

PENGARUH BERPUASA TERHADAP KADAR BILIRUBIN TOTAL MAHASISWA DAN MAHASISWI FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS PADJADJARAN DENGAN METODE KOLORIMETRI (DIAZO) DAN DCA

Dinda Meviansyah¹, Rania Aisha Nuralisa¹, Adham Rizki A¹, Nadira Hasna P¹, Firda Riska R¹, Gabriella Livia¹, Riana Kamer¹, Rano Kurnia S¹, Dika Pramita D¹, Imam Adi¹

¹Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran

Sumedang KM 21 Jatinangor 45363 Telp. 022 7996200, Fax 022 7796200

Email : dinda17016@mail.unpad.ac.id

Diserahkan 16/07/2020, diterima 18/08/2020:

ABSTRAK

Bilirubin merupakan salah satu metabolit berupa pigmen kuning yang berasal dari perombakan heme pada hemoglobin. Bilirubin dibawa oleh darah menuju hati untuk dapat dikonjugasi dan diekskresikan. Adanya aktivitas berpuasa menyebabkan adanya kenaikan kadar bilirubin dalam darah oleh karena penurunan kapasitas pengikatan bilirubin oleh albumin untuk dapat dibawa menuju hati. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan kadar bilirubin sebelum berpuasa dan setelah berpuasa selama 12 jam pada mahasiswa dan mahasiswi Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran angkatan 2017. Penelitian dilakukan dengan metode pengukuran kadar bilirubin *pre-test* dan *post-test* yang kemudian hasilnya diuji dengan menggunakan uji *Paired T-Test* untuk mengetahui ada atau tidaknya efek puasa terhadap kadar bilirubin pria dan wanita dan uji *Independent T-Test* untuk membandingkan perbedaan kadar bilirubin pria dengan wanita. Dari hasil penelitian menggunakan uji *Paired T-Test* ini didapatkan nilai korelasi pada pria sebesar 0,001 dan nilai signifikansi 0,000, pada wanita didapatkan nilai korelasi 0,000 dan nilai signifikansi 0,000. Dari hasil penelitian menggunakan uji *Independent T-Test* didapatkan nilai rata-rata kenaikan bilirubin pria sebesar 0,7638 dan rata-rata kenaikan bilirubin wanita sebesar 0,2395 dengan nilai signifikansi 0,000. Dari hasil penelitian ini dapat ditarik kesimpulan bahwa terdapat kenaikan kadar bilirubin yang signifikan pada pria dan wanita, dan ada perbedaan yang signifikan pada kenaikan kadar bilirubin pria dan wanita.

Kata Kunci : bilirubin, kenaikan kadar bilirubin, berpuasa

ABSTRACT

Bilirubin is one of the metabolites in the form of yellow pigment derived from heme reshuffle on hemoglobin. Bilirubin is carried by the blood to the liver to be conjugated and excreted. Fasting activity causes an increase in bilirubin levels in the blood due to a decrease in the binding capacity of bilirubin by albumin to be carried to the liver. This research was conducted to determine the presence of differences in bilirubin levels before fasting and after fasting for 12 hours on the male and female students of the Faculty of Pharmacy, Padjadjaran University, 2017. The research was conducted with measurement methods of *pre-test* and *post-test* bilirubin levels which then the results were tested using *Paired T-Test* method to determine the effect of fasting on male and female bilirubin levels and using the *Independent T-Test* method to compare differences in male and female bilirubin levels. From the results of the study using the *Paired T-Test*, the correlation value in men was 0.001 and the significance value was 0,000, in women the correlation value was 0,000 and the significance value was 0,000. From the results of the study using the *Independent T-Test*, it was found that the average increase in male bilirubin was 0.7638 and the average increase in female bilirubin was 0.2395 with a significance value of 0.000. From the results of this study it can be concluded that the fasting activity for 12 hours causes a significant increase in bilirubin levels in men and women, and there are significant differences in the increase in male and female bilirubin levels.

Keywords : bilirubin, increased bilirubin, fasting

PENDAHULUAN

Hati merupakan organ viseral terbesar yang beratnya 1500 g (3lbs) berwarna merah tua (keadaan hidup). Fungsi utama hati diantaranya sekresi, penyimpanan (mineral, vitamin larut lemak), detoksifikasi, produksi panas, penyimpanan darah, dan metabolisme, termasuk diantaranya metabolisme bilirubin (Sloane, 2004).

Bilirubin itu sendiri merupakan pigmen kuning yang berasal dari perombakan heme pada hemoglobin dalam proses pemecahan eritrosit oleh sel retikulo endotel. (Hinds, et al, 2016). Adapun faktor yang mempengaruhi kadar bilirubin diantaranya aktivitas berpuasa.

Aktivitas berpuasa menyebabkan tubuh mengalami kekurangan asupan energi berupa glukosa, sebagai respon kekurangan energi tersebut tubuh akan merombak lemak (lipolisis) sebagai cadangan energi dalam tubuh menjadi asam lemak bebas dan gliserol. Asam lemak bebas yang terbentuk perlu diikat oleh albumin sehingga kapasitas albumin untuk berikatan dengan bilirubin tak terkonjugasi menurun. Kadar asam lemak bebas yang meningkat dapat menyebabkan menurunnya pengikatan bilirubin tak terkonjugasi ke albumin sehingga terdapat penurunan jumlah bilirubin tak terkonjugasi yang dibawa menuju hati untuk dimetabolisme (Lopardo, et al, 2013).

Selain itu, faktor lain yang dapat mempengaruhi kadar bilirubin dalam darah adalah enzim UGT1A1. Enzim UGT1A1 membantu darah untuk membawa bilirubin menuju hati yang nantinya akan dikonjugasi oleh asam glukoronat supaya dapat diekskresikan melalui cairan empedu yang dihasilkan kemudian dilepaskan ke usus. (Hinds

et al, 2016). Aktivitas dari enzim UGT1A1 itu sendiri memiliki perbedaan antara pria dan wanita dimana kadar enzim UGT1A1 pada pria lebih rendah dibanding wanita. (Lopardo, et al, 2013)

Berdasarkan faktor-faktor yang telah disebutkan, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh puasa terhadap kadar bilirubin total pria dan wanita serta melihat perbedaan kadar bilirubin total antara pria dan wanita akibat pengaruh puasa.

METODE

Subjek Penelitian

Subjek pada penelitian ini adalah mahasiswa/i Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran angkatan 2017 yang bersedia menjadi responden dan memenuhi kriteria inklusi. Kriteria inklusi dari penelitian ini adalah mahasiswa/i Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran angkatan 2017 berusia 19-29 tahun dengan suhu tubuh normal (36-37°C) masing-masing sebanyak 19 orang. Sedangkan, kriteria eksklusi dari penelitian ini adalah mahasiswa/i Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran angkatan 2017 yang mengidap *jaundice*, memiliki penyakit hati, mengkonsumsi antibiotik, OAT, aspirin, suplemen vitamin, kafein dengan dosis tinggi, alkohol dan merokok.

Pengukuran Kadar Bilirubin pre-test

Subjek dilarang mengonsumsi kafein berdosisi tinggi, multivitamin ataupun obat-obatan minimal satu minggu sebelum pengujian dilakukan dan diharuskan mengonsumsi makanan berat sekurang-kurangnya enam jam sebelum pengambilan darah. Lalu dilakukan pengambilan darah melalui vena sebanyak 5

mL. Darah disentrifugasi dan diambil bagian serum. Pengujian kadar bilirubin dalam serum darah menggunakan metode kolorimetri (diaz) + DCA dengan mencampurkan perbandingan antara reagen dan sampel (Tabel 1.1) dan menguji absorbansi dengan spektrofotometer, data absorbansi dihitung menggunakan ketentuan sebagai berikut :

$$KB(mg/dl) = (Abs - B)(s) \times 12,5$$

$$KB(\mu l/l) = (Abs - B)(s) \times 214$$

Keterangan :

KB = Kadar Bilirubin

Abs = Absorbansi

B = Blanko

Tabel 1 Reagen Pemeriksaan

Bahan/ Reagen	Pemeriksaan Normal	
	Sampel Blanko	Test
R1 + R2 (1:1)	-	1 ml
Reagen blanko	1 ml	-
Sampel	100 μ l	100 μ l

Keterangan :

Homogenkan dan diamkan campuran selama 10 menit (dalam ruang gelap) pembacaan absorbansi dilakukan maksimal 30 menit setelah pencampuran pada panjang gelombang 546 nm

Pengukuran Kadar Bilirubin post-test

Subjek dilarang mengonsumsi *caffeine* berdosisi tinggi, multivitamin ataupun obat – obatan minimal 1 minggu sebelum pengujian dilakukan dan diharuskan puasa minimal 12 jam, dengan hanya diperbolehkan mengonsumsi air putih, sebelum pengambilan darah. Setelah intervensi puasa 12 jam, dilakukan pengambilan darah melalui vena

sebanyak 5 ml. Darah disentrifugasi dan diambil bagian supernatannya (serum). Pengujian kadar bilirubin dalam serum darah menggunakan metode kolorimetri (diaz) + DCA dengan mencampurkan perbandingan antara reagen dan sampel (**Tabel 1**) dan baca absorbansinya dengan spektrofotometer. Data absorbansi dihitung menggunakan ketentuan sebagai berikut :

$$KB(mg/dl) = (Abs - B)(s) \times 12,5$$

$$KB(\mu l/l) = (Abs - B)(s) \times 214$$

Keterangan :

KB = Kadar Bilirubin

Abs = Absorbansi

B = Blanko

Analisis Data

Analisis data dilakukan dengan menggunakan *software Statistical Package for the Social Science* (SPSS). Data dianalisis menggunakan metode uji *Paired T – test* untuk mengetahui efek puasa terhadap kadar bilirubin pada pria dan wanita dan menggunakan metode uji *Independent T – test* untuk membandingkan perbedaan kadar bilirubin total antara pria dan wanita.

HASIL DAN DISKUSI

Penelitian menemukan bahwa intervensi puasa selama 12 jam menunjukkan adanya kenaikan bilirubin pada pria dan wanita yang signifikan karena pada saat puasa asam lemak, yang merupakan hasil metabolisme trigliserida, di dalam darah akan terikat pada albumin sehingga menyebabkan bilirubin yang terikat pada albumin berkurang. Bilirubin yang terikat pada albumin akan dibawa ke hati dan dikonversi menjadi bilirubin terkonjugasi dengan asam glukoronat oleh bantuan enzim UGT1A1 yang dapat diekskresi. Kedua hal

tersebut menjadi faktor utama penelitian karena jumlah asam lemak yang termetabolisme dan aktivitas enzim UGT1A1 akan menentukan konsentrasi kadar bilirubin yang bertahan di dalam darah.

Intervensi puasa yang diberikan selama 12 jam pada pria dan wanita, masing-masing, menunjukkan hubungan dengan kenaikan kadar bilirubin dengan nilai yang signifikan pada (Tabel 2) menggunakan analisis uji *Paired T-test* antara *pre-test* dan *post-test* yang telah dilakukan.

Penelitian menunjukkan hasil yang serupa dengan penelitian yang dilakukan oleh Lopardo, *et al* tahun 2013. Penelitian menyatakan bahwa peningkatan kadar bilirubin total ketika berpuasa dapat disebabkan oleh beberapa faktor. Salah satu faktor yang sangat berpengaruh yaitu penurunan kapasitas ikatan bilirubin – albumin oleh asam lemak bebas. Hal ini dikarenakan aktivitas berpuasa menyebabkan tubuh mengalami kekurangan asupan energi, sebagai respon kekurangan energi tersebut maka tubuh merombak lemak sebagai cadangan energi dalam tubuh menjadi asam lemak bebas.

Asam lemak bebas dapat diikat oleh albumin sehingga kapasitas albumin untuk berikatan dengan bilirubin tak terkonjugasi menurun. Kadar asam lemak bebas yang meningkat dapat menyebabkan menurunnya pengikatan bilirubin tak terkonjugasi ke albumin sehingga bilirubin tak terkonjugasi tidak dapat dibawa menuju hati untuk dimetabolisme. Hal ini yang menyebabkan peningkatan metabolisme asam lemak merupakan salah satu faktor penanda kenaikan kadar serum bilirubin total. Peningkatan kadar

bilirubin merupakan hasil dari ketidakseimbangan metabolisme dalam hati yang tercantum dalam Stevenson, *et al*, 2011 dimana pengidap penyakit hati mengalami *hyperbilirubinemia* yang kadar bilirubinnya meningkat dua hingga tiga kali lipat kadar bilirubin total pada orang normal.

Sedangkan, penelitian mendapatkan perbedaan yang signifikan antara kenaikan bilirubin pada pria dan wanita (Tabel 3) menggunakan analisis uji *Independent T-test*.

Perbedaan kenaikan kadar bilirubin pada pria dan wanita menurut David dan Cutris pada tahun 2009 dipengaruhi oleh enzim UGT1A1 yang dimana aktivitas enzim UGT1A1 pada pria lebih rendah dibandingkan wanita. Sehingga pada pria didapatkan kenaikan kadar bilirubin lebih tinggi dibandingkan dengan wanita. Hal ini karena pengeliminasian bilirubin akibat perubahan bilirubin tak terkonjugasi menjadi bilirubin terkonjugasi dipengaruhi oleh aktivitas enzim UGT1A1.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Griffin, *et al* tahun 2015 diketahui terdapat perubahan yang signifikan pada kadar bilirubin total pria yang berpuasa dibandingkan dengan pria yang tidak berpuasa dimana kadar bilirubin total pria yang berpuasa lebih besar daripada pria yang tidak berpuasa. Penelitian kali ini menunjukkan adanya kenaikan kadar bilirubin total yang signifikan baik pada pria maupun pada wanita. Hasil yang didapatkan dari penelitian tersebut berbanding terbalik dengan penelitian Griffin, *et al* tahun 2015 dimana data yang didapat tidak menunjukkan perubahan yang signifikan pada kadar bilirubin wanita setelah puasa 12 jam. Namun, didapatkan

dengan pengujian *Independent T – Test* bahwa kenaikan kadar antara pria dan wanita memiliki perbedaan yang signifikan terlihat dari nilai rata – rata kenaikan kadar pria lebih besar dibandingkan wanita. Sehingga, membuktikan bahwa aktivitas enzim UGT1A1 pada pria lebih rendah dibandingkan pada wanita.

Perbedaan hasil penelitian yang signifikan pada wanita setelah intervensi puasa 12 jam dengan hasil penelitian sebelumnya dapat disebabkan oleh perbedaan ras dari responden yang diuji. Suatu penelitian

membuktikan bahwa kadar bilirubin total pada serum berbeda di tiap ras nya. Dari penelitian Carmel et al tahun 1985 didapatkan bahwa orang dengan kulit hitam (Ras Afrika) memiliki kadar bilirubin total dalam serum lebih rendah dibandingkan dengan ras lainnya. Sedangkan orang dengan Ras Asia memiliki kadar bilirubin tertinggi dibandingkan dengan subjek lainnya dari hal ini dapat diketahui bahwa dengan perbedaan ras subjek penelitian maka akan mempengaruhi hasil yang didapatkan.

Tabel 2 Hasil Analisis Intervensi Puasa 12 Jam terhadap Peningkatan Kadar Bilirubin Total Pria dan Wanita

Uji <i>Paired T – Test</i>	Sig.	
	Pria	Wanita
Normalitas <i>Pre – Test</i>	0,068	0,091
Normalitas <i>Post – Test</i>	0,102	0,204
<i>Correlation</i>	0,001*	0,000*
<i>Sig. (2 – Tailed)</i>	0,000*	0,000*

Keterangan:

Nilai $P < 0,05$, hubungan signifikan antara intervensi puasa selama 12 jam terhadap peningkatan kadar bilirubin

Tabel 3 Hasil Analisis Perbedaan Kenaikan Kadar Bilirubin Total antara Pria dan Wanita

Uji Independent T- Test	Nilai
Mean kenaikan kadar bilirubin total pada pria	0,7638
Mean kenaikan kadar bilirubin total pada wanita	0,2395
<i>sig. (2 – Tailed)</i>	0,000*

Keterangan :

Nilai $Mean \pm SEM$ (n = 19)

Nilai $P < 0,05$, hubungan signifikan antara perbedaan kenaikan kadar bilirubin pria dan wanita

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian menggunakan uji *Paired T-Test* didapatkan nilai korelasi pada pria sebesar 0,001 dan nilai signifikansi 0,000, pada wanita didapatkan nilai korelasi 0,000 dan nilai signifikansi 0,000. Dari hasil penelitian menggunakan uji *Independent T-Test* didapatkan nilai rata-rata kenaikan bilirubin pria sebesar 0,7638 dan rata-rata kenaikan bilirubin wanita sebesar 0,2395 dengan nilai signifikansi 0,000. Dari hasil ini dapat ditarik kesimpulan bahwa aktivitas berpuasa selama 12 jam menyebabkan kenaikan kadar bilirubin yang signifikan pada pria dan wanita, dan ada perbedaan yang signifikan pada kenaikan kadar bilirubin pria dan wanita yang dapat disebabkan oleh adanya perbedaan kadar enzim UGT1A1 pada pria yang lebih sedikit dibandingkan pada wanita.

DAFTAR PUSTAKA

- David, B., dan Curtis, D. 2009. Mechanism of Gender-Divergent UDP-Glucuronosyltransferase mRNA Expression in Mouse Liver and Kidney. *Drug Metab Dispos.* Vol. 37 (4) : 834-840.
- Griffin, P. M., Suzanne L., dan Kerry J. 2014. Fasting Increases Serum Bilirubin Levels in Clinically Normal, Healthy Males but Not Females : A Retrospective Study From Phase I Clinical Trial Participants. *Journal Clin Pathol.* Vol. 67 : 529 – 534.
- Hinds, T. D., Adeosun S. O., Alamodi A. A., and Stec D. E. 2016. Does Bilirubin Prevent Hepatic Steatosis Through Activation of The PPAR α Nuclear Receptor?. *Medical Hypotheses.* Vol. 95 : 54 – 57.
- Lopardo, G., Emiliano B., Lidia E., Paula G., Marcel dan Adrian. Short Communication : Fasting Increases Serum Concentrations of Bilirubin in Patients Receiving Atazanir : Results

form a Pilot Study. *Aids Research and Lopardo, G., Emiliano B., Lidia E., Paula G., Marcel dan Adrian. Short Communication : Fasting Increases Serum Concentrations of Bilirubin in Patients Receiving Atazanir : Results form a Pilot Study. Human Retroviruses.* Vol. 28 (3) : 456-460.

Sloane, Ethel. 2004. *Anatomi dan Fisiologi pada Pemula.* Jakarta : EGC.

Stevenson, David K., M. D. Hendrik J. Vreman., and Ronald J. Wong. 2011. Bilirubin Production and the Risk of Bilirubin Neurotoxicity. *Seminar Perinatology.* Vol. 35 : 121 – 126