ISSN 2621-0878

Temapela

JURNAL
TEKNOLOGI DAN MANAJEMEN PENGELOLAAN LABORATORIUM

Published by
UNIVERSITAS ANDALAS

Jurnal Teknologi dan Manajemen Pengelolaan Laboratorium (Temapela) ISSN 2621-0878
Volume.4 No.1, Mei 2021
TERAKREDITASI RISTEKDIKTI No SK : 36/E/KPT/2019

PENGARUH PENGGUNAAN LARUTAN ASAM *TRIKLOROASETAT* TERHADAP KADAR *MALONDIALDEHID* PLASMA DARAH SEBELUM DAN SETELAH DISIMPAN PADA TEMPERATUR RENDAH

Putjha Melati[1*)], Devirizanty[2),] Elvira Yunita[3)]

[123] PLP Laboratorium Riset, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Bengkulu, Bengkulu 38371

*Email: putjha.m@unib.ac.id

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penggunaan larutan Asam Trikloroasetat (TCA) terhadap kadar Malondialdehid (MDA) Plasma Darah sebelum dan setelah disimpan pada temperatur rendah. Uji Kadar Malondialdehid (MDA) dilakukan dengan metode uji thiobarbituric acid-reactive substance (TBARS) dengan menggunakan Spektrofotometer. Analisis data dilakukan secara statistik dengan menggunakan Uji t. Hasil Uji menunjukkan bahwa TCA yang disimpan pada suhu dingin lebih menunjukkan hasil perubahan warna dibandingkan dengan penggunaan TCA yang disimpan dengan suhu ruang yang tidak mengalami perubahan warna setelah diberikan larutan Thiobarbituric acid (TBA) dan dipanaskan. Nilai kadar MDA pada sampel yang menggunakan larutan TCA yang disimpan pada suhu dingin lebih besar dibandingkan dengan sampel yang menggunakan larutan TCA yang disimpan pada suhu ruang. Hasil uji statistik pada uji t menunjukkan hasil bahwa t hitung > t tabel dan $p < 0,05$ maka disimpulkan bahwa adanya pengaruh dan perbedaan yang signifikan antara sampel yang menggunakan larutan TCA yang disimpan pada suhu dingin dengan sampel yang menggunakan larutan TCA yang disimpan pada suhu ruang. Dari hasil penelitian tersebut, maka perlu penelitian lanjutan untuk memvalidasi metode yang digunakan sehingga data yang diperoleh telah divalidasi dan dapat digunakan sebagai acuan metode praktikum dan penelitian uji kadar MDA di Laboratorium Riset, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan (FKIK), Universitas Bengkulu.

Kata Kunci: Monitoring, Kualitas Udara, Laboratorium, *Wireless Sensor Network*, SIONLAP

Abstract

This study aims to determine the effect of using a solution of Trichloroacetic Acid (TCA) on the levels of Malondialdehyde (MDA) in Blood Plasma before and after being stored at low temperatures. Malondialdehyde (MDA) level test was carried out using the thiobarbituric acid-reactive substance (TBARS) test method using a spectrophotometer. Data analysis was carried out statistically using the t test. The test results showed that TCA stored at cold temperatures showed more color changes compared to the use of TCA stored at room temperature which did not change color after being given a solution of Thiobarbituric acid (TBA) and heated. The value of MDA levels in samples using TCA solutions stored at cold temperatures was greater than samples using TCA solutions stored at room temperature. The results of the statistical test on the t test showed that t count > t table and $p < 0.05$, it was concluded that there was a significant effect and difference between samples using TCA solution stored at cold temperatures and samples using TCA solution stored at room temperature. room. From these results, further research is needed to validate the method used so that the data obtained has been validated and can be used as a reference for practicum methods and research on MDA levels at the Research Laboratory, Faculty of Medicine and Health Sciences (FKIK), Bengkulu University.

Keywords: *TCA, TBA, MDA, Spectrophotometer, Blood Plasma*

I. Pendahuluan

Laboratorium Riset Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan (FKIK), Universitas Bengkulu, telah menjadi tempat penelitian dan praktikum mahasiswa. Salah satunya untuk melakukan penelitian dan praktikum uji kadar Malondialdehid (MDA) pada plasma darah. Seringkali metode yang digunakan saat penggunaan larutan Asam Trikoloasetat (TCA) tidak menemukan metode yang pasti yaitu apakah dalam keadaan suhu ruang atau suhu dingin yang lebih baik dalam memberikan hasil pengujian. Oleh karena itu diharapkan hasil penelitian ini dapat menjadi pedoman sebagai metode dalam uji kadar MDA dalam penggunaan larutan TCA.

Malondialdehid (MDA) telah digunakan sejak lama sebagai biomarker atau indikator biologis yang tepat dan akurat untuk menentukan stres

Received 22 Februari 2021; Revised 17 Desember 2021; Accepted 27 Januari 2022

oksidatif pada suatu klinis/penyakit (Zahara, 2017). Pengujian MDA menggunakan metode thiobarbituric acid reactive subtance (TBARS) yang dilakukan dengan cara spektrofotometri (Konig dan Berg, 2002), hal ini dikarenakan TBA mudah bereaksi dengan MDA (Zahara, 2017). TBA memiliki nilai kepekaan yang tinggi terhadap radikal bebas dan mudah diaplikasikan untuk sampel dalam berbagai tahap oksidasi. TBA akan bereaksi dengan gugus karboksilat dari MDA melalui penambahan nukleofilik membentuk kompleks MDA-TBA dalam suasana asam dan membentuk warna merah muda (Jetawattana, 2005). Metode TBA menggunakan larutan TCA (Asam Trikloroasetat) 10%, TBA 0,67% dan asam asetat glasial 50%. TCA berfungsi untuk mengendapkan protein yang terdapat di dalam plasma, sedangkan TBA berfungsi sebagai pengikat MDA pada plasma. TBA akan bereaksi dengan MDA dalam kondisi asam pada suhu 95 oC. Oleh karena itu, dilakukan penambahan asam asetat glasial dan inkubasi pada sampel (Andiriyani, 2014).

Praktikum uji MDA menurut Jusman (2000), digunakan larutan TCA 10% pada suhu dingin yaitu pada suhu 4 °C, namun pada beberapa praktikum dan penelitian lain ditemukan pula menggunakan larutan TCA pada suhu ruang (Andiriyani, 2014) dan (Wibowo, 2013). Penggunaan larutan TCA pada suhu ruang tidak perlu mendinginkan terlebih dahulu sebelum pengujian, sehingga dapat langsung digunakan dibandingkan penggunaan larutan TCA pada suhu dingin yang harus didinginkan terlebih dahulu didalam lemari pendingin suhu 4 °C. Belum adanya pengujian atau penelitian mengenai pengaruh penggunaan TCA dengan suhu penyimpanan yang berbeda (suhu dingin dan suhu ruang) terhadap kadar MDA, maka perlu dilakukan penelitian sebagai acuan pelaksanaan kegiatan praktikum dan penelitian uji kadar MDA di Laboratorium FKIK Unib. Diharapkan kegiatan praktikum atau penelitian uji kadar MDA di Laboratorium FKIK Unib dapat menghasilkan data yang valid.

Penelitian ini juga bertujuan meneliti metode pengujian kadar MDA pada plasma darah mahasiswa FKIK Unib dan menguji pengaruh penggunaan larutan TCA terhadap kadar MDA plasma darah mahasiswa FKIK Unib sebelum dan setelah disimpan pada suhu dingin. Hasil dari penelitian ini memberikan bukti ilmiah sebagai acuan praktikum atau penelitian Uji MDA pada plasma darah manusia yang dilakukan di laboratorium Riset FKIK Unib, sehingga menghasilkan data praktikum dan penelitian yang valid.

II. Metode Penelitian

Kegiatan penelitian dilakukan di Laboratorium Biomedik dan Riset Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan (FKIK), Universitas Bengkulu.

Alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi Timbangan Analitik (Bell), Freezer -40 °C (ThermoScience), Spektrofotometer (Apel PD 303S), Sentrifuge (EBA), Tabung Sentrifuge, Kuvet, Waterbath (Lab Companion BS-11), Tabung reaksi (Pyrex), Labu Ukur (Pyrex), Tabung sentrifuge, Tabung EDTA, Mikrotube, Rak Mikrotube, Spuit 5 cc, Torniket, Rak tabung reaksi, Mikropipet 200 µL (Eppendorf), Mikropipet 1000 µL (Eppendorf), Mikrotip, Gelas kimia, Termometer, Pipet tetes, Penjepit, Tisu, Sudip, Batang pengaduk, Kerta label, Aluminium Foil dan Alkohol Swab.Bahan yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya, Asam Tiobarbiturik (TBA) (Merck), Asam trikoloasetat (TCA) (Merck) , Asam Asetat (teknis), Aquadest , Plasma Darah, Alkohol 70% (teknis), dan Batu Es.

2.1 Pengambilan Sampel Darah

Darah mahasiswa FKIK yang mengikuti praktikum Uji MDA diambil sebanyak 1 sampel dari tiap 5 kelompok praktikum. Pengambilan sampel darah dilakukan pada vena mediana kubiti, atau vena yang terletak pada lengan atas, adapun alat dan bahan yang digunakan adalah spuit 5 cc, darah diambil sebanyak 4 cc kemudian dimasukkan kedalam tabung sentrifuge kosong berisi EDTA sebagai antikoagulan dan dilakukan pemisahan plasma darah. Selanjutnya sampel darah disentrifugasi pada kecepatan 3500 rpm selama 5 menit. Cairan plasma darah yang telah terpisah dari bagian padat darah dipindahkan ke mikrotube kosong. Plasma darah kemudian disimpan pada mesin pendingin -40 °C sebelum dikerjakan di laboratorium untuk pemeriksaan MDA (Mudassir, 2012).

2.2. Pengukuran Kadar MDA dengan metode TBARS

Pengukuran kadar MDA dilakukan pada 5 sampel A dengan TCA di suhu ruang, dan 5 sampel B dengan TCA di suhu dingin. Uji MDA dengan metode TBARS adalah menggunakan TCA 10 % dan TBA 0,67 % dengan Asam Asetat 50% dan dengan cara kerja pada tabel 1.

***Tabel 1**. Cara kerja uji kadar MDA (Jusman, 2000)*

Bahan	Uji	Blanko
Supernatan A	0,25 ml	-
Aquadest	-	0,25 ml
	0,50 ml	0,50 ml

Larutan TCA 10% (suhu ruang dan suhu dingin)	Larutan dihomogenkan, disentrifugasi dengan kecepatan 3500 rpm selama 5 menit, dan diambil supernatannya.	
Larutan TBA 0,67%	0,75 ml	0,75 ml
	Larutan dihomogenkan kemudian dimasukkan ke penangas mendidih (100 ^{0}C) selama 10 menit, dinginkan, dibaca dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 532 nm.	

Perhitungan kadar MDA menggunakan rumus berikut (Jusman, 2000):

$\Delta A = C.\varepsilon.\ l$

Kadar MDA (C) = A / ε **(1)**

Keterangan:

ΔA = selisih absorbansi sampel dan blanko.

ε = 1,53 x 105 M-1 cm-1

C = konsentrasi (mol/L plasma).

l = panjang/ jarak = 1 cm

2.3 Analisa Data

Data yang didapatkan dari perhitungan kadar MDA, dilanjutkan dengan analisis uji statistik Normalitas dan uji t, untuk melihat adanya pengaruh atau perbedaan antara perlakuan.

III. Hasil dan Pembahasan

3.1 Sampel Plasma Darah Mahasiswa Praktikum FKIK UNIB

Sampel darah mahasiswa untuk uji MDA diperoleh sebanyak 5 (lima) sampel dari 5 (lima) kelompok praktikum. Dari sampel darah tersebut dieperoleh plasma darah yang digunakan dalam pengujian. (Wibowo, 2013). Sampel plasma darah darah dibagi menjadi 2 kelompok terdiri dari 5 sampel untuk perlakuan yang menggunakan TCA 10% suhu ruang (sampel A) dan 5 sampel untuk perlakuan yang menggunakan TCA 10% di suhu dingin (sampel B). Sampel darah yang telah dimasukkan kedalam tabung EDTA disentrifus untuk mendapatkan plasma darahnya (Andiriyani, 2014). Plasma darah yang diperoleh dimasukkan ke dalam mikrotube dan disimpan di *refrigerator* pada suhu -40 ºC dan siap digunakan untuk pengujian selanjutnya (Mudassir, 2012).

3.2 Pengujian Kadar MDA dengan Metode TBARS

Pengujian kadar MDA dengan metode TBARS, plasma darah diberi larutan TCA 10% yang disimpan di suhu ruang (Sampel A) dan TCA 10% yang disimpan di suhu dingin (Sampel B), kemudian dilanjutkan untuk disentrifus. Setelah disentrifuse dapat dilihat perbedaan warna pada sampel (Andiriyani, 2014). Sampel yang diberikan larutan TCA 10% yang disimpan di suhu dingin (sampel B) memiliki warna agak kekuning-kuningan pada pellet, sedangkan sampel yang diberikan larutan TCA 10% yang disimpan pada suhu ruang (sampel A) memiliki warna putih pada pellet.

Setelah diberikan larutan TBA dan dipanaskan di waterbath pada suhu 100 ºC, diperoleh hasil yang berbeda pada kedua sampel, sampel B yang menggunakan larutan TCA 10% pada suhu dingin mengalami perubahan warna dari bening menjadi agak kekuning-kuningan, dibandingkan dengan sampel A yang menggunakan larutan TCA 10% pada suhu ruang berwarna bening seperti awal sebelum dipanaskan atau tidak mengalami perubahan warna.

Menurut Jusman (2000), supernatan plasma (setelah protein diendapkan dengan memberikan TCA sebelumnya), akan bereaksi dengan asam tiobarbiturat (TBA) dan menghasilkan kromofor berwarna merah muda yang dibaca dengan panjang gelombang 532 nm. Namun, dalam uji kali ini perubahan warna yang terjadi adalah berwarna kekuning-kuningan pada sampel B, sedangkan pada Sampel A tidak terjadi perubahan warna. Sehingga, Sampel B dengan penggunaan TCA 10% yang disimpan pada suhu dingin lebih menunjukkan hasil dibandingkan dengan Sampel A yang menggunakan TCA 10% yang disimpan pada suhu ruang.

Hasil pengukuran TBARS dilanjutkan pengukuran dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 532 nm dan diperoleh nilai Absorban (Jusman, 2000). Nilai Absorban dan nilai kadar MDA dari hasil pengukuran masing-masing sampel dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. *Data Nilai Absorban dan nilai kadar MDA Sampel A (TCA 10% suhu ruang) dan Sampel B (TCA 10% pada suhu dingin)*

No	Nama Sampel (A = TCA suhu ruang), (B = TCA suhu dingin)	Nilai Absorban	Kadar MDA (mmol/L)
1	Sampel 1.A	0,004	2,614.10-5
2	Sampel 1.B	0,103	6,732.10-4
3	Sampel 2.A	0,015	9,804.10-5
4	Sampel 2.B	0,196	1,281.10-3

5	Sampel 3.A	0,002	1,307.10-5
6	Sampel 3.B	0,103	6,732.10-4
7	Sampel 4.A	0,005	3,267.10-5
8	Sampel 4.B	0,073	4,771.10-4
9	Sampel 5.A	0,032	2,092.10-4
10	Sampel 5.B	0,150	9,804. 10-4

Dari tabel 2 dapat diketahui bahwa, nilai absorban sampel A lebih kecil dibandingkan dengan nilai absorban pada sampel B. Hal ini berkorelasi dengan hasil penggunaan TCA 10% pada suhu dingin (sampel B) lebih memberikan warna larutan sampel menjadi warna kekuning-kuningan dibandingkan dengan sampel A penggunaan TCA 10% pada suhu ruang yang berwarna bening (tidak terjadi perubahan warna).

Setelah nilai absorban diperoleh, maka didapatkan nilai kadar MDA plasma darah mahasiswa dengan perhitungan menggunakan rumus kadar MDA.

Selain itu, dari tabel 2 dapat diketahui bahwa nilai kadar MDA sesuai dengan nilai absorban yang diperoleh yaitu kadar MDA sampel A yang menggunakan TCA 10% pada suhu ruang lebih kecil dibandingkan dengan kadar MDA sampel B yang menggunakan larutan TCA 10% pada suhu dingin.

3.3 Analisis Data Statistik

Nilai Kadar MDA yang diperoleh, dilanjutkan dengan analisis uji statistik (Lampiran 1) untuk melihat adanya pengaruh atau perbedaan antara kedua perlakuan. Uji statitistik yang dilakukan adalah uji normalitas dan dilanjutkan dengan uji indepeden t (Wibowo, 2013). Hasil uji Normalitas diperoleh nilai sig > 0,05 maka diketahui bahwa data berdistribusi normal sehingga dapat dilanjutkan dengan uji parametrik *indipendent t test*. Hasil analisis uji t, diperoleh bahwa nilai t hitung > dari t tabel, maka $p < 0,05$ sehingga dapat disimpulkan bahwa H_0 ditolak dan H_1 diterima. Dari hasil analisis tersebut dapat diketahui bahwa terdapat pengaruh atau perbedaan signifikan diantara kedua perlakuan/variabel (Sampel A dengan Sampel B).

IV. Kesimpulan

Hasil uji MDA dengan metode TBARS secara spektrofotometer menghasilkan nilai Kadar MDA Sampel A yang menggunakan TCA 10% yang disimpan pada suhu ruang memiliki nilai yang lebih kecil dibandingkan dengan Kadar MDA Sampel B yang menggunakan TCA 10% yang disimpan pada suhu dingin. Sampel A yang menggunakan TCA 10% yang disimpan pada suhu ruang tidak mengalami perubahan warna setelah diberikan TBA dan dipanaskan, sedangkan Sampel B yang menggunakan TCA 10% yang disimpan pada suhu dingin mengalami perubahan warna menjadi kekuning-kuningan. Hasil uji statistik didapatkan nilai t hitung > dari t tabel, maka $p < 0,05$ sehingga menunjukkan bahwa adanya pengaruh atau perbedaan signifikan diantara kedua perlakuan/variabel (sampel A dengan Sampel B). Penggunaan TCA 10% yang disimpan pada suhu dingin lebih memberikan hasil dibandingkan penggunaan TCA 10% yang disimpan pada suhu ruang. Penelitian ini perlu adanya penelitian selanjutnya untuk validasi metode yang digunakan sehingga dapat diterapkan sebagai acuan praktikum dan penelitian uji kadar MDA di lab FKIK UNIB.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terimakasih tak terhingga kepada semua pihak yang telah membantu penulis dalam penelitian ini, Lab Riset FKIK dan Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Bengkulu.

Daftar Pustaka

Andiriyani, Melda Mery. 2014. Skripsi. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Bawang Mekah (Eleutherine americana Merr.) Terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) Tikus (Rattus norvegicus) Wistar Jantan Pasca Paparan Asap Rokok. Pro gram Studi Farmasi Fakultas Kedokteran. Universitas Tanjung Pura, Pontianak.

Jetawattana, Suwirol. 2005. Malondialdehyde (MDA) a lipid oxidation product. Free Radicals in Biology and Medicine, Spring, 77:222.

Jusman Sri Widia A, Soewoto Hafiz, Sadikin Mohamad, Kurniati Vita, Wanandi Septelia Inawati, Retno Dwirini, Abadi Parwati, Prijanti Ani Retno, Harahap Indriati Pramodo. 2000. Biokimia: Eksperimen Laboratorium. Widya Medika: Jakarta.

Konig D, Berg A. 2002. Exercise and Oxidative Stress: is there a need for additional antioxidant. Osterreichisches J Fur Sportmedizin, 3:6-15

Mudassir. 2012. Analisis Kadar Malondialdehid (MDA) Plasma Penderita Polip Hidung Berdasarkan Dominasi Sel Infamasi Pada Pemeriksaan Histopatologi. Bagian Ilmu Kesehatan Telinga Hidung Tenggorok–Kepala Leher Fakultas Kedokteran. Universitas Hasanuddin, Makassar.

Wibowo, Tommy. 2013. Skripsi. Gambaran Malondialdehid (MDA) dalam Urin Perokok dan bukan Perokok pada Mahasiswa FKIK UIN Syarif Hidayatullah Jakarta Pada Tahun 2013. Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta.

Zahara, Nadinne Ilma. 2017. Skripsi. Pengaruh Pemberian Ektrak Semangka (Citrullus lanatus) terhadap kadar Malondialdehid Hepar pada Tikus Wistar Jantan dengan Diet Tinggi Lemak. Program Studi Kedoteran Fakultas Kdokteran Universitas Brawijaya, Malang.

Lampiran

Lampiran 1. Data yang diolah

Tabel 1. Data Nilai Absorban Sampel A (TCA suhu ruang)

No	Nama Sampel (A = TCA suhu ruang)	Nilai Absorban (A)	Kadar MDA (mmol/L)
1	Sampel 1.A	0,004	2,614.10-5
2	Sampel 2.A	0,015	9,804.10-5
3	Sampel 3.A	0,002	1,307.10-5
4	Sampel 4.A	0,005	3,267.10-5
5	Sampel 5.A	0,032	2,092.10-4

Tabel 2. Data Nilai Absorban Sampel B (TCA suhu dingin 4 ºC)

No	Nama Sampel (B = TCA suhu dingin 4 ºC)	Nilai Absorban (A)	Kadar MDA (mmol/L)
1	Sampel 1.B	0,103	6,732.10-4
2	Sampel 2.B	0,196	1,281.10-3
3	Sampel 3.B	0,103	6,732.10-4
4	Sampel 4.B	0,073	4,771.10-4
5	Sampel 5.B	0,150	9,804. 10-4

ISSN 2621-0878

Temapela

9 772621 087012