

SKRIPSI :

DJOKOSAMBODO TEDJOKUSUMO

**AKTIFITAS ENZIM GLUCOSE - 6 - PHOSPHATÉ
DEHYDROGENASE PADA ERITROSIT
DOMBA DAN MANUSIA**



**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

1979

AKTIVITAS ENZIM GLUCOSE - 6 - PHOSPHATE
DEHYDROGENASE PADA ERITROSIT
DOMBA DAN MANUSIA

SKRIPSI

DISERAHKAN KEPADA FAKULTAS KEDOKTERAN
HEWAN UNIVERSITAS AIRLANGGA UNTUK
MEMENUHI SEBAGIAN SYARAT GUNA
MEMPEROLEH GELAR DOKTER HEWAN

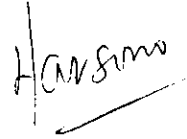
OLEH

DJOKOSAMBODO TEDJOKUSUMO
SURABAYA - JAWA TIMUR

U N I V E R S I T A S A I R L A N G G A
F A K U L T A S K E D O K T E R A N H E W A N

JULI - 1979

PERSETUJUAN PEMBIMBING :

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Harsono', with a horizontal line underneath.

(dr. HARSONO NOTOPURO)

PEMBIMBING UTAMA

A large, stylized handwritten signature in black ink, appearing to read 'Soesanto Prijsapoetro', with a horizontal line underneath.

(Drh. SOESANTO PRIJSEPOETRO)

PEMBIMBING KEDUA

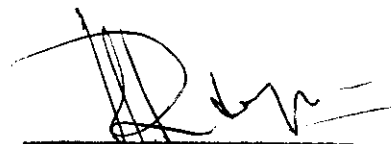
PERSETUJUAN PANITIA SKRIPSI

Setelah mempelajari dan menguji dengan sungguh-sungguh, kami berpendapat bahwa tulisan ini baik scope maupun kualitasnya dapat diajukan sebagai skripsi untuk memperoleh gelar DOKTER HEWAN.

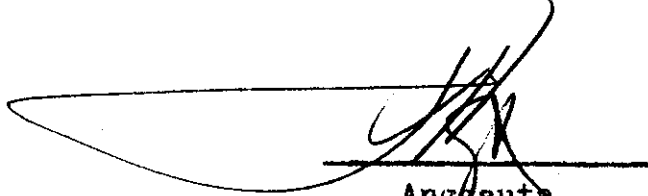
Panitia Penguji :



Ketua



Sekretaris



Anggauta



Anggauta

Anggauta

KATA PENGANTAR

Kami mengucapkan puji syukur ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa atas rahmat yang telah diberikan, sehingga kami dapat menyelesaikan skripsi ini.

Skripsi ini kami susun dengan tujuan selain untuk memenuhi salah satu syarat guna mencapai gelar Dokter Hewan juga sebagai sumbangan kami untuk mengembangkan Ilmu Patologi Klinik Hewan.

Pada kesempatan ini perkenankanlah kami mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada Bapak dr. Harsono Notopuro dan Bapak Drh. Soesanto Prijosepoetro atas segala bimbingan, saran serta petunjuk-petunjuk selama penyusunan skripsi ini.

Tidak lupa kami sampaikan terimakasih kepada Bapak Prof. Marsetio Donosepoetro dan Bapak dr. F.X. Budhianto, Kepala dan Wakil Kepala Bagian Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang telah memberikan izin penggunaan Laboratorium Patologi Klinik selama penelitian ini dilakukan.

Selain itu kami juga menyampaikan rasa terimakasih, kepada Bapak Suparlim dan segenap analis hematologi dari Laboratorium Patologi Klinik yang telah memberikan bantuan dalam penyediaan bahan-bahan yang kami perlukan guna terlaksananya penelitian ini.

Akhirnya kami berharap semoga segala sesuatu yang

kami susun dalam skripsi ini dapat berguna bagi kita semua.

Surabaya, Juli 1979

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
B A B :	
I. PENDAHULUAN	1
II. MATERI DAN METODA PENELITIAN	11
2.1. Materi Penelitian	11
2.1.1. Bahan	11
2.1.2. Bahan penunjang penelitian	11
2.1.3. Alat	12
2.2. Metoda Penelitian	12
2.2.1. Pengambilan sampel	12
2.2.2. Tata kerja penelitian	13
2.2.3. Pengolahan data	14
III. HASIL PENELITIAN	15
IV. PEMBAHASAN	18
V. RINGKASAN	21
DAFTAR KEPUSTAKAAN	46

DAFTAR TABEL

TABEL :	Halaman
I. Hasil pemeriksaan darah domba dan manusia normal	23
II. Aktifitas G-6-PD pada eritrosit domba dan manusia	25
III. Data aktifitas G-6-PD dan jumlah " Heinz bodies " pada eritrosit domba	27
IV. Data aktifitas G-6-PD dan jumlah " Heinz bodies " pada eritrosit manusia	29
V. Harga rata-rata aktifitas G-6-PD dan " Heinz bodies " pada eritrosit domba dan manusia	30

DAFTAR GAMBAR

GAMBAR :	Halaman
I. Metabolisme glucose dalam eritrosit	31

DAFTAR LAMPIRAN

LAMPIRAN :	Halaman
I. Tehnik pemeriksaan darah	32
II. Penghitungan statistik aktifitas G-6-PD	38
III. Penghitungan statistik jumlah " Heinz bodies "	40
IV. Korelasi antara aktifitas G-6-PD dengan jumlah " Heinz bodies " pada eritrosit domba dan eritrosit manusia	42
V. Tabel nilai-nilai t	44
VI. Tabel nilai-nilai r " Product Moment "	45

B A B I

P E N D A H U L U A N

Protein hewani merupakan salah satu zat makanan yang penting untuk memenuhi kebutuhan manusia sehari-hari, dan dapat berupa daging, telur, susu dan ikan. Karena itu di Indonesia diadakan usaha-usaha untuk meningkatkan produksi dan populasi ternak sebagai sumber protein. Dengan makin meningkatnya usaha pengembangan produksi ternak, maka makin terasa pula meningkatnya kegiatan dalam bidang pengamanan ternak. Akibat meningkatnya kegiatan dalam bidang pengamanan ternak, pengertian masyarakat akan arti serta pentingnya bidang pengamanan ternak telah makin meningkat pula. Sebagai akibat yang logis dari semua peningkatan kegiatan ini, maka terasa sekali meningkatnya penggunaan sarana pengamanan ternak, dan diantaranya adalah obat-obatan yang bertujuan untuk mencegah dan mengobati penyakit hewan.

Pada manusia, menurut Carson (1956), penggunaan obat Primaquin untuk pencegahan maupun pengobatan penyakit malaria, ternyata dapat mengakibatkan terjadinya hemolitik anemia, dan kejadian ini ternyata berhubungan dengan adanya defisiensi enzim G - 6 - PD (Glucose - 6 - Phosphate Dehydrogenase) dalam eritrositnya (10). Kemudian didapatkan bahwa hemolitik anemia juga terjadi setelah penderita defisiensi enzim G-6-PD pada eritrositnya memakan obat-obat lain, seperti golongan sulfonamide, analgesik dan antipiretik, obat-obat anti malaria, atau setelah menderita penyakit infeksi (9, 16, 17)

Mengingat penggunaan obat-obatan yang luas pada hewan, baik untuk pencegahan maupun pengobatan penyakit, maka timbul masalah apakah kejadian di atas juga terjadi pada hewan. Dari kenyataan di atas, maka penulis merasa tertarik dan ingin mengetahui lebih jauh tentang enzim ini, dan bagaimana pengaruhnya terhadap kejadian hemolitik anemia.

Sebagaimana diketahui eritrosit sebagai bagian dari sel-sel darah, mempunyai peranan yang penting dalam kehidupan manusia dan hewan, karena eritrosit berfungsi untuk membawa oksigen yang diperoleh dari paru-paru ke jaringan-jaringan tubuh, dan hemoglobin merupakan bahan aktif dalam eritrosit yang bertanggung jawab dalam pengikatan oksigen (7). Juga diketahui bahwa eritrosit mamalia yang dewasa tidak mempunyai inti, endoplasmic reticulum maupun mitochondria, dan tidak mampu untuk mensintesa asam nukleat maupun protein, dan juga tidak mempunyai siklus Krebs dan sistem transpor elektron (11, 20). Dan untuk kehidupan sel-selnya, eritrosit membutuhkan tenaga yang diperoleh dari metabolisme glucose, dimana \pm 90 % dari metabolismenya melalui " Embden Meyerhof pathway " dan \pm 10 % dari glucose dimetabolisme melalui " pentose phosphate pathway " (9, 11) Karena eritrosit yang dewasa tidak mempunyai mitochondria dan siklus Krebs maka " pentose phosphate pathway " (P.P.P.) sangat penting untuk menghasilkan bahan pereduksi yaitu TPNH (Triphosphopyridine nucleotide yang tereduksi) (10, 16, 17).

Peranan enzim G-6-PD pada metabolisme glucose dari eritrosit yang masak ialah sebagai katalisator pada reaksi tahap permulaan dari P.F.P. (lihat gambar I) yang menyebabkan reduksi dari T.P.N. (Triphosphopyridine Nucleotide) menjadi T.P.N.H. (10, 17, 19). Sedang T.P.N.H. berfungsi untuk mereduksi methemoglobin menjadi hemoglobin dengan bantuan enzim T.P.N.H. methemoglobin reductase, tapi ternyata bahwa reduksi methemoglobin terutama disebabkan oleh D.P.N.H. (Diphosphopyridine Nucleotide yang tereduksi) (7). Selain itu T.P.N.H. dibutuhkan untuk memelihara glutathion dalam keadaan tereduksi (G S H) dengan bantuan enzim glutathion reductase (10, 17, 19). G S H sangat penting untuk memelihara gugusan sulfhydryl didalam eritrosit dan mungkin pada membran sel; selain itu G S H juga penting pada reaksi katabolisme hidrogen peroksida dalam eritrosit , sehingga tidak terjadi proses oksidasi denaturasi dari hemoglobin (10, 15, 16). G S H juga dibutuhkan untuk reaksi reduksi dari methemoglobin menjadi hemoglobin secara non enzimatik (11).

Penyelidikan yang dilakukan pada keluarga penderita defisiensi enzim G-6-PD pada eritrositnya menunjukkan, bahwa laki-laki yang menderita defisiensi G-6-PD, paling sering mendapatkan cacat tersebut dari ibunya. Dan laki-laki selalu memperlihatkan cacat sepenuhnya, sedang wanita walaupun kadang-kadang memperlihatkan cacat sepenuhnya, tapi lebih sering menunjukkan cacat yang lebih ringan (3, 4).

Jadi jika ayah atau anak laki-laki dari wanita yang dicurigai, menderita defisiensi enzim G-6-PD dalam eritrositnya, maka wanita tersebut paling sedikit harus heterozygote. Laki-laki yang menderita defisiensi G-6-PD tidak pernah mendapat gene terhadap G-6-PD dari ayahnya, tetapi selalu menerima dari ibunya, dan laki-laki penderita tersebut tidak memindahkan gene terhadap G-6-PD pada anak laki-lakinya (10). Penemuan ini menunjukkan bahwa defisiensi enzim G-6-PD pada eritrosit mungkin adalah " sex linkage " dan wanita yang menderita defisiensi G-6-PD heterozygote mempunyai aktifitas enzim yang bervariasi, tetapi paling banyak dengan aktifitas enzim separuh dari normal (3, 4). Kemudian diketahui bahwa gene yang menentukan struktur enzim G-6-PD, terdapat pada chromosom X, tidak jauh dari locus hemophilia A dan locus dari buta warna (3, 10).

Enzim G-6-PD pada eritrosit kuda dan keledai ternyata juga bersifat " sex linkage ". Pengujian pada keturunan campuran antara kuda dan keledai secara elektroforesis menunjukkan bahwa enzim G-6-PD pada eritrosit " mule " jantan dan " hinney " jantan selalu menyerupai milik induknya, dimana " mule " jantan, selalu mempunyai enzim G-6-PD dari kuda, sedang " hinney " jantan selalu mempunyai enzim G-6-PD dari keledai (4). Pada kelinci juga didapatkan bahwa enzim G-6-PD pada eritrositnya adalah " sex linkage ". Berdasarkan kejadian di atas, maka mungkin enzim G-6-PD adalah " sex linkage " pada semua mamalia (4).

Pada wanita dan laki-laki normal ternyata bahwa aktifitas enzim G-6-PD pada eritrositnya adalah sama, padahal gene yang menentukan enzim G-6-PD terdapat pada chromosom X sehingga seharusnya wanita dengan 2 chromosom X mempunyai aktifitas enzim G-6-PD yang lebih tinggi daripada laki-laki yang hanya mempunyai 1 chromosom X. Jadi harus ada suatu mekanisme tertentu yang mengatur hal tersebut sehingga aktifitas enzim G-6-PD pada eritrosit laki-laki normal dan wanita normal adalah sama.

Ohno dan kawan-kawan (3,4) memperlihatkan bahwa kedua chromosom X pada mamalia betina adalah berbeda, dimana yang satu tersusun oleh heterochromatin, sedang yang lain oleh euchromatin. Chromosom yang heterochromatin pada insecta adalah inaktif, ini menggambarkan bahwa hanya satu dari kedua chromosom X yang aktif. Hipotesa ini juga didukung oleh Mary Lyon (4) yang mempelajari tentang gene yang menentukan warna bulu yang berhubungan dengan chromosom X pada mice, dan menunjukkan bahwa pada saat pertumbuhan embryonal, satu dari kedua chromosom X dari tiap-tiap sel akan mengalami inaktifasi, dan pemilihan chromosom X yang mengalami inaktifasi terjadi secara random. Berdasarkan pengertian ini maka wanita heterozygote yang menderita defisiensi enzim G-6-PD pada eritrositnya akan memperlihatkan gambaran 2 populasi eritrosit yaitu eritrosit dengan enzim G-6-PD yang normal dan eritrosit yang defisiensi enzim G-6-PD. Ratio dari G-6-PD normal dengan G-6-PD yang defisien pada eritrosit wanita heterozygote tergantung pada faktor ran

dom yang menentukan jumlah chromosom X yang berasal dari ayah dan dari ibu yang mengalami inaktifasi, dan pada faktor selektif yang mempengaruhi kehidupan sel-sel eritrosit. (3, 4). Dengan adanya penemuan-penemuan di atas, maka dapat diterangkan mengapa aktifitas enzim G-6-PD pada eritrosit wanita normal adalah sama dengan pada laki-laki normal, dan dapat diterangkan pula mengapa pada wanita heterozygote memperlihatkan aktifitas enzim G-6-PD yang bervariasi.

Penyelidikan yang teliti terhadap enzim G-6-PD pada eritrosit manusia menunjukkan bahwa kejadian defisiensi enzim G-6-PD tersebut disebabkan oleh adanya mutasi dari gene yang menentukan struktur enzim G-6-PD. Mutasi itu menyebabkan penggantian satu asam amino pada struktur enzim G-6-PD dalam eritrosit. Penggantian asam amino tersebut telah dapat dibuktikan pada enzim G-6-PD varian A +, yaitu penggantian dari asparagin menjadi asam aspartat, dan pada G-6-PD varian Hektoen (10, 18).

Ternyata tidak semua varian enzim G-6-PD dapat menimbulkan keadaan defisiensi yang diikuti dengan kelainan-kelainan klinis; pada manusia dari 80 varian enzim G-6-PD, + 40 varian mempunyai aktifitas enzim yang normal atau defisiensi G-6-PD yang ringan sehingga tidak menimbulkan kelainan-kelainan klinis. (18, 19). Sedangkan beberapa varian enzim yang lain menimbulkan kelainan klinis, tetapi berat ringannya gejala bervariasi tergantung dari besarnya aktifitas enzim G-6-PD pada eritrositnya, (9, 19).

Pada varian G-6-PD dengan aktifitas yang rendah, didapatkan gejala-gejala defisiensi enzim berupa anemia hemolitik, ikterus, warna urine yang gelap karena adanya hemoglobinuria. Pada pemeriksaan darah didapatkan kadar hemoglobin yang menurun. P.C.V. yang menurun, hyperbilirubinaemia, dan adanya " Heinz bodies " pada eritrositnya (3, 16 17). Terbentuknya heinz bodies didalam eritrosit disebabkan oleh adanya oksidasi denaturasi dari hemoglobin yang diikuti oleh presipitasi dari globin, yang disebabkan oleh adanya ikatan disulfida intermolekular (1, 17). Biasanya gejala tersebut timbul setelah penderita defisiensi G-6-PD makan obat yang bersifat oksidan seperti golongan sulfonamide, golongan analgesik dan antipiretik, nitrofurantoin, obat-obat anti malaria, chloramphenicol, vitamin C dan setelah makan " fava bean " atau setelah menderita penyakit infeksi (3, 9, 16, 17).

Banyak metoda yang dapat dipergunakan untuk mengetahui aktifitas enzim G-6-PD pada eritrosit, antara lain (9, 10, 16) :

- Beberapa macam test penyaring, yang prinsipnya adalah reduksi dari TPN menjadi TPNH dengan bantuan enzim G-6-PD, melalui pentose phosphate pathway (P P P) dan menyebabkan perubahan warna dari larutan yang dapat dilihat dengan mata biasa.
- Pemeriksaan kuantitatif aktifitas G-6-PD dari hemolisat, yang prinsipnya adalah : reduksi dari TPN menjadi TPNH ,

dengan bantuan enzim G-6-PD akan menimbulkan peningkatan absorpsi sinar pada larutan, dan kecepatan pembentukan TP NH diukur dengan spektrophotometer.

- Test reduksi methemoglobin secara kuantitatif.

Prinsipnya adalah reduksi methemoglobin menjadi hemoglobin melalui P.F.I. dengan adanya methylen Blue; dan kecepatan reduksi sesuai dengan aktifitas enzim G-6-PD dalam eritrosit, yang diamati pada masing-masing sel eritrosit.

- Elektrophoresa.

Kalau pada hemolizat dilakukan " starch gel electrophoresis " dan kemudian diadakan pengecatan untuk G-6-PD, maka satu band ditemukan pada eritrosit laki-laki normal, wanita normal, dan varian enzim G-6-PD pada laki-laki ; sedang dua band tampak pada wanita heterozygote.

- Penentuan afinitas terhadap substrat (K_m).

Konstante dari Michaelis (K_m) adalah konsentrasi substrat dimana enzim bekerja dengan kecepatan $\frac{1}{2}$ kecepatan maksimum dan merupakan konsentrasi substrat terendah dimana fungsi enzim tidak terganggu. Enzim G-6-PD mempunyai 2 substrat yaitu glucose-6-phosphate dan T P N. Varian enzim G-6-PD mempunyai afinitas terhadap substrat yang berbeda dari normal.

Mengingat bahwa peranan enzim G-6-PD sangat penting pada eritrosit manusia, maka penulis ingin mengetahui peranan enzim G-6-PD pada eritrosit domba, dengan menentukan aktifitas enzim tersebut dan melihat apakah ada perbedaan jumlah aktifitas enzim G - 6 - PD pada eri -

trofit domba dengan pada eritrosit manusia. Kemudian dicoba untuk membandingkan daya tahan eritrosit domba dengan eritrosit manusia, dengan menginkubasikan eritrosit keduanya dalam larutan Brilliant Cresyl Blue (B.C.B.) yang merupakan suatu bahan oksidan.

Adapun hipotesa yang akan diuji menyatakan bahwa aktifitas enzim G-6-PD pada eritrosit domba sama dengan pada eritrosit manusia, sehingga daya tahan eritrosit domba terhadap larutan B.C.B. sama dengan eritrosit manusia.

Pemilihan domba sebagai hewan percobaan pada penelitian ini disebabkan karena beberapa peneliti terdahulu melaporkan bahwa aktifitas G-6-PD pada eritrosit domba jauh lebih rendah daripada aktifitas G-6-PD pada eritrosit manusia, tetapi ternyata bahwa eritrosit domba juga tahan terhadap bahan oksidan seperti manusia normal. Dari penelitian yang dilakukan Smith (1968) pada eritrosit dari 11 ekor domba normal dengan cara pengujian enzim G-6-PD dari hemolisisat pada temperatur 25°C dan 340 mm, didapatkan bahwa aktifitas G-6-PD adalah $= 26,8 \pm 9,04 \mu\text{mole}/\text{men}/100 \text{ ml}$ eritrosit. Sedangkan aktifitas G-6-PD pada eritrosit dari lima manusia normal adalah $= 179 \pm 27,2 \mu\text{mole}/\text{men}/100 \text{ ml}$. eritrosit (13). Thompson R.H. dan J.R. Todd (1976) juga menemukan bahwa aktifitas enzim G-6-PD pada eritrosit domba adalah lebih rendah daripada aktifitas G-6-PD pada eritrosit manusia (14).

Dalam penelitian tersebut di atas Smith juga mendapatkan , bahwa walaupun aktifitas G-6-PD pada eritrosit domba rendah, tetapi pemberian bahan oksidan (Primaquin) tidak mempengaruhi kehidupan eritrositnya (13).

Dari kenyataan di atas yang diperoleh para peneliti terdahulu, maka penulis merasa tertarik dan mencoba mengadakan penelitian dengan judul : " Aktifitas enzim Glucose 6 Phosphate Dehydrogenase pada eritrosit domba dan manusia"

B A B II

MATERI DAN METODA PENELITIAN

2.1. Materi Penelitian :

2.1.1. Bahan :

Bahan-bahan yang dibutuhkan pada penelitian ini adalah :

2.1.1.1. Darah manusia yang normal, dengan syarat seperti tersebut ad. 2.2.1.3.

2.1.1.2. Darah domba yang normal, dengan syarat seperti tersebut ad. 2.2.1.3.

2.1.2. Bahan penunjang penelitian

Zat-sat kimia yang diperlukan, pada penelitian ini antara lain :

2.1.2.1. Antikoagulansia yang dipergunakan adalah sodium heparin.

2.1.2.2. Larutan Drabkins yang dipakai untuk menentukan kadar hemoglobin.

2.1.2.3. Larutan Hayem digunakan untuk penghitungan jumlah eritrosit.

2.1.2.4. Larutan Brilliant Cresyl Blue (B.C.B.) diperlukan untuk penghitungan jumlah retikulosit dan " Heinz bodies ".

2.1.2.5. NaCl physiologis; aquadest; " activating substrate " dan " base substrate " buatan B.D.H. Chemical Ltd., England diperlukan untuk pemeriksaan aktifitas G-6-PD.

	Domba	Manusia
Kadar Hb (g%)	9 - 15	11,4 - 17,7
Kadar P.C.V. (%)	27 - 45	35 - 50
Jumlah Eritrosit (x 10 ⁶ /cmm)	9 - 15	3,9 - 5,95
Jumlah Retikulosit (%)	0 - 0,5	0,8 - 1,5

2.2.2. Tata kerja penelitian

2.2.2.1. Contoh darah yang diambil secara acak dari domba dan manusia, dicampur dengan antikoagulan heparin, lalu kocok dengan baik. Darah domba kemudian dibawa ke Laboratorium Patologi Klinik di dalam termos es.

2.2.2.2. Kemudian diadakan pemeriksaan kadar Hb, kadar P.C.V., jumlah eritrosit serta retikulosit pada darah domba dan manusia di Laboratorium. Mengenai teknik pemeriksaannya dapat dilihat pada lampiran I. Hanya darah manusia dan domba yang normal saja yang dipergunakan pada penelitian ini, yaitu yang kadar Hb nya, kadar P.C.V., jumlah eritrosit serta retikulositnya memenuhi syarat-syarat pada 2.2.1.3 (lihat tabel I).

2.2.2.3. Setelah itu dilakukan pemeriksaan aktifitas enzim G-6-PD pada eritrosit domba dan manusia dengan cara " Ultra violet method " pada 340 nm menurut B. D.H. (Lampiran I).

2.2.2.4. Pemeriksaan jumlah " Heinz bodies " pada eritrosit domba dan manusia dilakukan setelah menginkubasi - kan eritrosit dalam larutan B.C.B. selama 3 jam .
(Lampiran I).

2.2.2.5. Pengumpulan data dari 30 sampel darah domba dan 30 sampel darah manusia dilakukan dalam waktu 3 minggu.

2.2.3. Pengolahan data :

Data tentang aktifitas enzim G-6-PD pada eritrosit domba dan manusia dikumpulkan dan ditabulasikan , kemudian dilakukan analisa dengan cara uji t dan teknik korelasi. (5, 6).

B A B III

HASIL PENELITIAN

3.1. Dari hasil yang didapatkan, maka penulis dapat laporkan bahwa aktifitas G-6-PD dan jumlah " Heinz bodies " pada eritrosit domba dan manusia adalah sebagai tertera pada tabel V.

3.1.1. Aktifitas rata rata enzim G-6-PD pada eritrosit dari 30 ekor domba yang normal adalah $21,466 \pm 3,388$ mIU / 10^9 eritrosit pada 25°C . Dan sesudah eritrosit domba diinkubasi dalam larutan B.C.B. selama tiga jam, maka didapatkan jumlah rata rata " Heinz bodies " adalah $1 \pm 2,082$ per 40 lapangan pandang.

3.1.2. Aktifitas rata rata enzim G-6-PD pada eritrosit dari 30 manusia yang normal adalah $263,366 \pm 11,057$ mIU / 10^9 eritrosit pada 25°C . Sedangkan jumlah rata rata " Heins bodies " setelah eritrosit diinkubasi dalam larutan B.C.B. selama tiga jam adalah $0,9 \pm 1,325$ per 40 lapangan pandang.

3.2. Setelah dilakukan uji t, didapatkan bahwa besarnya aktifitas enzim G-6-PD pada eritrosit domba dibandingkan dengan pada eritrosit manusia berbeda secara nyata. Hal ini terlihat dari hasil uji t pada taraf signifikansi 5 %.

$$t = 112,669 > t_{5\%} = 2 \text{ dengan d.b.} = 58$$

sehingga H_0 ditolak, yang berarti bahwa terdapat per-

bedaan yang bermakna pada besarnya aktifitas G-6- PD pada eritrosit domba dengan pada eritrosit manusia. (lampiran II).

- 3.3. Tidak ada perbedaan dalam jumlah " Heinz bodies " pada eritrosit domba, bila dibandingkan dengan pada eritrosit manusia setelah eritrosit diinkubasi dalam larutan B.C.B. selama tiga jam.

Hal ini terlihat dari hasil uji t pada taraf signifikansi 5% :

$$t = - 0,218 < t_{5\%} = 2 \text{ dengan d.b} = 58$$

sehingga H_0 diterima, yang berarti bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna dalam jumlah " Heinz bodies " pada eritrosit domba, bila dibandingkan dengan pada eritrosit manusia (Lampiran III).

- 3.4. Dengan tehnik korelasi " Product Moment " didapatkan bahwa korelasi antara aktifitas enzim G-6-PD dengan jumlah " Heinz bodies " pada eritrosit domba maupun pada eritrosit manusia adalah sebagai tertera dalam Lampiran IV.

- 3.4.1. Tidak ada korelasi antara aktifitas G-6-PD dengan jumlah " Heinz bodies " pada eritrosit domba.

Hal ini dapat dilihat dari koefisien korelasi (r) , pada taraf signifikansi 5%

$$r = - 0,355 < r_{5\%} = 0,361 \text{ dengan } n = 30$$

sehingga H_0 diterima, yang berarti bahwa tidak ada

korelasi antara G-6-PD dengan " Heinz bodies " .

3.4.2. Tidak ada korelasi antara aktifitas G-6-PD dengan jumlah " Heinz bodies " pada eritrosit manusia.

Hal ini dapat dilihat dari koefisien korelasi (r) pada taraf signifikansi 5 % :

$$r = 0,059 < r_{5\%} = 0,361 \text{ dengan } n = 30$$

sehingga H_0 diterima, yang berarti bahwa tidak ada korelasi antara G-6-PD dengan " Heinz bodies " .

3.5. Dari hasil 3.2; 3.3 dan 3.4 di atas, dapat diringkas sebagai berikut :

3.5.1. Bila eritrosit domba dengan eritrosit manusia dibandingkan, ternyata bahwa besarnya aktifitas enzim G - 6-PD berbeda secara nyata, tetapi tidak terdapat perbedaan yang nyata dalam jumlah " Heinz bodies " yang terbentuk.

3.5.2. Tidak ada korelasi antara tinggi rendahnya aktifitas enzim G-6-PD dengan terbentuknya " Heinz bodies " , baik pada eritrosit domba maupun pada eritrosit manusia.

P E M B A H A S A N

4.1. Banyak metoda yang dapat dipergunakan untuk mengetahui aktifitas enzim G-6-PD pada eritrosit, antara lain beberapa macam test penyaring, test reduksi methemoglobin secara kuantitatif, elektrophoresa, dan penentuan konstante dari Michaelis (9, 10, 16).

Pada penelitian ini metoda yang dipakai adalah pengujian enzim dari hemolizat secara " ultra violet method ", karena metoda ini cepat, hasilnya teliti dan dapat dipercaya. Sedangkan untuk mengetahui daya tahan eritrosit terhadap bahan oksidan, dipergunakan cara penghitungan jumlah " Heinz bodies " setelah eritrosit diinkubasi dalam larutan B.C.B. selama 3 jam. Cara ini dipilih dengan alasan bahwa adanya ' Heinz bodies ' merupakan petunjuk terjadinya kerusakan dari sel eritrosit pada reaksi redoks (1, 11, 14, 15, 17). Selain itu tehnik pengerjaannya mudah dan hasilnya dapat dipertanggung jawabkan.

4.2. Dari hasil penelitian ini didapatkan bahwa aktifitas enzim G-6-PD pada eritrosit domba = $242,533 \pm 41,343$ mIU/ml packed cells, pada 25°C ; 340 nm (tabel II) ; dan ini sesuai dengan hasil penelitian Smith dimana aktifitas G-6-PD pada eritrosit domba normal pada 25°C dan 340 nm adalah = $26,3 \pm 9,04$ $\mu\text{mole}/\text{min}/100$ ml eritrosit (13). Karena $1 \mu\text{mole}/\text{min} = 1$ unit (10, 16)

maka sekarang aktifitas G-6-PD = $268 \pm 90,4$ mIU/ml e - ritrosit.

Sekarang satuan yang biasa dipakai adalah mIU/ 10^9 eritrosit, sehingga hasil penelitian di atas dapat dikonversi menjadi = $21,466 \pm 3,388$ mIU/ 10^9 eritrosit, (Tabel II).

- 4.3. Pada eritrosit manusia didapatkan bahwa aktifitas enzim G-6-PD adalah = $1282,1 \pm 70,517$ mIU/ml packed cells pada 25°C , 340 nm atau = $263,366 \pm 11,057$ mIU/ 10^9 eritrosit (tabel II), dan ini sesuai dengan harga normal aktifitas G-6-PD menurut B.D.H. dimana aktifitas G-6-PD pada eritrosit manusia normal pada 25°C , 340 nm adalah = 1200 - 2000 mIU/ml packed cells (Lampiran I)
- 4.4. Dari hasil penghitungan statistik didapatkan bahwa besarnya aktifitas enzim G-6-PD pada eritrosit domba berbeda secara nyata, bila dibandingkan dengan aktifitas G-6-PD pada eritrosit manusia, dimana aktifitas G-6-PD pada eritrosit domba jaun lebih rendah dari pada aktifitas G-6-PD pada eritrosit manusia; dan ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Smith (1968) (13) dan Thompson et al (1976) (14). Keadaan ini secara teoritis manifestasinya adalah eritrosit domba lebih tidak tahan terhadap bahan oksidan dibandingkan dengan eritrosit manusia. Tetapi ternyata bahwa jumlah " Heinz bodies " yang terbentuk tidak berbeda diantara keduanya setelah eritrosit diinkubasi dalam larutan B.

C.B. selama tiga jam. Hal ini berarti bahwa domba walaupun aktifitas enzim G-6-PD pada eritrositnya rendah, tetapi tahan terhadap bahan oksidan (B.C.B.) seperti manusia normal: dan ini sesuai dengan hasil penelitian terdahulu oleh Smith (1968) (13) dan Thompson et al (1976) (14). Menurut Smith daya tahan yang tinggi dari eritrosit domba terhadap bahan oksidan, disebabkan karena eritrosit domba mempunyai kemampuan untuk mereduksi glutathion yang hanya sedikit lebih rendah dari eritrosit manusia normal (13).

- 4.5. Pada perhitungan statistik didapatkan bahwa tidak terdapat korelasi antara tinggi rendahnya aktifitas enzim G-6-PD dengan terbentuknya " Heinz bodies " sebagai akibat reaksi redoks dengan B.C.B. baik pada eritrosit domba maupun pada eritrosit manusia. Hal ini berarti , bahwa jumlah " Heinz bodies " tidak dapat digunakan untuk menentukan daya tahan eritrosit terhadap bahan oksidan. Hasil ini belum dapat nyata sekali, sebab dalam kepustakaan dinyatakan bahwa diagnosa keadaan defisiensi G-6-PD dapat ditetapkan dengan menemukan " Heinz bodies " dalam eritrositnya, tetapi terbentuknya " Heinz bodies " tidak selalu karena defisiensi G-6-PD pada eritrositnya (9, 17). Ataukah Heinz bodies memang tidak dapat digunakan untuk menentukan daya tahan eritrosit terhadap bahan oksidan yang disebabkan karena defisiensi G-6-PD pada eritrositnya.

B A B V

R I N G K A S A N

G-6-PD adalah suatu enzim dalam eritrosit yang diperlukan untuk menghasilkan bahan-bahan yang dapat mencegah terjadinya oksidasi berlebihan dalam eritrosit, yang mengakibatkan proses oksidasi denaturasi dari hemoglobin yang diikuti dengan kerusakan sel eritrosit. Peristiwa oksidasi berlebihan dalam eritrosit dapat terjadi bila penderita defisiensi enzim G-6-PD pada eritrositnya memakan obat yang bersifat oksidan atau bila menderita penyakit infeksi. Keadaan defisiensi enzim G-6-PD pada eritrosit ini dapat diturunkan dari orang tua pada anak-anaknya, dan diturunkan melalui chromosom X.

Pada domba dari penelitian yang dilakukan Smith (1968) didapatkan bahwa aktifitas enzim G-6-PD pada eritrosit domba jauh lebih rendah dari pada aktifitas G-6-PD pada eritrosit manusia. Pendapat ini juga didukung oleh Thompson R.H. dan J.R. Todd (1976). Lebih lanjut Smith mendapatkan bahwa walaupun aktifitas G-6-PD pada eritrosit domba adalah rendah, tetapi eritrosit domba tahan terhadap bahan-bahan oksidan. Berdasarkan kenyataan di atas, maka penulis merasa tertarik dan ingin mengetahui apakah hal tersebut di atas juga terjadi pada domba-domba di Indonesia.

Telah dilakukan penelitian pada darah dari 30 ekor domba dan darah dari 30 manusia yang dipilih secara acak. Darah domba diambil dari kuman Potong Hewan Kotamadya Su -

rabaya, sedang darah manusia diambil dari Laboratorium Patologi Klinik Unair.

Kemudian pada darah domba dan manusia dilakukan pemeriksaan kadar Hb, P.C.V., jumlah eritrosit dan jumlah retikulositnya. Hanya darah domba dan darah manusia yang normal saja yang dipergunakan pada penelitian ini.

Setelah itu dilakukan pemeriksaan aktifitas enzim G-6-PD dengan cara " Ultraviolet method " dari B.D.H., dan penghitungan jumlah " Heinz bodies " pada eritrosit domba dan pada eritrosit manusia.

Dalam penelitian ini, dengan menggunakan uji t dan tehnik korelasi " Product Moment " didapatkan bahwa aktifitas enzim G-6-PD pada eritrosit domba berbeda secara nyata dibandingkan dengan aktifitas G-6-PD pada eritrosit manusia; tetapi tidak didapatkan perbedaan jumlah " Heinz bodies " diantara kedua eritrosit tersebut. Selain itu didapatkan bahwa tidak ada korelasi antara tinggi rendahnya aktifitas G-6-PD dengan terbentuknya " Heinz bodies ", baik pada eritrosit domba maupun eritrosit manusia.

TABEL I: Hasil pemeriksaan darah domba (D) dan manusia (M)
normal

No	Hb (g %)		PCV (%)		Eritrosit (juta/cmm)		Retikulosit (%)	
	D	M	D	M	D	M	D	M
1	9,6	13,9	28	40	10,20	4,500	0	0,6
2	14	13,7	40	39	13,17	4,450	0	1
3	9,4	14,8	27	45	10,10	5,160	0	0,8
4	11,1	14	33	41	11,60	4,510	0,2	1,2
5	9,7	15	29	46	10,75	5,250	0	0,9
6	13,7	13,8	40	40	13,10	4,450	0	1
7	9,4	14,6	28	45	10,10	4,950	0,1	1,3
8	11,4	15,2	34	46	11,75	5,320	0,3	0,8
9	13,6	13,8	38	40	12,95	4,490	0	1,5
10	11,4	14,2	34	42	11,80	4,770	0	0,8
11	12	14,4	35	45	11,95	4,800	0	0,9
12	11,3	15	33	46	11,70	5,240	0,2	1,2
13	9,4	14,4	28	44	10,15	4,750	0	1,1
14	10,4	15,4	32	48	11,25	5,450	0	0,9
15	10,6	15,2	32	46	11,30	5,310	0	1,4
16	9,9	14,5	30	44	11,10	4,840	0,4	1,2
17	10,5	15,4	32	47,5	11,25	5,410	0,1	0,8
18	12,1	14,6	35	45	12,20	4,940	0	1
19	9,1	14,5	26	45	9,80	4,810	0	1,2
20	9,4	13,9	27	40	10,10	4,490	0,1	0,9

21	9,7	15,6	29	48	10,50	5,570	0,1	1,4
22	10,7	15,3	32	47	11,35	5,425	0	1,1
23	10	14,2	30	42	11,15	4,770	0	0,7
24	10,8	14,6	32	46	11,30	5,050	0,2	1
25	11,1	15,1	33	46	11,65	5,280	0	0,8
26	9,8	14	29,5	40,5	10,80	4,500	0,1	0,8
27	11,3	13,3	34	39,5	11,75	4,360	0,3	1,2
28	10,8	13,1	33	39	11,40	4,350	0	0,9
29	10,4	13,5	31	39,5	11,20	4,400	0	1
30	9,8	14,2	30	42	10,95	4,760	0	0,8

TABEL II: Aktifitas G-6-PD pada eritrosit domba (D) dan manusia (M)

No	$\Delta OD/\text{menit} \times 10^{-5}$		mIU/ml packed cells		mIU/ 10^9 Eritrosit	
	D	M	D	M	D	M
1	214	1248	206,430	1203,858	20	268
2	257	1210	247,909	1167,202	19	262
3	272	1332	262,379	1284,887	26	249
4	262	1302	252,733	1255,948	22	278
5	327	1392	315,434	1342,765	29	256
6	307	1321	296,141	1274,276	23	286
7	199	1362	191,961	1313,826	19	265
8	299	1348	288,424	1297,427	25	244
9	333	1237	321,221	1193,247	25	266
10	266	1350	256,591	1302,250	22	273
11	187	1344	180,385	1296,463	15	270
12	271	1363	261,414	1314,790	22	251
13	324	1328	312,540	1281,028	31	270
14	246	1448	237,299	1396,784	21	256
15	274	1378	264,308	1329,260	23	250
16	206	1320	198,713	1273,311	18	263
17	244	1499	235,369	1445,980	21	267
18	318	1354	306,752	1306,109	25	264
19	185	1331	178,456	1283,922	18	267
20	196	1281	189,067	1235,691	19	275
21	212	1454	204,501	1402,572	19	252

22	249	1377	240,192	1328,295	21	248
23	223	1326	215,112	1279,099	19	268
24	258	1344	248,874	1296,463	22	257
25	281	1379	271,061	1330,225	23	252
26	226	1310	218,006	1263,665	20	281
27	252	1260	243,086	1215,434	21	279
28	240	1124	231,511	1084,244	20	249
29	221	1251	213,183	1206,752	19	274
30	196	1305	189,067	1258,842	17	264
X =			242,533	1282,1	21,466	263,366
SD =			41,343	70,517	3,388	11,057

TABEL III: Data aktifitas G-6-PD dan jumlah "Heinz bodies" pada eritrosit domba

No	G-6-PD(X_d)	Heinz bodies (Y_d)	X_d^2	Y_d^2	$X_d Y_d$
	mIU/ 10^9 eritrosit	jumlah/40 lap.pandang			
1	20	0	400	0	0
2	19	0	361	0	0
3	20	0	676	0	0
4	22	0	484	0	0
5	29	2	841	4	58
6	23	0	529	0	0
7	19	1	361	1	19
8	25	1	625	1	25
9	25	0	625	0	0
10	22	0	484	0	0
11	15	3	225	9	45
12	22	0	484	0	0
13	31	0	961	0	0
14	21	1	441	1	21
15	23	0	529	0	0
16	18	2	324	4	36
17	21	0	441	0	0
18	25	0	625	0	0
19	18	11	324	121	198
20	19	0	361	0	0
21	19	2	361	4	38

22	21	0	441	0	0
23	19	1	361	1	19
24	22	0	484	0	0
25	23	0	529	0	0
26	20	2	400	4	40
27	21	0	441	0	0
28	20	0	400	0	0
29	19	1	361	1	19
30	17	3	289	9	51
Σ =	644	30	14.168	160	569

TABEL IV: Data aktifitas G-6-PD dan jumlah " Heinz bodies "
pada eritrosit manusia

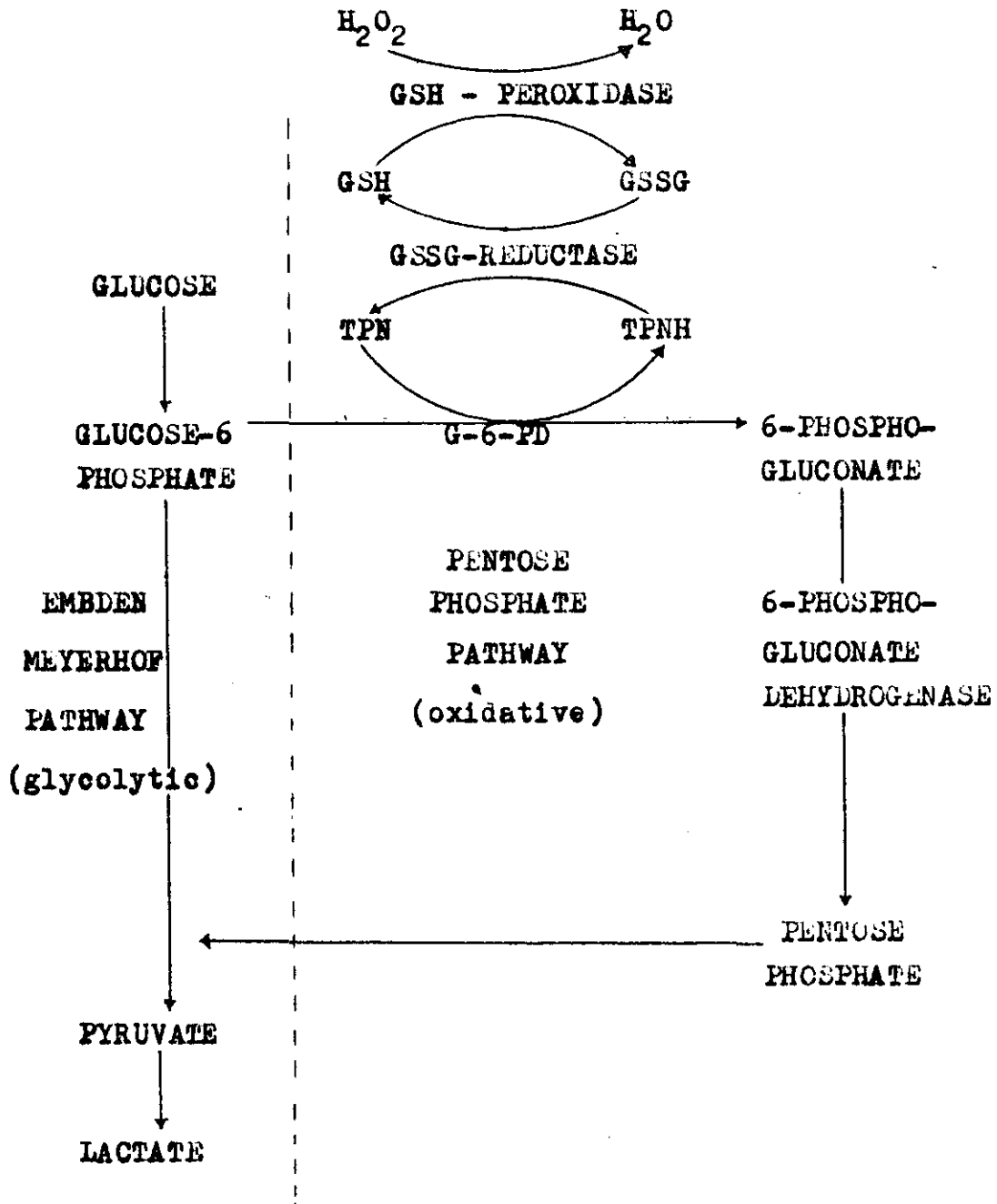
No	G-6-PD (Xm)	Heinz bodies (Ym)	Xm ²	Ym ²	XmYm
	mIU/10 ⁹ eritrosit	Jumlah/40 lap.pandang			
1	268	1	71824	1	268
2	262	1	68644	1	262
3	249	0	62001	0	0
4	278	0	77284	0	0
5	256	3	65536	9	768
6	286	0	81796	0	0
7	265	0	70225	0	0
8	244	0	59536	0	0
9	266	2	70756	4	532
10	273	2	74529	4	546
11	270	0	72900	0	0
12	251	0	63001	0	0
13	270	0	72900	0	0
14	256	1	65536	1	256
15	250	0	62500	0	0
16	263	5	69169	25	1315
17	267	1	71289	1	267
18	264	1	69696	1	264
19	267	0	71289	0	0
20	275	0	75625	0	0
21	252	0	63504	0	0

22	245	0	60025	0	0
23	268	0	71824	0	0
24	257	2	66049	4	514
25	252	0	63504	0	0
26	281	4	78961	16	1124
27	279	0	77841	0	0
28	249	3	62001	9	747
29	274	1	75076	1	274
30	264	0	69696	0	0
Σ	7901	27	2084517	77	7137

TABEL V: Harga rata-rata aktifitas G-6-PD dan " Heinz bodies " pada eritrosit domba dan manusia

	G-6-PD	Heinz bodies
	mIU/10 ⁹ eritrosit	jumlah/40 lapangan pandang
Domba	21,466 ± 3,388	1 ± 2,082
Manusia	263,366 ± 11,057	0,9 ± 1,325

Harga rata-rata = mean ± 1 S.D.



GAMBAR I: Metabolisme glucose dalam eritrosit.

Sumber : Wintrobe M.M.; G.R.Lee; D.R.Boggs; T.C.Bithell
 J.W.Athens; J. Foerster 1974, Clinical Hemato-
 logy, 7th edition, Lea & Febiger, Philadelphia.

LAMPIRAN I: Tehnik pemeriksaan darah.

1.1. Pemeriksaan kadar hemoglobin dengan cara cyanmethemoglobin (12).

- Siapkan larutan Drabkins yang terdiri dari :

NaHCO_3	1 g
KCN	50 mg
$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$	200 mg
Aquadest ad.	1000ml

- Darah vena dihisap ke dalam pipet hemoglobin sampai tepat tanda 20 cmm.
Bagian luar pipet dibersihkan dari sisa darah dengan kapas kering.
- Kemudian darah dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 5 ml larutan Drabkins, lalu pipet dibilas beberapa kali dengan larutan Drabkins tadi dan pipet ditiup keras keras pada dasar tabung untuk oksigenasi.
- Diamkan selama 10 menit, setelah itu larutan Drabkins sebanyak 5 ml dituangkan ke dalam spektrophotometer sebagai blank, kemudian jarum penunjuk dibuat nol.
- Kemudian larutan yang ditest dituangkan ke dalam spektrophotometer dan dibaca skalanya. Ini menunjukkan kadar hemoglobin dalam g %.

1.2. Menentukan kadar P.C.V. dengan cara mikrohematokrit.

(12).

- Darah vena dimasukkan ke dalam tabung kapiler yang di dalamnya telah dilapisi dengan heparin.
- Setelah salah satu ujungnya ditutup, lalu diputar dalam alat pemusing yang khusus, dan kemudian volume % dari eritrosit dibaca.

1.3. Menghitung jumlah eritrosit (12).

- Siapkan larutan Hayem yang terdiri dari :

HgCl ₂	0,25 g
NaCl	9,50 g
Na ₂ SO ₄	2,50 g
Aquadest ad	100 ml

- Kemudian siapkan kamar penghitung dari " Improved Neubauer ", gelas penutup diletakkan di atas kamar penghitung sehingga menutupi kedua daerah penghitung
- Darah vena dihisap ke dalam pipet eritrosit dari Thoma sampai tanda 0,5; bagian luar pipet dibersihkan dengan kapas kering.
- Segera larutan Hayem dihisap sampai tanda 101, kemudian kedua ujung pipet ditutup dengan ibu jari dan jari tengah, lalu dikocok dengan gerakan tegak lurus pada sumbu panjangnya selama 2 menit.
- Larutan kemudian dibuang 3 tetes, lalu larutan darah dimasukkan ke dalam kamar penghitung dengan ujung pipet pada tepi gelas penutup.

- Kemudian kamar penghitung yang sudah terisi ini di letakkan di bawah mikroskop dan penghitungan dilakukan dengan menggunakan obyektif 45 X.
- Hitung jumlah eritrosit yang terdapat dalam lima empat persegi dan hasilnya dikalikan dengan 10.000 sehingga didapatkan jumlah eritrosit/cmm.

1.4. Menghitung jumlah retikulosit (12).

- Siapkan larutan Brilliant Cresyl Blue (B.C.B.) yang terdiri dari :

Brilliant Cresyl Blue	1	g
NaCl	0,85	g
Citras Natricus	0,4	g
Aquadest	100	ml

- Campurkan satu tetes darah vena dengan dua tetes larutan B.C.B. dalam botol kecil, kemudian biarkan selama tiga jam.
- Sesudah dikocok dengan baik, dibuat sediaan kering dengan membuat hapusan darah, dan kemudian diperiksa di bawah mikroskop dengan minyak imersi.
- Hitung 1000 sel eritrosit dan di antaranya ada berapa retikulosit.
- Hasilnya dinyatakan dalam prosen atau promil.

1.5. Pemeriksaan aktifitas enzim G-6-PD dengan cara " Ultra violet method " (2)

- Mempersiapkan hemolisat:

Darah dipusingkan dalam alat pemusing, kemudian plas

ma, " buffy coat " dan lapisan atas dari eritrosit dikeluarkan.

Kemudian eritrosit yang tinggal dicuci dua kali dengan larutan NaCl fisiologis, kemudian dipusingkan dan "supernatant" dikeluarkan. Setelah itu eritrosit pada dasar tabung diambil dan dicampur dengan aquadest dengan pengenceran 1 : 200. Selanjutnya hemolisat dipusingkan dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit, dan supernatant yang bebas dari "stroma" dipergunakan untuk test ini.

- Pembuatan " blank "

Campurkan 0,5 ml hemolisat dengan 1 ml aquadest, kemudian pindahkan ke dalam tabung kuvet dan linat "optical density" pada spektrofotometer Coleman Junior sebelum hemolisat yang ditest dilihat.

" Optical density " tidak boleh $> 0,3$; kalau lebih besar harus diencerkan dahulu.

- Cara kerja :

Pipet 0,9 ml " base substrate " dan 0,5 ml hemolisat ke dalam tabung dan dibiarkan dalam temperatur 25°C selama 3 menit, yang dilakukan dengan jalan menempatkan tabung dalam air es pada temperatur 25°C ; kemudian tambahkan 0,1 ml " activating substrate ". Campur baik-baik, pindahkan segera ke dalam tabung kuvet dengan garis tengah 1 cm, kemudian masukkan ke dalam spektrofotometer dan catat perubahan " optical density " (ΔOD)

dari larutan pada 340 nm, dengan larutan hemoliset sebagai blank.

Lakukan pencatatan tiap menit sampai jarum penunjuk tidak bergerak lagi.

Temperatur tabung kuvet sebelum dan sesudah percobaan dicatat.

- Perhitungan :

Hitung temperatur rata-rata dari larutan selama percobaan dan gunakan " temperatur correcting factor " (T_f)

Pada penelitian ini temperatur selama percobaan dipertahankan 25°C sehingga $T_f = 1$.

Hitung perubahan rata-rata dari " optical density "

Aktifitas enzim dalam mIU per ml packed cells:

$$\Delta\text{OD}/\text{menit} \times \frac{200.000}{1,0} \times \frac{3,0}{6,22} \times T_f$$

Berga normal aktifitas G-6-PD pada manusia adalah : 1200 - 2000 mIU/ml packed cells pada 25°C .

Sekarang satuan aktifitas enzim G-6-PD yang dipergunakan ialah

$$\text{mIU}/10^9 \text{ eritrosit}$$

Cara mengubah satuan di atas adalah sebagai berikut:

(8)

Jika unit/ml packed cells dibagi dengan jumlah eritrosit / ml dan dikalikan dengan 10^9 maka = unit / 10^9 eritrosit

1.6. Menghitung jumlah " Heinz bodies " (12)

- Pada sediaan hapus di atas seperti tertera pada ad. 1.4. sekaligus juga dapat diperiksa ada tidaknya " Heinz bodies " pada eritrosit.
- Hitung jumlah " Heinz bodies " dalam 40 lapangan pandang di bawah mikroskop dengan minyak imersi.

LAMPIRAN II: Penghitungan statistik aktifitas G-6-PD.

$$H_0 : G-6-PD_d = G-6-PD_m$$

$$H_A : G-6-PD_d \neq G-6-PD_m$$

dimana $G-6-PD_d$ = G-6-PD pada eritrosit domba

$G-6-PD_m$ = G-6-PD pada eritrosit manusia

$$db_x = 30 + 30 - 2 = 58$$

$$M_{Xd} = \frac{644}{30} = 21,466$$

$$M_{Xm} = \frac{7901}{30} = 263,366$$

$$S.D_{Xd} = \sqrt{\frac{\sum X_d^2}{n} - M_{Xd}^2} = \sqrt{\frac{14168}{30} - (21,466)^2} = 3,388$$

$$S.D_{Xm} = \sqrt{\frac{\sum X_m^2}{n} - M_{Xm}^2} = \sqrt{\frac{2084517}{30} - (263,366)^2} = 11,057$$

$$S.D_{M_{Xd}} = \frac{S.D_{Xd}}{\sqrt{n-1}} = \frac{3,388}{\sqrt{30-1}} = 0,629$$

$$S.D_{M_{Xm}} = \frac{S.D_{Xm}}{\sqrt{n-1}} = \frac{11,057}{\sqrt{30-1}} = 2,053$$

$$S.D_{bM} = \sqrt{S.D_{M_{Xd}}^2 + S.D_{M_{Xm}}^2} = \sqrt{(0,629)^2 + (2,053)^2} = 2,147$$

$$t = \frac{M_{Xm} - M_{Xd}}{S.D_{bM}} = \frac{263,366 - 21,466}{2,147} = 112,669$$

Jika kita lihat tabel t dengan $db = 58$, maka dida -
patkan pada taraf signifikansi 5 % = 2. Karena harga t yang
diperoleh = 112,669 adalah lebih besar dari pada harga kri -
tik t, maka H_0 kita tolak pada taraf signifikansi 5 %.

Jadi aktifitas enzim G-6-PD pada eritrosit domba dengan pada eritrosit manusia berbeda secara signifikan.

LAMPIRAN III: Penghitungan statistik jumlah " Heinz bodies "

$$H_0 : H_z \cdot b_d = H_z \cdot b_m$$

$$H_A : H_z \cdot b_d \neq H_z \cdot b_m$$

dimana $H_z \cdot b_d$ = " Heinz bodies " pada eritrosit domba

$H_z \cdot b_m$ = " Heinz bodies " pada eritrosit manusia

$$db_y = 30 + 30 - 2 = 58$$

$$M_{Yd} = 30/30 = 1$$

$$M_{Ym} = 27/30 = 0,9$$

$$S.D_{Yd} = \sqrt{\frac{\sum Y_d^2}{n} - M_{Yd}^2} = \sqrt{\frac{160}{30} - (1)^2}$$

$$= 2,082$$

$$S.D_{Ym} = \sqrt{\frac{\sum Y_m^2}{n} - M_{Ym}^2} = \sqrt{\frac{77}{30} - (0,9)^2}$$

$$= 1,325$$

$$S.D_{M_{Yd}} = \frac{S.D_{Yd}}{\sqrt{n-1}} = \frac{2,082}{\sqrt{30-1}} = 0,387$$

$$S.D_{M_{Ym}} = \frac{S.D_{Ym}}{\sqrt{n-1}} = \frac{1,325}{\sqrt{30-1}} = 0,246$$

$$S.D_{bM} = \sqrt{S.D_{M_{Yd}}^2 + S.D_{M_{Ym}}^2} = \sqrt{(0,387)^2 + (0,246)^2}$$

$$= 0,458$$

$$t = \frac{M_{Ym} - M_{Yd}}{S.D_{bM}} = \frac{0,9 - 1}{0,458} = -0,218$$

Jika kita lihat tabel t dengan $db = 58$, maka dida -
patkan pada taraf signifikansi 5 % = 2. Karena harga t yang

diperoleh $- - 0,218$ adalah lebih kecil daripada harga kritis t , maka H_0 kita terima pada taraf signifikansi 5 %.

Jadi jumlah " Heinz bodies " pada eritrosit domba dengan pada eritrosit manusia tidak ada perbedaan yang nyata.

LAMPIRAN IV : Korelasi antara aktifitas G-6-PD dengan jumlah Heinz bodies pada eritrosit domba dan eritrosit manusia

Domba :

H_0 : Tidak ada korelasi antara aktifitas enzim G-6-PD dengan jumlah " Heinz bodies " pada eritrosit domba, dengan asumsi bahwa hubungan antara enzim G-6-PD dengan " Heinz bodies " adalah linier.

Disini dipergunakan tehnik korelasi " Product Moment " .

$$r_{X_d Y_d} = \frac{\sum X_d Y_d - \frac{(\sum X_d)(\sum Y_d)}{n}}{\sqrt{\left\{ \sum X_d^2 - \frac{(\sum X_d)^2}{n} \right\} \left\{ \sum Y_d^2 - \frac{(\sum Y_d)^2}{n} \right\}}}$$

$$= \frac{569 - \frac{644 \cdot 30}{30}}{\sqrt{\left\{ 14168 - \frac{(644)^2}{30} \right\} \left\{ 160 - \frac{(30)^2}{30} \right\}}}$$

$$= - 0,355$$

Pada tabel r product moment dengan $n = 30$, pada taraf signifikansi 5 % harga kritik $r_{5\%} = 0,361$.

H_0 diterima, sebab $r_{X_d Y_d} = - 0,355$ $r_{5\%} = 0,361$

Kita simpulkan bahwa antara G-6-PD dengan " Heinz bodies " pada eritrosit domba tidak ada korelasi.

Manusia :

H_0 : Tidak ada korelasi antara aktifitas enzim G-6-PD dengan jumlah " Heinz bodies " pada eritrosit manusia, dengan asumsi bahwa hubungan antara enzim G-6-PD dengan " Heinz bodies " adalah linier.

Disini dipergunakan tehnik korelasi " Product Moment "

$$\begin{aligned}
 r_{X_m Y_m} &= \frac{\sum X_m Y_m - \frac{(\sum X_m)(\sum Y_m)}{n}}{\sqrt{\left\{ \sum X_m^2 - \frac{(\sum X_m)^2}{n} \right\} \left\{ \sum Y_m^2 - \frac{(\sum Y_m)^2}{n} \right\}}} \\
 &= \frac{7137 - \frac{7901 \cdot 27}{30}}{\sqrt{\left\{ 2084517 - \frac{(7901)^2}{30} \right\} \left\{ 77 - \frac{(27)^2}{30} \right\}}} \\
 &= 0,059
 \end{aligned}$$

Pada tabel r " product moment " dengan n = 30, pada taraf signifikansi 5 %, harga kritik $r_{5\%} = 0,361$.

H_0 diterima, sebab $r_{X_m Y_m} = 0,059 < r_{5\%} = 0,361$

Kita simpulkan bahwa antara G-6-PD dengan " Heinz bodies " pada eritrosit manusia tidak ada korelasi.

LAMPIRAN V : Tabel nilai-nilai t

d.b.	Taraf Signifikansi							
	50%	40%	20%	10%	5%	2%	1%	0,1%
1	1,000	1,576	3,078	6,314	12,706	31,821	63,657	636,691
2	0,816	1,061	1,886	2,920	4,303	6,965	9,925	31,598
3	0,765	0,978	1,638	2,353	3,182	4,541	5,841	12,941
4	0,741	0,941	1,533	2,132	2,776	3,747	4,604	8,610
5	0,727	0,920	1,476	2,015	2,571	3,365	4,032	6,859
6	0,718	0,906	1,440	1,943	2,447	3,143	3,707	5,959
7	0,711	0,896	1,415	1,895	2,365	2,998	3,499	5,405
8	0,706	0,889	1,397	1,860	2,306	2,896	3,355	5,041
9	0,703	0,883	1,383	1,833	2,262	2,821	3,250	4,781
10	0,700	0,879	1,372	1,812	2,228	2,764	3,169	4,587
11	0,697	0,876	1,363	1,796	2,201	2,718	3,106	4,437
12	0,695	0,873	1,356	1,782	2,179	2,681	3,055	4,318
13	0,694	0,870	1,350	1,771	2,160	2,650	3,012	4,221
14	0,692	0,868	1,345	1,761	2,145	2,624	2,977	4,140
15	0,691	0,866	1,341	1,753	2,131	2,602	2,947	4,073
16	0,690	0,865	1,337	1,746	2,120	2,583	2,921	4,015
17	0,689	0,863	1,333	1,740	2,110	2,567	2,898	3,965
18	0,688	0,862	1,330	1,734	2,101	2,552	2,878	3,922
19	0,688	0,861	1,328	1,729	2,093	2,539	2,861	3,883
20	0,687	0,860	1,325	1,725	2,086	2,528	2,845	3,850
21	0,686	0,859	1,323	1,721	2,080	2,518	2,831	3,819
22	0,686	0,858	1,321	1,717	2,074	2,508	2,819	3,792
23	0,685	0,858	1,319	1,714	2,069	2,500	2,807	3,767
24	0,685	0,857	1,318	1,711	2,064	2,492	2,797	3,745
25	0,684	0,856	1,316	1,708	2,060	2,485	2,787	3,725
26	0,684	0,856	1,315	1,706	2,056	2,479	2,779	3,707
27	0,684	0,855	1,314	1,703	2,052	2,473	2,771	3,690
28	0,683	0,855	1,313	1,701	2,048	2,467	2,763	3,674
29	0,683	0,854	1,311	1,699	2,045	2,462	2,756	3,659
30	0,683	0,854	1,310	1,697	2,042	2,457	2,750	3,646
40	0,681	0,851	1,303	1,684	2,021	2,423	2,704	3,551
60	0,679	0,848	1,296	1,671	2,000	2,390	2,660	3,460
120	0,677	0,845	1,289	1,658	1,980	2,358	2,617	3,373
∞	0,674	0,842	1,282	1,645	1,960	2,326	2,576	3,291

Sumber : Hadi S. 1975. Statistik. Jilid II. Cetakan I.
 Yayasan Penerbitan Fakultas Psikologi U.G.M.
 Yogyakarta.

LAMPIRAN VI: Tabel nilai-nilai r PRODUKT MOMENT "

N	Taraf Signif		N	Taraf Signif		N	Taraf Signif	
	5%	1%		5%	1%		5%	1%
3	0,997	0,999	26	0,388	0,496	55	0,266	0,345
4	0,950	0,990	27	0,381	0,487	60	0,254	0,330
5	0,878	0,959	28	0,374	0,478	65	0,244	0,317
			29	0,367	0,470	70	0,235	0,306
6	0,811	0,917	30	0,361	0,463	75	0,227	0,296
7	0,754	0,874						
8	0,707	0,834	31	0,355	0,456	80	0,220	0,286
9	0,666	0,798	32	0,349	0,449	85	0,213	0,278
10	0,632	0,765	33	0,344	0,442	90	0,207	0,270
			34	0,339	0,436	95	0,202	0,263
11	0,602	0,735	35	0,334	0,430	100	0,195	0,256
12	0,576	0,708						
13	0,553	0,684	36	0,329	0,424	125	0,176	0,230
14	0,532	0,661	37	0,325	0,418	150	0,159	0,210
15	0,514	0,641	38	0,320	0,413	175	0,148	0,194
			39	0,316	0,408	200	0,138	0,181
16	0,497	0,623	40	0,312	0,403	300	0,113	0,148
17	0,482	0,606						
18	0,468	0,590	41	0,308	0,398	400	0,098	0,128
19	0,456	0,575	42	0,304	0,393	500	0,088	0,115
20	0,444	0,561	43	0,301	0,389			
			44	0,297	0,384	600	0,080	0,105
21	0,433	0,549	45	0,294	0,380	700	0,074	0,097
22	0,423	0,537						
23	0,413	0,526	46	0,291	0,376	800	0,070	0,091
24	0,404	0,515	47	0,288	0,372	900	0,065	0,086
25	0,396	0,505	48	0,284	0,368			
			49	0,281	0,364	1000	0,062	0,081
			50	0,279	0,361			

Sumber : Hadi S. 1975. Statistik. Jilid II. Cetakan I.

Yayasan Penerbitan Psikologi U.G.M.

Yogyakarta.

DAFTAR KEPUSTAKAAN

1. Allen D.W.; G.J. Johnson; S. Cadman and M.E.Kaplan(1978)
Membrane polypeptide aggregates in glucose 6 phos -
phate dehydrogenase deficient and in vitro aged red
blood cells. J. Lab. Clin. Med. 91 : 321 - 327.
2. B.D.H. The determination of G-6-PD. Ultra violet method
at 340 nm B.D.H. Chemicals Ltd. England.
3. Beutler E. 1976. Glucose 6 phosphate dehydrogenase defi-
ciency. Am. J. Clin. Path. 47 : 303 - 311.
4. Beutler E. 1968. The genetics of glucose6phosphate dehy-
drogenase deficiency, in Beutler E. (ed): Hereditary
Disorders of Erythrocyte Metabolism. Grune & Strat -
ton. New York. p: 114 - 125.
5. Hadi S. 1975. Statistik. Jilid II. Cetakan I. Yayasan Pe-
nerbitan Fakultas Psikologi U.G.M. Yogyakarta, hal .
257 - 308; 358 - 359.
6. Hadi S. 1978. Metodologi Research. Jilid III. Cetakan ke
III. Yayasan Penerbitan Fakultas Psikologi U.G.M .
Yogyakarta. hal. 308 - 395.
7. Huannekens F.M.; G.K. Kerwar; A. Kajita 1968. Methemo -
globin reductases, in Beutler E. (ed) : Hereditary
Disorders of Erythrocyte Metabølism Grune & Stratton
New York. p: 87.

8. Löhr G.W. and H.D. Waller 1965. Glucose 6 phosphate dehydrogenase, in Bergmeyer H.U. (ed): Methods of Enzymatic Analysis, second printing. Acad. Press. New York. London. p: 744 - 751.
9. Miale J.B. 1972. Laboratory Medicine Hematology. Fourth edition. The C.V. Mosby Company. St. Louis. p: 765 - 769, 800 - 801, 1230 - 1233.
10. Motulsky A.G. and A. Yoshida. 1969. Methods for the study of red cell glucose 6 phosphate dehydrogenase, in Yunis J.J. (ed): Biochemical Methods in Red Cell Genetics. Acad. Press. New York. London p: 51 - 93.
11. Schalm O.W.; N.C.Jain; E.J.Carroll 1975. Veterinary Hematology. Third edition. Lea & Febiger. Philadelphia p: 144, 149 - 150, 387 - 388, 447.
12. Siswadi I.; I.B. Jelantik; H. Notopuro. 1977. Buku Penuntun Laboratorium Hematologi. Cetakan ke IV. Bagian Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Surabaya. Hal. 17 - 53.
13. Smith J.E. 1968. Low erythrocyte glucose 6 phosphate dehydrogenase activity and primaquine insensitivity in sheep. J. Lab. Clin. Med. 71 : 826 - 833.
14. Thompson R.H.; J.R. Todd. 1976. Role of pentose phosphate pathway in haemolytic crisis of chronic copper toxicity of sheep. Res. Vet. Sci. 20 : 257 - 260.

15. Udomratn T.; M.H. Steinberg; G.D. Campbell Jr. and F.J. Oelshlegel Jr. 1977. Effects of ascorbic acid on glucose 6 phosphate dehydrogenase deficient erythrocytes Studies in an animal model. Blood 49 : 471 - 475.
16. W.H.O. Scientific Group 1967. Standardization of procedures for the study of glucose 6 phosphate dehydrogenase. W.H.O. Tech. Rep. Ser. 366 Geneva.
17. Wintrobe M.M.; G.R.Lee; D.R.Boggs; T.C.Bithell; J.W. Athens; J. Foerster 1974. Clinical Hematology seventh edition. Lea & Febiger. Philadelphia. p. 779 - 793.
18. Yoshida A.; E. Beutler; A.G. Motulsky. 1971. Human glucose 6 phosphate dehydrogenase variants. Bull. W. H. O. 45 : 243 - 253.
19. Yoshida A.; M. Lin. 1973. Regulation of glucose 6 phosphate dehydrogenase activity in red blood cells from hemolytic and non hemolytic variant subjects. Blood 41 : 877 - 891.
20. Yunis J.J.; W.G. Yasminch. 1969. Glucose metabolism in human erythrocytes in Yunis J.J. (ed) : Biochemical Methods in Red Cell Genetics. Acad. Press New York . London. p. 1 - 9.