

## PERBEDAAN STABILITAS AKTIVITAS ENZIM ALKALI FOSFATASE SERUM DAN PLASMA HEPARIN PADA SUHU RUANG

*The Differences in Stability of Alkaline Phosphatase Enzyme Activity in Serum and Plasma Heparin at Room Temperature*

Tsania Syifa Afifah<sup>1\*</sup>, Dewi Nurhayati<sup>2</sup>, Ani Riyani<sup>3</sup>, Nani Kurnaeni<sup>4</sup>

<sup>1\*234</sup>Poltekkes Kemenkes Bandung, Prodi Teknologi Laboratorium Medis

Email: [tsaniasyifa25@gmail.com](mailto:tsaniasyifa25@gmail.com)

### ABSTRACT

*One of the stages of laboratory examination is pre-analytical which has the most common error that occurs at the inspection stage, which is 68%. Examination of Alkaline phosphatase enzyme activity is one of the examinations to detect abnormalities, diseases, and damage to liver tissue. This study aims to determine the stability of ALP enzyme activity in serum and plasma heparin at room temperature. This experiment is quasi experimental were to provide treatment in the form of storage of serum and plasma heparin samples after centrifugation for 10, 12, and 14 hours at room temperature which then the activity were compared with the activity of serum and plasma heparin which were immediately examined. 64 data were produced which were then processed using SPSS with a general linear model (GLM) test. The GLM test results for serum after storage time 10, 12, and 14 hours showed sig. 0,220, 0,262, and 0,062 and for the plasma heparin samples after storage time 10, 12, and 14 hours showed sig. 0,118, 0,271, and 0,053 (Sig. >0,05), so it can be concluded that there are no significant differences between the variation in storage time with immediate examination. The GLM test result for difference between serum and plasma heparin for immediately examined, after storage time 10, 12, and 14 hours showed sig. 0,054, 0,080, 0,050, and 0,136 (sig. >0,05). So it can be concluded that there are no significant differences between serum and plasma heparin in every storage time variations. So, it can be concluded that there are no difference between stability of ALP enzyme activity in serum and plasma heparin, that is, the sample remains stable for 14 hours at room temperature.*

**Keywords:** ALP, Heparin Plasma, Serum, Temperature, Time

### ABSTRAK

Salah satu tahapan pemeriksaan laboratorium adalah tahapan pra analitik, dimana tahapan tersebut memiliki persentase kesalahan yang paling besar, yaitu sebesar 68%. Pemeriksaan aktivitas enzim alkali fosfatase merupakan salah satu pemeriksaan untuk mengetahui adanya kelainan, penyakit, dan kerusakan pada jaringan hati. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui stabilitas aktivitas enzim ALP pada serum dan plasma heparin pada suhu ruang. Penelitian ini merupakan *quasy eksperimental* dengan memberi perlakuan berupa penyimpanan sampel serum dan plasma heparin selama 10, 12, dan 14 jam pada suhu ruang yang kemudian aktivitas enzim dibandingkan dengan aktivitas pada sampel segera diperiksa, Didapatkan 64 data pemeriksaan yang diolah menggunakan SPSS dengan uji *general linear model* (GLM). Penelitian ini mendapatkan hasil uji GLM sampel serum dengan variasi lama simpan 10, 12, dan 14 jam menunjukkan nilai sig. 0,220, 0,262, dan 0,062. Sedangkan pada sampel plasma heparin menunjukkan nilai sig. 0,118, 0,271, dan 0,053 (Sig.>0,05). Sehingga dapat dihasilkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara variasi lama simpan dengan pemeriksaan segera. Hasil uji GLM antara sampel serum dan plasma heparin pada pemeriksaan segera, setelah 10, 12, dan 14 jam menunjukkan nilai sig. 0,054, 0,080, 0,050,

dan 0,136 (Sig.> 0,05). Maka, tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada setiap variasi lama simpan. Maka, dari penelitian ini disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan antara stabilitas aktivitas enzim pada serum dan plasma heparin, yaitu tetap stabil hingga 14 jam pada suhu ruang.

**Kata kunci:** ALP, Plasma Heparin, Serum, Suhu, Waktu

## PENDAHULUAN

Kemajuan teknologi laboratorium klinik telah banyak membantu mencapai hasil pemeriksaan yang cepat dan akurat. Namun, laboratorium tidak akan lepas dari adanya kerjasama dengan teknisi dan klinisi yang membutuhkan hasil laboratorium. Hasil laboratorium yang baik harus disertai dengan tahapan – tahapan yang tepat. Terdapat tiga tahapan dalam pemeriksaan laboratorium, yaitu tahapan pra analitik, analitik, dan pasca analitik. Kesalahan pada tahap pra analitik memiliki kontribusi paling besar dalam kesalahan pemeriksaan laboratorium yaitu sebesar 68%.<sup>1</sup>

Dalam praktik di laboratorium, penundaan pemeriksaan sering terjadi karena keterbatasan jumlah tenaga laboran, sehingga sampel perlu disimpan terlebih dahulu. Penyimpanan dan suhu simpan harus diperhatikan. Pada beberapa keadaan seperti terjadinya kerusakan pada alat pendingin dan listrik yang padam, sampel disimpan pada suhu ruang dalam beberapa waktu.

Pemeriksaan alkali fosfatase (ALP) merupakan salah satu pemeriksaan untuk mengetahui fungsi hati dengan mengukur kadar enzim sebagai penanda adanya penyakit pada hati atau gangguan tulang. DGKC (*German Society of Clinical Chemistry*) dan SCE (*Scandinavian Society of Clinical Chemistry*) merekomendasikan DEA sebagai metode yang digunakan dalam pemeriksaan ALP dengan bahan pemeriksaan berupa serum atau plasma heparin.<sup>2</sup> DEA memiliki kondisi terbaik dalam hal aktivasi dan kapasitas buffering ketika p-nitrophenylphosphat digunakan sebagai substrat.<sup>3</sup> Penggunaan antikogulan heparin pada pemeriksaan ALP pada plasma disebabkan oleh sifat heparin yang

tidak akan mengikat kofaktor Zn yang terdapat pada enzim ALP, sehingga heparin tidak akan mempengaruhi reaksi enzim ALP.<sup>4</sup>

Berdasarkan kit BIOLABO, Stabilitas sampel serum dan plasma heparin untuk pemeriksaan aktivitas enzim ALP pada suhu refrigerator (2 - 8°C) adalah selama 2 – 3 hari, sedangkan jika disimpan pada freezer (- 25°C), sampel stabil selama 1 bulan.<sup>5</sup> ALP pada sampel serum tetap stabil selama 1 bulan saat disimpan pada suhu - 20°C setelah serum disimpan pada suhu 4°C selama 6 hari.<sup>6</sup> Sedangkan aktivitas enzim ALP pada sampel serum yang diinkubasi pada suhu 37°C menurun sebesar 3 – 4% permenit dan terjadi inaktivasi enzim pada setiap peningkatan masa inkubasi.<sup>7</sup> Aktivitas enzim ALP pada sampel serum atau plasma heparin yang disimpan pada suhu 21°C tetap stabil selama 10 jam.<sup>8</sup>

Pada saat pemeriksaan di laboratorium, sampel disimpan selama lebih dari 10 jam pada suhu ruang sebagai konfirmasi untuk pemeriksaan keesokan harinya. Oleh karena itu, peneliti memilih variasi lama simpan yang dilakukan 10, 12, dan 14 jam dengan penyimpanan pada suhu ruang yang bertujuan untuk mengetahui apakah sampel yang disimpan selama lebih dari 10 jam tetap stabil, baik pada sampel serum maupun plasma heparin.

Berdasarkan latar belakang tersebut, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian dengan judul “Perbedaan Stabilitas Aktivitas Enzim Alkali Fosfatase pada Serum dan Plasma Heparin pada Suhu Ruang” yang bertujuan untuk mengetahui stabilitas aktivitas enzim ALP pada serum dan plasma heparin pada suhu ruang.

## METODE

Jenis penelitian yang dilakukan adalah eksperimen laboratorium dengan menggunakan desain penelitian berupa *quasy experimental* dengan memberikan perlakuan penundaan pada sampel serum dan plasma heparin setelah sentrifugasi selama 10, 12, dan 14 jam sebelum dilakukan pemeriksaan aktivitas enzim ALP yang kemudian akan dibandingkan dengan sampel yang segera diperiksa.

Pemeriksaan aktivitas enzim ALP dilakukan dengan metode Diethanolamin (DEA) dengan alat dan bahan sebagai berikut.

**Tabel 1. Alat dan Bahan Penelitian**

No	Alat	Bahan
1	Perlengkapan pengambilan darah	Sampel darah vena
2	Tabung plasma heparin	Kontrol Serum
3	Tabung SST	Reagen Pmeriksaan
4	Mikrotube	Aquades
5	Sentrifugasi	
6	Fotometer	
7	Tabung Reaksi	
8	Mikropipet dan Tip Pipet	
9	Rak Tabung Reaksi	

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Klinik Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Bandung pada bulan Mei 2023 dengan menggunakan sampel berupa serum dan plasma heparin dari 4 populasi yang sudah didapatkan dengan persetujuan. Penelitian dilakukan dengan membagi sampel menjadi 8 kelompok perlakuan, yaitu sampel serum dan plasma heparin yang dilakukan penyimpanan selama 0, 10, 12 dan 14 jam pada suhu ruang.

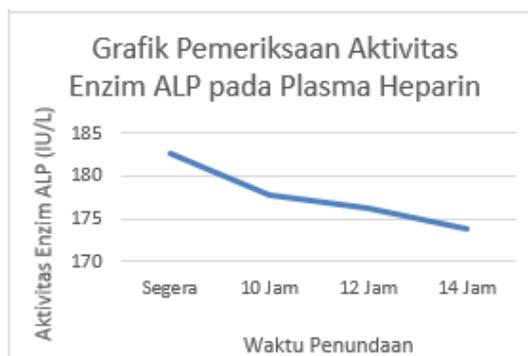
Data yang digunakan dalam penelitian ini adalah data primer yang diperoleh dari hasil pemeriksaan aktivitas enzim ALP pada sampel plasma heparin dan serum yang telah dilakukan penyimpanan selama 0, 10, 12, dan 14 jam. Data yang diperoleh adalah data primer dengan skala data rasio. Analisis statistik dilakukan dengan menggunakan program IBM SPSS Statistics 26 *for windows* untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan aktivitas enzim ALP pada setiap variasi waktu dan perbedaan stabilitas aktivitas enzim ALP pada sampel serum dan plasma heparin. Uji normalitas yang digunakan dalam penelitian ini adalah uji Shapiro – Wilk untuk melihat apakah data berdistribusi normal atau tidak. Kemudian dilanjutkan dengan uji *General Linear Model* (GLM) untuk mengetahui perbedaan dari kedua kelompok data.

## HASIL

**Tabel 2. Hasil Pemeriksaan Serum Kontrol ALP**

No.	1	2	3	4	5	6	7	8
Hasil Kontrol	273	292	286	273	285	273	276	274

Pada Tabel 1, dapat terlihat bahwa hasil tersebut masuk ke dalam rentang  $\pm 1$  SD untung pemeriksaan aktivitas enzim ALP ( $\pm 1$  SD =273 – 307 IU/L), maka pemeriksaan dapat dilakukan pada sampel.



**Gambar 1. Hasil Pemeriksaan Aktivitas Enzim ALP pada Serum; Gambar 2. Hasil Pemeriksaan Aktivitas Enzim ALP pada Plasma Heparin**

Dari Gambar 1 dan Gambar 2, menunjukkan bahwa dari masing – masing kelompok perlakuan mengalami penurunan seiring dengan lamanya penundaan pemeriksaan.

Data dianalisis secara statistik dengan menggunakan SPSS untuk mengetahui stabilitas aktivitas enzim ALP pada serum dan plasma heparin yang disimpan hingga 14 jam pada suhu ruang. Dilakukan uji normalitas Shapiro-Wilk dan didapatkan hasil Sig. pada setiap variabel pemeriksaan adalah  $>0,05$ , maka uji dilanjutkan dengan uji *general linear model* (GLM) dengan hasil sebagai berikut.

**Tabel 3. Uji GLM Aktivitas Enzim ALP pada Serum**

Source	Faktor1	Sig.
Segera	10 Jam	.220
	12 Jam	.262
	14 Jam	.062

Berdasarkan Tabel 2, terlihat bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara aktivitas enzim ALP pada serum setelah penyimpanan 10, 12, dan 14 jam dengan pemeriksaan segera yang ditunjukkan dengan nilai nilai Sig. 0,220, 0,262, dan 0,062. (Sig. $>$  0,05).

**Tabel 4. Uji GLM Aktivitas Enzim ALP pada Plasma Heparin**

Source	Faktor1	Sig.
Segera	10 Jam	.118
	12 Jam	.271
	14 Jam	.053

Berdasarkan Tabel 3, terlihat bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara

aktivitas enzim ALP pada serum setelah penyimpanan 10, 12, dan 14 jam dengan pemeriksaan segera yang ditunjukkan dengan nilai nilai Sig. 0,118, 0,271, dan 0,053 (Sig.  $>$  0,05).

**Tabel 5. Uji GLM Aktivitas Enzim ALP pada Serum dan Plasma Heparin**

Source	Faktor1	Perlakuan	Sig.
Serum	Plasma Heparin	Segera	.054
		10 Jam	.080
		12 Jam	.050
		14 Jam	.163

Berdasarkan tabel 4 tersebut dapat terlihat bahwa nilai Sig. pada sampel plasma heparin terhadap sampel serum pada pemeriksaan segera, 10, 12 dan 14 jam adalah 0.054, 0.080, 0.050, dan 0.163. Dengan demikian, Sig.  $>$ 0,05. Maka, tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada variasi sampel

## PEMBAHASAN

Penelitian ini dimulai dengan melakukan pemeriksaan bahan kontrol serum. Mutu hasil suatu pemeriksaan pada laboratorium salah satunya dipengaruhi oleh kontrol kualitas internal, sehingga hasil pemeriksaan dapat dipertanggung jawabkan. Dalam hal ini, hasil dari *quality control* akan menunjukkan bahwa pemeriksaan yang dilakukan peneliti adalah baik dan benar. Dari hasil *quality*

*kontrol* yang telah dilakukan pada setiap perlakuan pemeriksaan, didapatkan nilai kontrol pada rentang  $\pm 1SD$ . Maka, hasil tersebut menunjukkan bahwa alat, reagen, dan cara kerja serta metode yang digunakan telah terkondisikan dengan baik dan hasil dapat dipercaya.

Pada uji *general linear model* (GLM) didapatkan hasil bahwa pada setiap perlakuan pada penelitian ini tidak terdapat perbedaan yang signifikan dengan ditandai oleh nilai Sig. pada uji GLM  $> 0,05$  baik pada sampel serum maupun plasma heparin. Sehingga, baik serum maupun plasma heparin tidak memiliki perbedaan stabilitas pada aktivitas enzim ALP yang dilakukan perlakuan penundaan pemeriksaan hingga 14 jam pada suhu ruang.

Hasil tersebut sejalan dengan penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa aktivitas enzim ALP tetap stabil setelah disimpan selama 10 jam.<sup>8</sup> Kemudian, sejalan juga dengan penelitian berjudul *Stability Studies of Common Biochemical Analytes in Serum Separator Tubes With or Without Gel Barrier Subjected to Various Storage Conditions* yang menyatakan bahwa aktivitas enzim ALP tetap stabil selama 72 jam baik pada sampel serum pada suhu ruang (24°C).<sup>9</sup>

Suhu merupakan salah satu faktor dalam efektifitas kerja enzim. Enzim akan bekerja pada suhu optimum, dimana suhu optimum merupakan suhu pada saat laju reaksi enzim bekerja paling cepat.<sup>10</sup> Setiap enzim memiliki suhu optimum yang berbeda. Enzim ALP memiliki suhu optimum pada suhu tubuh, yaitu 37°C. Pada suhu jauh di bawah suhu optimum, seperti 0 °C, reaksi enzim berjalan lambat dan enzim menjadi tidak aktif, sedangkan pada suhu di atas suhu optimum ( $> 37^\circ\text{C}$ ), enzim akan terdenaturasi dan mengubah fungsi, struktur, dan bentuk enzim.<sup>11</sup> Aktivitas enzim ALP pada human sera akan mengalami inaktivasi jika berada pada suhu  $> 65^\circ\text{C}$ . Maka, suhu spesimen harus dijaga agar aktivitas enzim tetap terbaca sesuai dengan aktivitas pada tubuh.<sup>12</sup>

Enzim tidak menunjukkan reaksi dan tidak mengalami kerusakan jika suhu turun hingga 0°C, bila suhu kembali pada suhu optimal, maka enzim akan aktif kembali.<sup>13</sup> Pada penelitian ini, dilakukan penundaan pemeriksaan selama 10, 12, dan 14 jam yang disimpan pada suhu ruang (25 - 26°C), sehingga enzim pada sampel serum dan plasma heparin tidak menunjukkan reaksi dan juga tidak mengalami kerusakan. Maka, enzim tetap stabil.

Walaupun tidak terdapat perbedaan yang signifikan secara statistik pada variasi waktu penundaan, namun terdapat perbedaan nilai rata-rata pada pemeriksaan dengan penundaan 10, 12, dan 14 jam terhadap pemeriksaan yang segera dilakukan. Perbedaan tersebut menunjukkan adanya penurunan pada variasi waktu penundaan 10, 12, dan 14 jam. Persentase penurunan pada sampel serum pada masing – masing variasi waktu penundaan terjadi sebesar 0,030%; 0,037%; dan 0,067%. Sedangkan pada sampel plasma heparin adalah sebesar 0,027%; 0,035%; dan 0,049%.

Hal ini juga terjadi pada salah satu penelitian, dimana terjadi penurunan aktivitas enzim ALP secara grafik setelah sampel disimpan selama 30 hari pada suhu refrigerator.<sup>6</sup> Terjadinya penurunan dapat terjadi karena adanya perubahan aktivitas enzim yang disebabkan oleh penyimpanan sampel. Semakin lama penundaan pemeriksaan, maka sebagian enzim yang ada di dalam serum akan terdenaturasi akibat penyimpanan.<sup>14</sup>

Semakin lama penyimpanan, kondisi lingkungan selama spesimen disimpan tidak selalu stabil, kondisi lingkungan tersebut dapat mempengaruhi aktivitas enzim. Terdapat beberapa faktor yang dapat mempengaruhi aktivitas enzim yang salah satunya adalah lama waktu penyimpanan sampel.<sup>15</sup>

Faktor lain yang dapat mempengaruhi aktivitas enzim diantaranya adalah konsentrasi substrat, konsentrasi enzim, suhu, kofaktor, dan inhibitor.<sup>16</sup> Konsentrasi substrat sebanding dengan kecepatan reaksi enzim, yaitu jika konsentrasi substrat rendah, maka

kecepatan reaksi pun akan rendah.<sup>11</sup> Begitupun dengan kecepatan enzim, kecepatan reaksi enzim akan bertambah seiring dengan bertambahnya konsentrasi enzim pada suatu konsentrasi substrat tertentu. Dalam reaksi enzimatik, kenaikan laju reaksi berbanding lurus dengan konsentrasi enzim bila konsentrasi substrat tetap. Sedangkan kenaikan laju reaksi akan berbanding lurus dengan konsentrasi substrat jika konsentrasi enzim tetap.<sup>17</sup>

Adapun faktor lain yang mempengaruhi hasil pemeriksaan aktivitas enzim ALP secara teknis, yaitu adanya ketidaktepatan dalam pemipetan, kurangnya homogenitas, serta adanya gelembung udara pada saat melakukan pemeriksaan menggunakan fotometer.

Dalam penelitian ini, berdasarkan hasil analisis pada tabel 4, didapatkan hasil  $p > 0,05$  dengan nilai  $p = 0,054; 0,05; 0,080;$  dan  $0,136$ . Maka, tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada sampel serum dan plasma heparin pada setiap variasi waktu penundaan pemeriksaan. Sehingga, dapat dikatakan bahwa stabilitas antara serum dan plasma heparin sama, yaitu tetap stabil selama 14 jam. Namun, aktivitas enzim ALP pada serum lebih tinggi dibanding dengan aktivitas pada plasma heparin. Hal ini sejalan dengan penelitian yang menyatakan bahwa konsentrasi metabolit akan mengalami perubahan yang disebabkan oleh sel-sel darah dalam proses pembekuan pada pembuatan serum. Sehingga, konsentrasi aktivitas enzim dalam serum menjadi lebih tinggi dibandingkan dengan konsentrasi aktivitas enzim dalam plasma heparin.<sup>18</sup> Maka, baik serum maupun plasma heparin dapat digunakan sebagai sampel jika disimpan selama 14 jam pada suhu ruang

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara aktivitas ALP yang segera dan ditunda selama 10, 12, dan 14 jam yang disimpan pada suhu ruang baik pada serum maupun plasma heparin dan tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara stabilitas aktivitas enzim

ALP pada serum dan plasma heparin, yaitu tetap stabil sampai 14 jam.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Sinaga E. *Biokimia Dasar*. 1st ed. ISFI; 2012.
2. Lowe D, Sanvictores T, Zubair M, John S. *Alkaline Phosphatase*.; 2022.
3. Fatimah SR. *Uji Diagnostik Rasio Bilirubin Cairan Pleura/Serum Dan Rasio Alkali Phosphatase Airan Pleura/Serum Untuk Membedakan Efusi Pleura Eksudat Dan Transudat*. Universitas Surakarta; 2021.
4. Thapa BR, Walia A. Liver function tests and their interpretation. *The Indian Journal of Pediatrics*. 2007;74(7):663-671. doi:10.1007/s12098-007-0118-7
5. Biolabo. Kit Inset Alkaline Phosphatase (DEA). Published online 2019.
6. Chua C, Tiffigiu E, Boroujeni AM, et al. *Stability of Values for the Activities of Critical Enzymes Assayed in Serum Frozen for Prolonged Time Periods*.; 2018. www.annclinlabsci.org
7. Karbhari N, Karbhari D, Kochar M, Patel S. Effect of incubation period on measurement of alkaline phosphatase enzyme activity at 37°C. *Int J Med Sci Public Health*. 2017;6(5):1. doi:10.5455/ijmsph.2017.1270115022017
8. Henriksen LO, Faber NR, Moller MF, Nexø E, Hansen AB. Stability of 35 biochemical and immunological routine tests after 10 hours storage and transport of human whole blood at 21°C. *Scand J Clin Lab Invest*. 2014;74(7):603-610. doi:10.3109/00365513.2014.928940
9. Cuhadar S, Atay A, Koseoglu M, Dirican A, Hur A. Stability studies of common biochemical analytes in serum separator tubes with or without gel barrier subjected to various storage conditions. *Biochem Med (Zagreb)*. 2012;22(2):202-214. doi:10.11613/BM.2012.023
10. Nurkhotimah N, Yuliati E, Rahmawati A. Pengaruh Suhu dan pH terhadap Aktivitas Enzim Fosfatase Bakteri Termofilik Sungai Gendol Pasca Erupsi

- Merapi. *Kingdom (The Journal of Biological Studies)*. 2017;6(8):465-471. doi:10.21831/kingdom.v6i8.7891
11. Wahyudiati D. *Biokimia*. 1st ed. Leppim Mataram; 2017.
  12. Sharma U, Pal D, Prasad R. Alkaline phosphatase: an overview. *Indian J Clin Biochem*. 2014;29(3):269-278. doi:10.1007/s12291-013-0408-y
  13. Harahap F. *Fisiologis Tumbuhan : Suatu Pengantar*. Unimed Press; 2012.
  14. Sardini S. Uji Kinerja Photometer 4010. *Prosiding Pertemuan dan Presentasi Ilmiah Fungsional Teknis Non Peneliti*. Published online 2007.
  15. Suryono. *Metodologi Penelitian Keperawatan.*; 2011.
  16. Ferrier DR. *Biokimia Ulasan Bergambar*. 7th ed. Buku Kedokteran EGC; 2018.
  17. Budiman F, Thomas Gozali IH, Neneng Suliasih I. *Pengaruh Konsentrasi Enzim Papain (Carica Papaya L) dan Suhu Fermentasi Terhadap Karakteristik Crackers*. Teknologi Pangan Universitas Pasundan. 2016.
  18. Prabaningtyas DA, Anggraini H, Faruq ZH. Perbedaan Alkali Fosfatase Serum dan Plasma Heparin. *Prosiding Seminar Nasional Mahasiswa Unimus*. Published online 2018:163-165.