENELITIAN

Anda wajib mengikuti prosedur penelitian yang telah ditetapkan. Bila terdapat keterangan yang belum jelas maka bisa bertanya lebih lanjut kepada

peneliti. Selama penelitian berlangsung anda tidak diperbolehkan dalam keadaan tidak sehat dan keadaan tersebut dapat menjadi lebih buruk bila dilakukan pengambilan darah vena.

D. RESIKO DAN EFEK SAMPING

Risiko yang mungkin timbul dalam penelitian ini adalah hematome pada lengan bekas penusukan. Bila terjadi sesuatu maka penanganan yang dilakukan oleh peneliti adalah memberi pengobatan sesuai risiko yang timbul pada responden.

E. MANFAAT

Manfaat langsung yang anda peroleh dalam keikutsertaan ini adalah menambah informasi mengenai stabilitas sampel kolinesterase yang disimpan pada suhu dan lama penyimpanan. Manfaat secara umum dari keikutsertaan ini adalah mengetahui kadar kolinesterase pada serum responden.

F. KERAHASIAAN

Semua informasi yang berkaitan dengan identitas subjek penelitian akan dirahasiakan dan hanya diketahui oleh peneliti. Hasil penelitian akan dipublikasikan tanpa menyebutkan identitas subjek penelitian.

G. KOMPENSASI

Keikutsertaan anda dalam penelitian ini akan mendapatkan kompensasi berupa snack dan susu yang akan diberikan setelah dilakukan pengambilan darah vena.

H. INFORMASI TAMBAHAN

Saya menyertakan identitas diri saya apabila anda membutuhkan informasi lebih lanjut mengenai penelitian ini.

Nama : Anisa Kusumaningsih

NIM : 201703019

Prodi : DIII Teknologi Laboratorium Medis

Alamat : Jl Bojong Asri X F 13 No 19 RT 005/013 Taman
Narogong Indah Bekasi

No Telpn : 081288769430

Lampiran 2. Lembar Persetujuan Keikutsertaan Responden

PERSETUJUAN KEIKUTSERTAAN DALAM PENELITIAN

Saya telah membaca semua prosedur penelitian “Kadar Kolinesterase pada Variasi Suhu dan Lama Penyimpanan” yang telah ditetapkan dan saya bersedia ikutserta dalam penelitian yang dilakukan.

Nama :

Alamat :

TTL :

Usia :

Pekerjaan :

Bekasi,

()

Lampiran 3 Kit Insert *Glory Diagnostic***CHOLINESTERASE**

GD-CHOL100

1 x 55 mL

CONTENTS

R1. Reagent 2 x 25 mL

R2. Reagent 1 x 2 mL

R3. Reagent 1 x 3 mL

For *in vitro* diagnostic use only**CHOLINESTERASE**

TOTAL AND INHIBITED

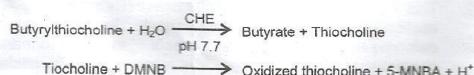
Enzymatic colorimetric method

KINETIC

PRINCIPLE

Cholinesterase (CHE) catalyzes the hydrolysis of butyrylthiocholine substrate forming butyrate and thiocholine. The latter reduces 5,5'-mercaptobis-2-nitrobenzoic acid (DMNB) to 5-mercapto-2-nitrobenzoate (5-MNBA), a colored compound.

The reaction is monitored kinetically at 405 nm by the rate of formation of the yellow color produced, proportional to the activity of CHE in the sample.



Dibucaine inhibition can be estimated by performing concurrent assays in which dibucaine is present in the substrate mixture. Percent inhibition is evaluated by comparison of activity in the inhibited system with that in the uninhibited system. The resulting dibucaine number allows the classification and identity of the homozygous and heterozygous variants.

REAGENT COMPOSITION

- R1** Buffer/Chromogen. Phosphate buffer 50 mmol/L pH 7.7, DMNB 0.25 mmol/L. Powder.
- R2** Substrate. Butyrylthiocholine iodide 7 mmol/L. Freeze-dried.
- R3** Dibucaine. Dibucaine Chlorhydrate 2.6 mmol/L.

STORAGE AND STABILITY

Store at 2-8°C.

All the kit compounds are stable until the expiry date stated on the label. Do not use reagents over the expiration date. Store the vials tightly closed, protected from light and prevented contaminations during the use.

Discard if appear signs of deterioration:

- Presence of particles and turbidity.
- Discard reconstituted reagents **R1** and **R2** if present an Blank absorbance (A) at 405 nm > 0.700 in 1cm cuvette against distilled water.

REAGENT PREPARATION**Working reagents.**

- Buffer/Chromogen.** Add 25 mL of distilled water into a vial of **R1**. Cap. Shake. Stand for 15 min. before use. Stable for 6 weeks at 2-8°C.
- Substrate.** Add 2.0 mL of distilled water into a vial of **R2**. Mix. Stable for 6 weeks at 2-8°C. Excess substrate may be frozen once.
- Inhibitor reagent.** Mix 9 volumes of Buffer/Chromogen with 1 volumen of **R3**.

QUALITY SYSTEM CERTIFIED
ISO 9001 ISO 13485



Glory Diagnostics
Manufactured in the Spain

SAMPLES

Serum, EDTA or heparinized plasma. Moderate hemolysis does not interfere.

Cholinesterase in serum or plasma is stable for several weeks whether the specimen is stored at room temperature or under refrigeration, and for 3 months at -20°C.

INTERFERENCES

- Lipemia (intralipid), 20 g/L does not interfere.
- Bilirubin, 40 mg/dL does not interfere.
- Hemoglobin, 16 g/L does not interfere.
- Other drugs and substances may interfere⁴⁻⁶.

MATERIALS REQUIRED

- Photometer or spectrophotometer with a thermostatted cell compartment set at 25/30/37°C, capable to read at 405 nm.
- Stopwatch, strip-chart recorder or printer.
- Cuvettes with 1-cm pathlength.
- Pipettes to measure reagent and samples.

PROCEDURE

- Preincubate working reagents and samples to reaction temperature (see NOTES).
- Set the photometer to 0 absorbance with distilled water.
- Pipette into labelled cuvettes:

Temperature	25/30°C		37°C	
	Without inhibitor	With inhibitor	Without inhibitor	With inhibitor
Buffer/Chromogen	1.5 mL	-	1.5 mL	-
Inhibitor reagent	-	1.5 mL	-	1.5 mL
Sample	10 µL	10 µL	-	-
Sample dil 1:2 with saline	-	-	10 µL	10 µL
Substrate	50 µL	50 µL	50 µL	50 µL

- Mix gently by inversion. Insert cuvette into the cell holder, start stopwatch and record the initial absorbance.
- Repeat the absorbance readings exactly after 30, 60 and 90 seconds.
- Calculate the difference between absorbances.
- Calculate the mean of the results to obtain the average change in absorbance per second ($\Delta A/30 \text{ sec}$).

Lampiran 4. Perhitungan Uji Statistik SPSS 19

Kadar Kolinesterase suhu 16⁰ C Penyimpanan 5 Minggu

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	15322297.408	2	7661148.704	15.149	.000
Within Groups	74340887.192	147	505720.321		
Total	89663184.600	149			

Kadar Kolinesterase suhu 16⁰ C Penyimpanan 3 Minggu

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	6372948.781	1	6372948.781	12.762	.001
Within Groups	48938787.168	98	499375.379		
Total	55311735.949	99			

Kadar Kolinesterase suhu-9⁰ C Penyimpanan 5
Minggu

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4733609.170	2	2366804.585	4.951	.008
Within Groups	70278003.794	147	478081.658		
Total	75011612.964	149			

Kadar Kolinesterase suhu -9⁰ C Penyimpanan 3 Minggu

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	974484.866	1	974484.866	1.981	.162
Within Groups	48203131.115	98	491868.685		
Total	49177615.980	99			

Kadar Kolinesterase suhu -20⁰ C Penyimpanan 5 Minggu

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3294734.751	2	1647367.375	3.243	.042
Within Groups	74664959.296	147	507924.893		
Total	77959694.047	149			

Kadar Kolinesterase suhu -20⁰ C Penyimpanan 5 Minggu

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Group	1234387.661	1	1234387.661	2.254	.136
Within Groups	53671326.007	98	547666.592		
Total	54905713.668	99			

Lampiran 5. Lembar Konsultasi

Lampiran 10. Absensi Konsultasi Bimbingan KTI

MP-AKDK-24/F1

No. Revisi 0.0



**LEMBAR KONSULTASI KARYA TULIS ILMIAH
PRODI DIII TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIK**

Judul

Kadar kolinesterase Pada Variasi Suhu dan Lama Penyimpanan

Dosen Pembimbing

Siti Nurfaizah S-Pd, M-Si

Nama Mahasiswa

Anisa Kusumaningsih

No	Hari / Tanggal	Topik	Masukan	Paraf	
				Mahasiswa	Pembimbing
1.	Jumat / 31 Okt 19	Bab I (Latar belakang)	Diurutkan Penulisan Latar belakang dari Kolinesterase, spesimen & penundaan		
2.	Selasa / 05 Nov 19	Bab 5 Revisi	Konsisten Penulisan Kolinesterase, tambahkan alasan mengapa harus selum, Revisikan rumusan		
3.	Selasa / 12 Nov 19	Bab 7 Revisi	Penulisan sitasi sama pada 2 kalimat, pilih salah satu, cantumkan sumber, Penulisan sitasi diperbaiki		
4.	Senin / 18 Nov 19	Bab 11 Metode Penelitian	•) Buat time table jalur Penelitian •) Perbaikan waktu penelitian •) Penulisan SPOR		
5.	Jumat / 22 Nov 19	Bab 11 Revisi	•) Perbaiki cara kerja menjadi beberapa poin •) Sampel diberi kode		
6.	Senin / 25 Nov 19	Bab 11 Revisi	•) Materi untuk bab 2 •) dan perbaikkan spasi before & After		
7.	Rabu / 27 Nov 19	Bab 11	•) tambahkan GC Number •) mekanisme reaksi •) tambahkan persamaan spasi & stabilitas •) tambahkan prinsip reaksi		
8.	Selasa / 17 Nov 19	Perhitungan sampel, Perhitungan & jumlah reagen	Mengurutkan Perhitungan Suhu waktu menjadi 3 Perhitungan		
9.	Senin / 6 Januari 19	Revisi setelah sampel	•) Daftar Singkatan terlaru menjorok Kelongay •) Daftar isi belum TM •) Perbaiki waktu perhitungan		
10.	Jumat / 17 Januari 19	Revisi selah sampel	tingg waktu u/ penelitian, agar tidak bertukar dg PKM & PKL		

--	--	--	--	--	--	--

Lampiran 6. Kegiatan saat Penelitian

