

TEKNIK PENGECERAN SAMPEL PADA PEMERIKSAAN BILIRUBIN TOTAL DENGAN VOLUME YANG SEDIKIT

(Dilution Techniques for Total Bilirubin Examination with Small Sample Volumes)

Vitriani Nur Rahmadani¹

¹Analisis Kesehatan Stikes Karsa Husada Garut

Alamat Korespondensi, email: vitrianiurrahmadani29@gmail.com; tlpn: 089663317096

ABSTRAK

Pengambilan darah pada bayi untuk pemeriksaan bilirubin total, membutuhkan keahlian khusus dan volume darah yang didapat seringkali sedikit dan tidak mencukupi. Penanganan sampel dengan volume sedikit dilakukan dengan cara pengenceran sampel dengan menambahkan larutan NaCl 0,9%. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui teknik pengenceran sampel pada volume yang sedikit dan untuk mengetahui cara penentuan kadar bilirubin total. Penelitian ini mendeskripsikan tentang kasus di bidang kimia klinik mengenai teknik pengenceran sampel pada pemeriksaan bilirubin total dengan volume yang sedikit. Objek studi kasus yang digunakan adalah plasma darah. Data pada studi kasus ini diperoleh dari hasil pengukuran volume plasma dan pengukuran kadar bilirubin total pada sampel. Teknik pengenceran dilakukan dengan perbandingan 1:5 karena sampel yang diperoleh 20 µL sehingga ditambah 100 µL NaCl 0,9% untuk mencapai volume 120 µL. Kadar bilirubin total yang terbaca pada sampel yang diencerkan adalah 2,71 mg/dL. Kadar bilirubin total sebenarnya diketahui dengan perhitungan $120 \mu\text{L} / 20 \mu\text{L} \times 2,71 \text{ mg/dL} = 16,26 \text{ mg/dL}$. Teknik pengenceran pada prinsipnya hanya menambahkan pelarut saja, walaupun diencerkan itu hanya mengubah volume larutan tetapi tidak mengurangi jumlah molaritas zat yang terlarut. Sehingga tidak ada perbedaan hasil antara diencerkan dan tidak diencerkan. Berdasarkan hal tersebut pemilihan variasi pengenceran dapat disesuaikan berdasarkan volume sampel yang diperoleh.

Kata Kunci : Bilirubin Total, Pengenceran, NaCl 0,9%

ABSTRACT

Blood collection in infants for total bilirubin examination, requires special skills and the volume of blood obtained is often small and insufficient. Handling samples with a small volume is carried out by diluting the sample by adding 0.9% NaCl solution. The purpose of this study was to determine the technique of diluting samples at a small volume and to find out how to determine total bilirubin levels. This study describes a case in the field of clinical chemistry regarding the technique of diluting samples on the examination of total bilirubin with a small volume. The object of the case study used is blood plasma. The data in this case study were obtained from the results of plasma volume measurements and total bilirubin levels measured in the samples. The dilution technique is carried out in a ratio of 1: 5 because the sample obtained is 20 μ L so that 100 μ L of 0.9% NaCl is added to reach a volume of 120 μ L. The total bilirubin level read in the diluted sample is 2.71 mg / dL. Total bilirubin levels are actually known by calculating $120 \mu\text{L} / 20 \mu\text{L} \times 2.71 \text{ mg} / \text{dL} = 16.26 \text{ mg} / \text{dL}$. The dilution technique in principle only adds solvent, although diluted it only changes the volume of the solution but does not reduce the amount of molarity of the solute. So there is no difference in yield between diluted and undiluted. Based on this, the selection of dilution variations can be adjusted based on the volume of samples obtained.

Keywords : Total Bilirubin, Dilution, NaCl 0.9%

PENDAHULUAN

Pemeriksaan bilirubin total adalah pengukuran jumlah total bilirubin dalam darah, termasuk senyawa tak terkonjugasi dan terkonjugasi. Pada bayi pemeriksaan bilirubin total sangat penting sebagai tanda hiperbilirubinemia. Peningkatan kadar senyawa tersebut pada bayi terjadi karena fungsi usus dan hati yang belum sempurna akibatnya banyak pigmen kuning yang tidak terkonjugasi dan tidak terbuang dari tubuh dengan optimal. Biasanya terjadi pada minggu pertama sampai minggu ketiga setelah kelahiran (Yuliawati et al., 2018).

Usia bayi yang masih kecil membuat vena belum berkembang sempurna, sehingga vena pada bayi relatif kecil dan tidak mudah terlihat. Vena yang masih

kecil ini mempengaruhi terhadap proses pengambilan darah. Pengambilan darah sulit dilakukan sehingga menyebabkan penusukan jarum spuit secara berulang dan mengakibatkan sampel yang diambil hemolisis. Pengambilan darah yang sulit ini pula menyebabkan volume sampel yang diterima sedikit (Medipally et al., 2020).

Pengambilan darah pada bayi membutuhkan keahlian khusus dan volume darah yang didapat seringkali sedikit dan tidak mencukupi. Volume sampel darah yang sedikit ini membuat sampel ditampung pada *microtube* K₃EDTA 1 ml agar bisa dilakukan bersamaan dengan pemeriksaan lainnya. Penggunaan *microtube* K₃EDTA untuk menyesuaikan volume darah yang terambil dengan takaran

antikoagulan yang ada dalam tabung. Jika volume darah yang ditampung tidak tepat maka dapat menyebabkan perbandingan volume darah yang tidak sesuai dengan jumlah antikoagulan, hal tersebut akan memberikan hasil pemeriksaan yang tidak sesuai (Tominik, 2020).

Pemeriksaan bilirubin total dilakukan dengan menggunakan alat *automatic chemistry analyzer* dengan metode fotometrik. Sampel darah yang sedikit menyebabkan volume plasma yang diperoleh kurang dari 100 μ L. Standar volume minimum untuk memeriksa bilirubin total pada alat *automatic chemistry analyzer (Abbott Architect c4000)* adalah 100 μ L oleh karena itu perlu dilakukan cara pengenceran volume sampel. Penanganan sampel dengan volume sedikit dilakukan dengan cara pengenceran sampel menggunakan larutan NaCl 0,9% (Dewi, 2018).

Hasil penelitian Dewi (2018), menunjukkan bahwa pada pemeriksaan bilirubin total plasma EDTA pengenceran NaCl 0,9% dan *aquadest* steril tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada sampel terhadap kadar bilirubin total.

METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian ini mendeskripsikan tentang kasus dibidang kimia klinik mengenai

teknik pengenceran sampel pada pemeriksaan bilirubin total dengan volume yang sedikit. Objek studi kasus yang digunakan adalah plasma darah.

Fokus studi kasus pada penelitian ini adalah teknik pengenceran yang dilakukan pada sampel yang ditampung pada *microtube K₃EDTA* karena volumenya kurang dari 1 ml dan dilakukan pemeriksaan bilirubin total pada alat *automatic chemistry analyzer* serta penentuan kadar bilirubin total dengan cara perhitungan faktor pengenceran.

Penelitian studi kasus ini dilakukan dengan prinsip adil, baik dan hormat. Adil dilakukan dengan tidak membedakan objek penelitian, baik dilakukan dengan tidak menimbulkan kerugian pada objek penelitian, dan hormat dilakukan dengan meminta izin dan menjaga kerahasiaan pihak terkait.

HASIL PENELITIAN

Hasil pengambilansampel pemeriksaan bilirubin total pada pasien bayi dengan volume sampel yang sedikit di Laboratorium Rumah Sakit X pada tanggal 9 Maret 2024, sampel *whole blood* terkumpul kurang dari 1 ml sehingga ditampung ke dalam *microtube K₃EDTA*. Kemudian sampel di *centrifuge* untuk mendapatkan plasma agar bisa dilakukan pemeriksaan bilirubin total di alat *automatic chemistry analyzer*, setelah di

centrifuge plasma yang didapat hanya 20 μL sedangkan standar volume minimum untuk memeriksa bilirubin total pada alat *automatic chemistry analyzer* (Abbott Architect c4000) adalah 100 μL . Oleh karena itu dilakukan pengenceran dengan NaCl 0,9% agar bisa mencapai standar volume minimum pemeriksaan bilirubin total pada alat *automatic chemistry analyzer*.

Teknik pengenceran dilakukan dengan menambahkan sebanyak 100 μL NaCl 0,9% pada 20 μL sampel kemudian dihomogenkan. Sampel dimasukkan ke dalam alat untuk dilakukan pemeriksaan. Setelah beberapa saat, keluar hasil kadar bilirubin total pada alat sebesar 2,71 mg/dL, karena sampelnya dilakukan pengenceran maka untuk mengetahui kadar bilirubin sebenarnya perlu dilakukan perhitungan terhadap pengenceran tersebut dengan faktor pengali. Perhitungan dapat ditentukan dengan rumus :

$$\begin{aligned}\text{Faktor pengenceran} &= V2 / V1 \\ &= 120 \mu\text{L} / 20 \mu \\ &= 6\end{aligned}$$

Jadi, dapat diketahui kadar bilirubin total sebenarnya :

$$\begin{aligned}\text{Kadar bilirubin total} &= \text{kadar yang terukur} \\ &\text{X faktor pengenceran} \\ &= 2,71 \text{ mg/dL X } 6\end{aligned}$$

$$= 16,26 \text{ mg/dL}$$

PEMBAHASAN

Pemeriksaan bilirubin total adalah pengukuran jumlah total bilirubin dalam darah, termasuk bilirubin tak terkonjugasi dan terkonjugasi (Rosida, 2016). Pemeriksaan bilirubin total bertujuan untuk mengetahui adanya gangguan pada hati dan untuk memantau kadar bilirubin yang dikaitkan dengan ikterus. Ikterus merupakan penumpukan bilirubin berlebih pada kulit, jaringan dan bagian putih mata (sklera) yang dapat menimbulkan warna kuning. Ikterus atau hiperbilirubinemia adalah peningkatan kadar bilirubin yang melebihi batas normal (Ali et al., 2012).

Pemeriksaan kadar bilirubin total dapat menggunakan sampel berupa serum atau plasma EDTA (Kemenkes RI, 2010). Serum merupakan *gold standard* dalam pemeriksaan bilirubin total untuk penegakan diagnosis hiperbilirubinemia pada bayi. Serum adalah bagian cairan darah yang tidak mengandung faktor pembekuan maupun sel darah. Sel darah menggumpal dan terperangkap dalam jaringan kontraktif serat fibrin yang luas. Sedangkan plasma adalah bagian cair dari darah yang tidak mengandung sel darah namun tetap mengandung faktor pembekuan darah. Plasma EDTA diperoleh dari komponen darah yang telah diberi antikoagulan EDTA untuk mencegah

terjadinya pembekuan darah. Antikoagulan EDTA bekerja dengan cara mengikat kalsium (Roby S et al., 2018).

Plasma digunakan dalam pemeriksaan bilirubin total karena sulitnya pengambilan darah pada bayi dan agar bisa dilakukan bersamaan dengan pemeriksaan lainnya. Kesulitan tersebut menyebabkan volume sampel darah yang didapat seringkali sedikit dan tidak mencukupi. Untuk mengatasi volume yang sedikit ini biasanya dilakukan teknik pengenceran, karena standar volume minimum pemeriksaan bilirubin total pada alat *automatic chemistry analyzer (Abbott Architect c4000)* adalah 100 μ L.

Hasil penelitian Sugiarti (2019) menunjukkan bahwa pada pemeriksaan kadar bilirubin total serum segera dan tunda tanpa dan dengan pengenceran menggunakan NaCl 0,9% dan aquabides sebanyak 2x-5x dengan perbandingan 1:1-1:4 tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan. Teknik pengenceran pada volume sampel yang sedikit dapat dilakukan secara manual ataupun otomatis di alat. Beberapa alat *automatic chemistry analyzer* sudah di *setting* dengan variasi teknik pengenceran tergantung merk dan spesifikasinya. Variasi pengenceran tersebut dapat dilakukan di alat mulai dari 1:2-1:150.

Pengenceran merupakan penambahan sejumlah pelarut ke dalam larutan tertentu. Pengenceran akan menyebabkan perubahan pada volume larutan tetapi jumlah molaritas dalam larutan tetap. Pengenceran yang digunakan untuk pemeriksaan bilirubin dapat menggunakan Natrium Chlorida (NaCl) 0,9% (Murdani, 2017). NaCl 0,9 % merupakan larutan yang isotonis dengan plasma darah. Campuran sampel dengan NaCl konsentrasi 0,9 % tidak terjadi hemolisis maupun krenasi pada sel darah merah, karena baik sel darah merah maupun NaCl 0,9 % memiliki konsentrasi yang sama. Sel darah merah harus berada dalam keadaan yang isotonis sehingga tidak terjadi pengerutan atau dapat disebut krenasi (Dewi, 2018). Hasil penelitian yang dilakukan oleh Dewi (2018), menunjukkan bahwa pada pemeriksaan bilirubin total plasma EDTA pengenceran NaCl 0,9% dan *aquadest* steril tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada sampel terhadap kadar bilirubin total.

Kadar hasil pemeriksaan bilirubin total dapat diketahui dengan menggunakan faktor pengenceran. Faktor pengenceran (rasio pengenceran) adalah perbandingan antara volume akhir dan volume awal larutan. Volume akhir adalah volume larutan setelah pengenceran. Volume awal adalah volume larutan sebelum dilakukan

pengenceran atau volume larutan asli yang digunakan untuk pengenceran. Faktor pengenceran ditentukan dengan membagi volume akhir larutan dari volume awal (Da Lopez, 2020). Setelah faktor pengenceran diketahui selanjutnya kadar bilirubin total yang terukur di alat dikali dengan faktor pengenceran tersebut, sehingga dapat diperoleh kadar bilirubin sebenarnya.

Pemeriksaan kadar bilirubin total menggunakan alat *automatic chemistry analyzer* pada sampel dengan volume yang sedikit dapat dilakukan pengenceran 1:5, karena volume sampel yang diperoleh 20 μL sehingga teknik pengenceran yang paling memungkinkan adalah 1:4 atau 1:5 agar volumenya dapat mencapai standar volume minimum pemeriksaan pada alat yaitu 100 μL . Teknik pengenceran 1:5 lebih dipilih untuk meminimalkan terjadinya percikan antara jarum pemindai sampel pada alat dengan permukaan tabung yang dapat membentuk gelembung, sehingga sampel yang terambil menjadi kurang dan tidak dapat terbaca alat. Oleh karena itu, dilakukan pengenceran 1:5 untuk menghindari hal tersebut dan volume sampel yang tersedia cukup banyak. Hasil penelitian Sugiarti (2019) menunjukkan bahwa pada pemeriksaan kadar bilirubin total serum segera dan tunda tanpa dan dengan pengenceran menggunakan NaCl 0,9% dan aquabides sebanyak 2x-5x

dengan perbandingan 1:1-1:4 tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian Teknik Pengenceran Sampel Pada Pemeriksaan Bilirubin Total Dengan Volume Yang Sedikit dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

- 1) Teknik pengenceran yang dilakukan untuk mengatasi volume sampel yang sedikit dengan cara menambahkan larutan NaCl 0,9% pada sampel yang diperoleh hingga mencapai standar minimum pemeriksaan di alat *automatic chemistry analyzer*.
- 2) Penentuan kadar bilirubin total yang diencerkan dilakukan dengan cara membagi volume akhir dari volume awal dan dikali kadar yang terukur.

SARAN

Adapun saran yang dapat diberikan pada penelitian ini adalah :

- 1) Perlu dilakukan penelitian lanjut yang lebih luas dan mendalam dengan memperhatikan cara pengenceran yang baik dan benar.
- 2) Teknik pengenceran dapat dijadikan sebagai bahan rujukan atau referensi untuk menangani sampel dengan volume sedikit.

3) Pemilihan variasi pengenceran dapat disesuaikan berdasarkan volume sampel yang diperoleh.

DAFTAR PUSTAKA

- Ali, R., Ahmed, S., Qadir, M., & Ahmad, K. (2012). Icterus neonatorum in near-term and term infants an overview. *Sultan Qaboos University Medical Journal*, 12(2), 153–160.
- Ammariah, H., Nurhidayanti, N., Bastian, B., & Kartika, T. (2022). Perbedaan Hasil Derajat Aglutinasi Serum Grouping Tube Test Dengan Suspensi Reagen NaCl 0,9% Siap Pakai dan Suspensi Reagen NaCl 0,9% Dari Garam Dapur. *Sainmatika: Jurnal Ilmiah Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam*, 19(2), 208–214.
- Arrafi, A. I. (2022). *Perbandingan Kadar Hemoglobin Menggunakan Tabung*.
- Cholifah, Djauharoh, & Machfudloh, H. (2017). Faktor-Faktor Yang Berpengaruh Terhadap Hiperbilirubinemia Di RS Muhammadiyah Gersik. *Jurnal Fakultas Ilmu Kesehatan Muhammadiyah Sidoarjo*, 3(1), 14–25.
- Da Lopez, Y. F. (2020). Stoikiometri Reaksi Kimia Dalam Larutan. *Kimia - Mlk.22203*, 1–4.
- Dewi, C. N. K. (2018). Perbedaan Kadar Bilirubin Total Plasma EDTA Pengenceran NACL 0,9 % Dan Aquadest Steril. *Jurnal Media Keperawatan Indonesia*, 1, 1–7.
- Fadhilah, F. (2019). Pengaruh Lamanya Pencahayaan Terhadap Kadar Bilirubin Total Metode Kolorimetric Diazo. *Klinikal Sains : Jurnal Analis Kesehatan*, 7(1), 1–7.
- Hasanah, F. (2016). Desain Sensor Kapasitif Untuk Penentuan Level Aquades. In *Jurusan Fisika Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember* (Vol. 2).
- Kee, J. L. (2007). *Pedoman Pemeriksaan Laboratorium & Diagnostik* (Edisi 6). Jakarta : EGC.
- Kemenkes RI. (2010). *Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 1792/MENKES/SK/XII/2010 Tentang Pedoman Pemeriksaan Kimia Klinik* (p. 18).
- Kemenkes RI. (2014). *Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 56 Tahun 2014 Tentang*

- Klasifikasi Dan Perizinan Rumah Sakit*. 1–40.
- Lestari, N. P. H. Y. (2019). Perbedaan Kadar Serum Bilirubin Total Yang Diperiksa Segera Dengan Yang Disimpan Pada Suhu 2-8°C. *Politeknik Kesehatan Denpasar. Karya Tulis Ilmiah*, 1–72.
- Lihabi. (2023). *Perbedaan Plasma Dan Serum, Ahli Teknologi Laboratorium Medis (ATLM) Wajib Tahu*. Kumparan.Com.
- Mathindas, S., Wilar, R., & Wahani, A. (2013). Hiperbilirubinemia Pada Neonatus. *Jurnal Biomedik (Jbm)*, 5(1).
- Medipally, D. K. R., Cullen, D., Untereiner, V., Bryant, J., Sockalingum, G. D., Nguyen, T. N. Q., Noone, E., Bradshaw, S., Finn, M., Dunne, M., Shannon, A. M., Armstrong, J., Meade, A. D., & Lyng, F. M. (2020). Effect of hemolysis on Fourier transform infrared and Raman spectra of blood plasma. *Journal of Biophotonics*, 13(7).
- Murdani. (2017). *Perbedaan Kadar Biirubin Bayi pada Sampel Plasma dengan Pengenceran dan Tanpa Pengenceran*.
- Novara, T. (2013). *Perbandingan antara Laktat Hipertonik dan NaCl 0,9% Sebagai Cairan Pengganti Perdarahan Pada Bedah Caesar Terhadap Status Hemodinamik dan Strong Ions Difference*. 12.
- Pauli, D., Seyfarth, M., & Dibbelt, L. (2014). *The Abbott Architect c8000 : Analytical performance and productivity characteristics of a new analyzer applied to general chemistry testing The Abbott Architect c8000 : Analytical Performance and Productivity Characteristics of a New Analyzer Applied to G. February 2005*.
- Pusparani, H., & W, T. A. (2017). *Gambaran Kadar Bilirubin Pada Ikterus Neonatorum Sebelum Dan Pasca Fototerapi Di Rumah Sakit Pertamina Cirebon Periode Januari-Agustus 2014*. 10(2), 5–6.
- Roby S, Sukeksi, A., & Aryadi, T. (2018). *Perbedaan Hasil Pemeriksaan Bilirubin Total Menggunakan Serum Dan Plasma Edta Pada Bayi*.
- Rosida, A. (2016). *Pemeriksaan Laboratorium Penyakit Hati. Berkala Kedokteran*, 12(1), 123.
- Sugiarti, A. M. (2019). *Perbandingan Kadar Bilirubin Total Serum Segera Dan Tunda Tanpa Dan Dengan Pengenceran. Jurnal Riset*

- Kesehatan Poltekkes Depkes Bandung*, 11(2), 168–174.
- Tominik, V. I. (2020). Dampak volume darah dalam tabung K2EDTA dengan hasil jumlah leukosit. *Masker Medika*, 5(2), 1–5.
- Winda, N. P., Jiwantoro, Y. A., & Khusuma, A. (2019). Perbedaan Kadar Kolesterol Total Menggunakan Antikoagulan EDTA (CH₂CO₂H), Natrium Sitrat (Na₃C₆H₅O₇), dan Natrium Oksalat (Na₂C₂O₄). *Jurnal Analis Medika Biosains (JAMBS)*, 6(2), 130.
- Woolley, T. (2014). *Original Article A Comparison Between the Horiba Microsemi Point-of-Care C-Reactive Protein and Full Blood Cell Analyzer and the*. 13(2), 66–69.
- Yosiana, N., Niroini, F., & Sukeksi, A. (2020). Perbedaan Kadar Bilirubin Total Plasma EDTA Tunda 2 Jam Terpapar Dan Tidak Terpapar Cahaya Lampu. *Prosiding Seminar Nasional Unimus*, 3, 646–650.
- Yuliawati, F., Sudiwati, N. L. P. E., & Lasri. (2018). Studi Komparatif Kadar Bilirubin Pada Bayi Baru Lahir dengan Fototerapi yang Diberikan ASI Eksklusif dan Non Eksklusif di RST Malang. *Nursing News*, 3(1), 513–525.
- Yuliyani. (2019). Perbedaan Berat Badan Bayi yang di Lakukan Pijat dengan Berat Badan Bayi yang tidak Dilakukan Pijat di BPS Yohana Kelurahan Kebonharjo Kota Semarang (Skripsi). *Semarang: PSIK Universitas Semarang*;