

LAMPIRAN

Lampiran 1 KIT BIOLABO AST GOT (IFCC) Single vial



TECHNICAL SUPPORT AND ORDERS
Tel: (33) 03 23 25 15 50
Fax: (33) 03 23 256 256
support@biolabo.fr

REF 80025 R1 20 X 10 mL REF 80125 R1 8 x 30 mL
REF 80225 R1 10 x 125 mL REF 80325 R1 6 x 200 mL

AST GOT (IFCC) Single vial

Reagent for quantitative determination of Aspartate amino transferase activity
[EC 2.6.1.1] in human serum and plasma



IN VITRO DIAGNOSTIC USE



SAFETY CAUTIONS

BIOLABO reagents are designated for professional, in vitro diagnostic use (do not pipette with mouth).
• Refer to current Material Safety Data Sheet available on request or on www.biolabo.fr.
• Verify the integrity of the contents before use.
• Waste disposal: Respect legislation in force in the country.
All specimens or reagents of biological origin should be handled as potentially infectious. Respect legislation in force in the country.

STABILITY AND STORAGE

Stored away from light, well capped in the original vial at 2-8°C, stored and used as described, reagents are stable:

Unopened:

- Until expiry date stated on the label of the kit.
- Once reconstituted:
- Working reagent (vial R1) is stable for 60 days when free from contamination.
 - Discard reagent if cloudy or if absorbance at 340 nm is < 1.000.
 - Don't use working reagent after expiry date.

SPECIMEN COLLECTION AND HANDLING (2)

Unhemolysed serum. Do not use heparinised plasma

AST is stable in serum or plasma for:

- 24 hours at room temperature
- 28 days at 2-8°C
- at least for 1 year at -20°C.

Adding pyridoxal phosphate (0.1 mM) improves stability at room temperature to 7 days.

LIMITS (3) (6)

LDH contained in reagent allows, during pre-incubation step, reduction of endogenous pyruvate which would positively interfere.

Likewise oxaloacetate, product of the reaction, is carboxilated into pyruvate. This one will also be consumed by LDH contained in reagent and will not interfere with AST determination.

For a more comprehensive review of factors affecting this assay refer to the publication of Young D.S.

MATERIAL REQUIRED BUT NOT PROVIDED

1. Basic medical analysis laboratory equipment.
2. Demineralised water for reagent preparation
3. Thermostated Spectrophotometer or Biochemistry Analyzer

CALIBRATION

- REF 95015 BIOLABO Multicalibrator traceable to ERM-AD457/IFCC
- The calibration frequency depends on proper instrument functions and on the preservation of reagent

REAGENTS COMPOSITION

R1	AST (GOT) IFCC	Danger
EDTA	5 mmol/L	
2-Oxoglutarate	12 mmol/L	
L-Aspartate	200 mmol/L	
MDH	495 UI/L	
LDH	820 UI/L	
NADH	≤ 0.18 mmol/L	
Tris Buffer	80 mmol/L	
pH at 30°C	7.80 ± 0.1	
Preservative		

Before reconstitution:

Acute Tox. 2: H300 - Fatal if swallowed,

Aquatic Chronic 3: H412 - Harmful to aquatic life with long lasting effects

P264: Wash hands thoroughly after handling, P270: Do not eat, drink or smoke when using this product, P301+310: IF SWALLOWED: Immediately call a POISON CENTER or doctor/physician, P330: Rinse mouth, P501: Dispose of contents/container in accordance with dangerous waste disposal regulations. Classification due to Sodium Azide < 1%. For more details, refer to Safety Data Sheet (SDS)

Once reconstituted, working reagent is not classified as dangerous

REAGENTS PREPARATION

- REF 80025 (Vial R1): Use a non-sharp instrument to remove aluminium cap.
 - Other REF: Once opened, add promptly to the contents the amount of demineralised water indicated on the label.
- Mix gently until complete dissolution.

Made in France

Latest revision: www.biolabo.fr

Revision: 08/02/2019

QUALITY CONTROL

- REF 95010 BIOLABO EXATROL-N Level I
 - REF 95011 BIOLABO EXATROL-P Level II
 - External quality control program.
- It is recommended to control in the following cases:
- At least once a run.
 - At least once within 24 hours.
 - When changing vial of reagent.
 - After maintenance operations on the instrument.
- If control is out of range, apply following actions:
1. Repeat the test with the same control.
 2. If control is still out of range, prepare a fresh control serum and repeat the test.
 3. If control is still out of range, verify analysis parameters: Wavelength, temperature, specimen/reagent ratio, time counting, calibration factor.
 4. If control is still out of range, use a new vial of reagent and reassay
 5. If control is still out of range, please contact BIOLABO technical support or your local Agent.

EXPECTED VALUES (1) (2)

UI/L	at 30°C	at 37°C
Newborn	25-75	39-117
Infant	15-60	23-94
Adult	8-20	13-31

Each laboratory should establish its own normal ranges for the population it serves.

PERFORMANCE at 37°C on KENZA 240TX

Linearity Range: between 5 and 310 IU/L

Detection limit: approx. 1.3 IU/L

Precision:

Within-run N = 20	Low level	Normal level	High level	Between run N = 20	Low level	Normal level	High level
Mean (IU/L)	21.8	44.2	171.9	Mean (IU/L)	22.5	45.3	176.9
S.D. (IU/L)	0.6	0.7	2.7	S.D. (IU/L)	0.7	1.1	4.0
C.V. %	2.5	1.6	1.6	C.V. %	3.1	2.5	2.3

Comparison studies with commercially available reagent:

Realised on serum specimens (n=100) between 9 and 313 IU/L

$$y = 1.0265 \times +0.9906 \quad r = 0.9982$$

Analytical Sensitivity: approx. 0.0063 abs/min for 10 IU/L

Interferences:

Turbidity	No interference up to 0.133 abs
Total bilirubin	Negative interference from 399 µmol/L
Direct bilirubin	No interference up to 328 µmol/L
Ascorbic acid	No interference up to 2500 mg/dL
Glucose	No interference up to 1104 mg/dL
Haemoglobin	Positive interference from 109 µmol/L

Other substances may interfere (see § Limits)

On the board stability: 1 month

Calibration Stability: 8 days

Make a new calibration when changing reagent batch, if quality control results are found out of the established range and after maintenance operations

PROCEDURE

Detailed Kenza 240TX procedure is available on request

Wavelength: 340 nm

Temperature: 37°C

Let stand reagents and specimens at room temperature.

	Automated analyzer	Manual procedure
Reagent	200 µL	1000 µL
Standard / Control or Specimen	20 µL	100 µL
Mix. Record initial absorbance after 1 minute at 340 nm.		
Record the absorbance again every minute during 3 minutes.		
Calculate absorbance change per minute (Δ Abs/min).		

Notes:

1- Performances and stability data's have been validated on KENZA 240TX and KENZA 450TX.

2-With Manual Procedure on Spectrophotometer and on other automated analyzers, performances and stability should be validated by user.

3- Applications proposal are available on request

CALCULATION

Calculate the result as follows:

With serum multicalibrator:

$$\text{AST Activity} = \frac{(\Delta\text{Abs}/\text{min}) \text{ Assay}}{(\Delta\text{Abs}/\text{min}) \text{ Calibrator}} \times \text{Calibrator Concentration}$$

With theoretical factor:

$$\text{Activity (IU/L)} = \Delta\text{Abs}/\text{min} \times \text{Factor}$$

$$\text{Factor} = \frac{\text{VR} \times 1000}{6.3 \times \text{VE} \times \text{P}}$$

With:

VR = Total reactional volume (mL)

VE = Specimen volume (mL)

6.3 = Molar extinction coefficient for NADH at 340 nm

P = Pathlength (cm).

Example, with manual Procedure,

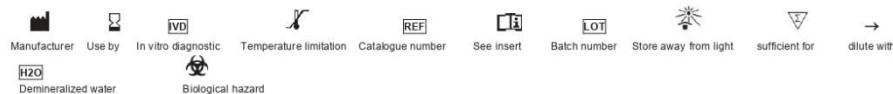
(Path length 1 cm, 37°C, 340 nm):

$$\text{IU/L} = (\Delta\text{Abs}/\text{min}) \times 1746$$

$$\mu\text{Kat/L} = \frac{\text{IU/L}}{60}$$

REFERENCES

- (1) TIETZ N.W. Text book of clinical chemistry, 3rd Ed. C.A. Burtis, E.R. Ashwood, W.B. Saunders (1999) p. 652-657
- (2) Clinical Guide to Laboratory Test, 4th Ed., N.W. TIETZ (2006) p. 154-159
- (3) YOUNG D.S., Effect of Drugs on Clinical laboratory Tests, 4th Ed. (1995) p. 3-68 to 3-79
- (4) HENRY R. J. and al., Am J clin Path (1960), 34, 381-398
- (5) IFCC Method for L-Aspartate aminotransferase. J Clin. Chem. Clin. Biochem,(1986), 24, p.497-510.
- (6) M. MATHIEU and col. SFBC. Comité de Standardisation. Recommandations pour la mesure de l'activité catalytique de l'Aspartate aminotransférase dans le sérum à 30°C. Ann. Biol. Clin. 1976. 34, 291-297

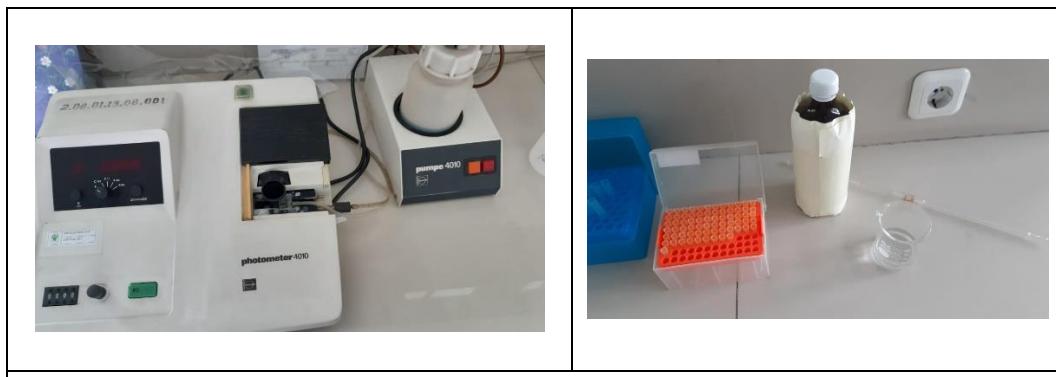


Made in France

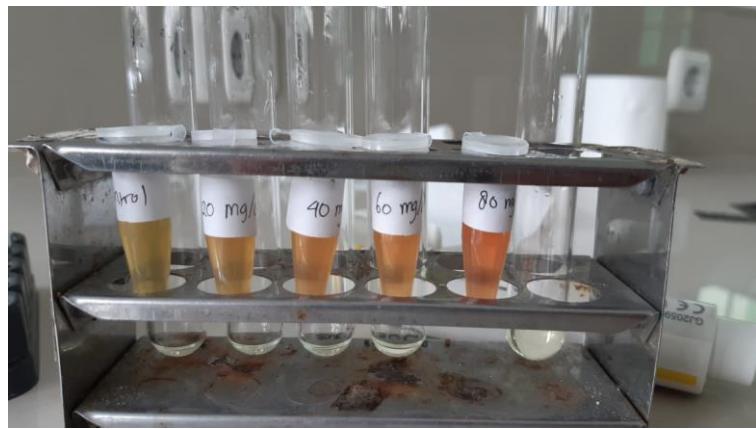
Latest revision: www.biolabo.fr

Revision: 08/02/2019

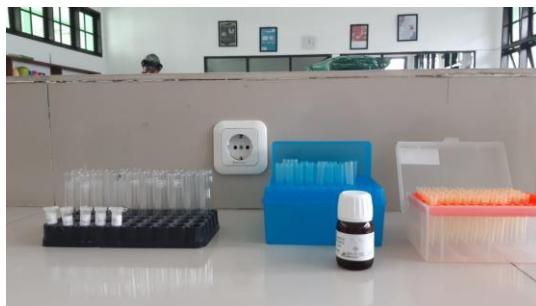
Lampiran 2 Dokumentasi Penelitian**Proses Pengambilan Darah****Proses Sentrifugasi Sampel****Proses Pembuatan Hemolisat**



Pengukuran Kadar Hemoglobin



Pembuatan Variasi Serum dengan Hemolisat



Pemeriksaan AST

Lampiran 3 Hasil Uji Statistika

1. UJI NORMALITAS

Tests of Normality							
	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk			
	Variasi	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Hasil_	0 mg/dL	.261	5	.200*	.823	5	.124
AST	20 mg/dL	.220	5	.200*	.956	5	.777
	40 mg/dL	.246	5	.200*	.956	5	.777
	60 mg/dL	.213	5	.200*	.963	5	.826
	80 mg/dL	.202	5	.200*	.920	5	.530

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

2. UJI HOMOGENITAS, UJI ONE WAY ANOVA DAN UJI LANJUT POST HOC

Oneway

Descriptives

Hasil_AST	N	Mean	Std. Deviation	95% Confidence Interval for Mean			Minimum	Maximum		
				Std. Error	Lower Bound	Upper Bound				
0 mg/dL	5	22.060	.3362	.1503	21.643	22.477	21.7	22.4		
20 mg/dL	5	23.560	.2966	.1327	23.192	23.928	23.1	23.9		
40 mg/dL	5	25.620	.1483	.0663	25.436	25.804	25.4	25.8		
60 mg/dL	5	26.160	.1817	.0812	25.934	26.386	25.9	26.4		
80 mg/dL	5	27.200	.3873	.1732	26.719	27.681	26.7	27.6		
Total	25	24.920	1.9138	.3828	24.130	25.710	21.7	27.6		

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Hasil_AST	Based on Mean	2.620	4	20	.066
	Based on Median	1.100	4	20	.384
	Based on Median and with adjusted df	1.100	4	15.840	.391
	Based on trimmed mean	2.543	4	20	.072

ANOVA

Hasil_AST

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	86.276	4	21.569	265.628	.000
Within Groups	1.624	20	.081		
Total	87.900	24			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Hasil_AST

	(I)	Mean Difference		Std. Error	95% Confidence Interval			
		Variasi	(J) Variasi		(I-J)	Lower Bound	Upper Bound	
		0	20 mg/dL	.1802	-1.5000*	.000	-2.039	-.961
Tukey	mg/dL	40 mg/dL	20 mg/dL	.1802	-3.5600*	.000	-4.099	-3.021
		60 mg/dL	20 mg/dL	.1802	-4.1000*	.000	-4.639	-3.561
		80 mg/dL	20 mg/dL	.1802	-5.1400*	.000	-5.679	-4.601
HSD	mg/dL	0 mg/dL	20 mg/dL	.1802	1.5000*	.000	.961	2.039
		40 mg/dL	20 mg/dL	.1802	-2.0600*	.000	-2.599	-1.521
		60 mg/dL	20 mg/dL	.1802	-2.6000*	.000	-3.139	-2.061
		80 mg/dL	20 mg/dL	.1802	-3.6400*	.000	-4.179	-3.101
	20	0 mg/dL	40 mg/dL	.1802	3.5600*	.000	3.021	4.099
		60 mg/dL	40 mg/dL	.1802	2.0600*	.000	1.521	2.599
		80 mg/dL	40 mg/dL	.1802	-.5400*	.050	-1.079	-.001
	40	0 mg/dL	60 mg/dL	.1802	3.5600*	.000	2.061	3.139
		20 mg/dL	60 mg/dL	.1802	2.0600*	.000	1.521	2.599
		80 mg/dL	60 mg/dL	.1802	-.5400*	.050	-1.079	-.001
	60	0 mg/dL	80 mg/dL	.1802	4.1000*	.000	3.561	4.639
		20 mg/dL	80 mg/dL	.1802	2.6000*	.000	2.061	3.139
		40 mg/dL	80 mg/dL	.1802	.5400*	.050	.001	1.079
		80 mg/dL	40 mg/dL	.1802	-1.0400*	.000	-1.579	-.501
	80	0 mg/dL	20 mg/dL	.1802	5.1400*	.000	4.601	5.679
		40 mg/dL	20 mg/dL	.1802	3.6400*	.000	3.101	4.179
		60 mg/dL	20 mg/dL	.1802	1.5800*	.000	1.041	2.119
		80 mg/dL	20 mg/dL	.1802	1.0400*	.000	.501	1.579
LSD	0	20 mg/dL	40 mg/dL	.1802	-1.5000*	.000	-1.876	-1.124
		60 mg/dL	40 mg/dL	.1802	-3.5600*	.000	-3.936	-3.184
		80 mg/dL	40 mg/dL	.1802	-4.1000*	.000	-4.476	-3.724
	mg/dL	20 mg/dL	60 mg/dL	.1802	-5.1400*	.000	-5.516	-4.764

20	0 mg/dL	1.5000*	.1802	.000	1.124	1.876
mg/dL	40 mg/dL	-2.0600*	.1802	.000	-2.436	-1.684
	60 mg/dL	-2.6000*	.1802	.000	-2.976	-2.224
	80 mg/dL	-3.6400*	.1802	.000	-4.016	-3.264
40	0 mg/dL	3.5600*	.1802	.000	3.184	3.936
mg/dL	20 mg/dL	2.0600*	.1802	.000	1.684	2.436
	60 mg/dL	-.5400*	.1802	.007	-.916	-.164
	80 mg/dL	-1.5800*	.1802	.000	-1.956	-1.204
60	0 mg/dL	4.1000*	.1802	.000	3.724	4.476
mg/dL	20 mg/dL	2.6000*	.1802	.000	2.224	2.976
	40 mg/dL	.5400*	.1802	.007	.164	.916
	80 mg/dL	-1.0400*	.1802	.000	-1.416	-.664
80	0 mg/dL	5.1400*	.1802	.000	4.764	5.516
mg/dL	20 mg/dL	3.6400*	.1802	.000	3.264	4.016
	40 mg/dL	1.5800*	.1802	.000	1.204	1.956
	60 mg/dL	1.0400*	.1802	.000	.664	1.416

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran 4 Lembar Penjelasan dan Lembar Persetujuan Responden

NASKAH PENJELASAN

Saya, Della Hashfi Anzhari, Mahasiswa Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Bandung, mulai bulan Mei sampai Juni akan melakukan kegiatan penelitian dengan judul “Pengaruh Indeks Hemolisis Serum Terhadap Aktivitas Aspartate Aminotransferase (AST)” Pada penelitian ini, penulis akan mencari Pengaruh indeks hemolisis dalam serum terhadap hasil pemeriksaan aktivitas Aspartate Aminotransferase (AST) Saudara diajak untuk berpartisipasi didalam kegiatan penelitian ini, karena kondisi yang sesuai dengan yang disyaratkan yaitu: tidak mengkonsumsi alkohol maupun obat obatan yang mempengaruhi hasil serta tidak memiliki riwayat penyakit yang dapat mempengaruhi hemolisis serum, seperti anemia hemolitik, vena rapuh dan *Incompatible Blood Transfusion*

Manfaat penelitian ini antara lain sebagai informasi dan wawasan dalam pemeriksaan aktivitas Aspartate Aminotransferase (AST) menggunakan serum yang hemolisis dengan cara memeriksa kadar hemoglobin dalam serum dan konversikan terhadap besarnya pengaruh hemoglobin terhadap aktivitas aktivitas AST.

Pada penelitian ini, Saudara akan diperiksa pemeriksaan aktivitas Aspartate Aminotransferase (AST) dengan bahan pemeriksaan darah vena yang dibuat menjadi serum. Banyaknya darah yang dibutuhkan ialah 10 mL dengan satu kali pengambilan dan pengambilan dilakukan oleh peneliti. Jumlah responden yang diikutsertakan pada penelitian ini sejumlah 2 orang.

Selama kegiatan penelitian, risiko yang dapat dialami oleh subjek adalah komplikasi yang mungkin ditimbulkan dari proses pengambilan darah vena seperti terjadinya hematoma, resiko ini dapat ditangani dengan pengompresan menggunakan air dingin/ air hangat dan jika masih terjadi dapat ditangani menggunakan salep untuk hematoma. Selain itu terdapat pula resiko yang ditimbulkan di masa pandemic covid-19 yaitu terpapar covid-19. Sebelum dilakukan proses pengambilan sampel dilakukan pemeriksaan PCR pada responden maupun pada peneliti dan pengambilan darah dilakukan dengan APD (Alat Pelindung Diri) untuk memastikan kegiatan berjalan dengan aman.

Informasi data yang didapat dari hasil penelitian akan kami rahasiakan, dan tidak akan dihubungkan dengan identitas saudara. Jika diperlukan untuk kepentingan kedinasan, identitas saudara akan dilindungi dalam bentuk kode atau

nomor dan tidak akan diketahui oleh siapapun dalam pengambilan data tersebut. Namun di akhir penelitian, kami akan menginformasikan hasil penelitian yang kami anggap bermanfaat diketahui Saudara.

Partisipasi Saudara bersifat sukarela Jika ada yang tidak bersedia ikut pada penelitian ini, kami hargai pendapat saudara tanpa ada sanksi apapun. Sebagai tanda terima kasih pada siswa atas partisipasinya, akan diberikan kompensasi berupa makanan, minuman sehat serta multivitamin.

Bila dibutuhkan penjelasan lebih lanjut, Saudara dapat menghubungi kami : Della Hashfi Anzhari pada Jurusan Teknologi Laboratorium Medik Poltekkes Kemenkes Bandung. No telp 085703008870.

**PERSETUJUAN SETELAH
PENJELASAN**

Saya telah dibacakan apa yang tertulis di atas dan telah diberi kesempatan bertanya atas apa yang tidak saya mengerti. Saya mengerti bahwa partisipasi saya dilakukan secara sukarela dan dapat menolak atau mengundurkan diri sewaktu-waktu tanpa sanksi apapun dalam penelitian "Pengaruh Indeks hemolisis Serum Terhadap Aktivitas Aspartat Aminotransferase (AST)".

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : FAUZYA FAHRANI

Umur : 21 TAHUN

Alamat : PERUM. CITRA PESONA BLOK CI NO. M KEL. CIBEBER. CIHANTI SELATAN

Menyatakan bersedia menjadi responden pada penelitian yang dilakukan oleh :

Nama Peneliti : Della Hashfi Anzhari

NIM : P17334117415

Saya akan bersedia untuk dilakukan pengambilan darah. Saya memahami maksud, manfaat, resiko, waktu dan prosedur penelitian ini dan saya setuju dengan kompensasi yang akan saya terima. Dengan ketentuan, hasil pemeriksaan akan dirahasiakan dan hanya semata-mata untuk kepentingan ilmu pengetahuan. Demikian surat pernyataan ini saya sampaikan, agar dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Bandung, 28 Mei 2021

Peneliti

Della Hashfi Anzhari

Responden

(FAUZYA FAHRANI)

**PERSETUJUAN SETELAH
PENJELASAN**

Saya telah dibacakan apa yang tertulis di atas dan telah diberi kesempatan bertanya atas apa yang tidak saya mengerti. Saya mengerti bahwa partisipasi saya dilakukan secara sukarela dan dapat menolak atau mengundurkan diri sewaktu-waktu tanpa sanksi apapun dalam penelitian "Pengaruh Indeks hemolisik Serum Terhadap Aktivitas Aspartat Aminotransferase (AST)".

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : MUTHIARA RAHADHANI
 Umur : 22 Tahun
 Alamat : GRIYA SUKASARI NO.4 RT02 RW08 Kec. CIWIDEY KABUPATEN BANDUNG

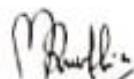
Menyatakan bersedia menjadi responden pada penelitian yang dilakukan oleh :

Nama Peneliti : Della Hashfi Anzhari
 NIM : P17334117415

Saya akan bersedia untuk dilakukan pengambilan darah. Saya memahami maksud, manfaat, resiko, waktu dan prosedur penelitian ini dan saya setuju dengan kompensasi yang akan saya terima. Dengan ketentuan, hasil pemeriksaan akan dirahasiakan dan hanya semata-mata untuk kepentingan ilmu pengetahuan. Demikian surat peryataan ini saya sampaikan, agar dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Bandung, 28 Mei 2021

Responden



(MUTHIARA RAHADHANI)

Peneliti


Della Hashfi Anzhari

Lampiran 5 Kaji Etik Penelitian



KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN
HEALTH RESEARCH ETHICS COMMITTEE

POLITEKNIK KESEHATAN KEMENTERIAN KESEHATAN BANDUNG

KETERANGAN LAYAK ETIK
DESCRIPTION OF ETHICAL APPROVAL
"ETHICAL APPROVAL"

No. 69/KEPK/EC/VI/2021

Protokol penelitian yang diusulkan oleh
The research protocol proposed by

Peneliti utama : Della Hashfi Anzhari
Principal In Investigator

Nama Institusi : Jurusan Teknologi Laboratorium Medik
Name of the Institution Poltekkes Kemenkes Bandung

Dengan judul:
Title

"Pengaruh Indeks Hemolisis Serum Terhadap Aktivitas Enzim Aspartat Aminotransferase (AST)"

"The Effect Of Serum Hemolysis Index on Aspartate Aminotransferase (AST) Activity"

Dinyatakan layak etik sesuai 7 (tujuh) Standar WHO 2011, yaitu 1) Nilai Sosial, 2) Nilai Ilmiah, 3) Pemerataan Beban dan, 4) Risiko, 5) Bujukan/Eksplorasi, 6) Kerahasiaan dan Privacy, dan 7) Persetujuan Setelah Penjelasan, yang merujuk pada Pedoman CIOMS 2016. Hal ini seperti yang ditunjukkan oleh terpenuhinya indikator setiap standar.

Declared to be ethically appropriate in accordance to 7 (seven) WHO 2011 Standards, 1) Social Values, 2) Scientific Values, 3) Equitable Assessment and Benefits, 4) Risks, 5) Persuasion/Exploitation, 6) Confidentiality and Privacy, and 7) Informed Consent, referring to the 2016 CIOMS Guidelines. This is as indicated by the fulfillment of the indicators of each standard.

Pernyataan Laik Etik ini berlaku selama kurun waktu tanggal 28 Juni 2021 sampai dengan tanggal 28 Juni 2022.
This declaration of ethics applies during the period June 28, 2021 until June 28, 2022.

