

PENGARUH WAKTU PENGAMBILAN SAMPEL DARAH TERHADAP PEMERIKSAAN TESTOSTERON

Mirhansyah Ardana

*Laboratorium Penelitian dan Pengembangan FARMAKA TROPIS Fakultas Farmasi
Universitas Mulawarman, Samarinda, Kalimantan Timur
email: mirhan@farmasi.unmul.ac.id*

ABSTRACT

The research about “The Influence of Sampling Time to Testosterone for Medical Check Up” had been developed to 19 man aged 19 – 25 years old. Sample was collected at 8 a.m. and 12 a.m. to determine testosterone serum level. Determining of testosterone serum level was done using Electrochemiluminescence Immunoassay(ECLIA). The result show that testosterone serum level mean at 8 a.m. (608.90 ng/dL) is slightly lower than testosterone serum level at 12 a.m. (647.95 ng/dL). The analysis of t test ($\alpha=0.05$) show that there was not significantly difference between testosterone level mean at 8 a.m. and 12 a.m. So the sampling time to determine testosterone serum level to men can be done until 12.00 a.m.

Keywords: *Testosterone, Electrochemiluminescence, Immunoassay*

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian mengenai “Pengaruh Waktu Pengambilan Sampel Darah Terhadap Pemeriksaan Testosteron”. Sampel darah diambil dari 19 pria berumur 19 – 25 tahun. Sampel darah dikumpulkan pada pukul 08.00 dan pukul 12.00 untuk pemeriksaan kadar testosteron. Penentuan kadar testosteron dilakukan menggunakan metode *Electrochemiluminescence Immunoassay* (ECLIA). Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar testosteron rata-rata pada pukul 08.00 (608,90 ng/dL) sedikit lebih rendah daripada kadar testosteron rata-rata pada pukul 12.00 (647,95 ng/dL). Hasil analisis uji t ($\alpha = 0,05$) menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kadar testosteron rata-rata pada pengambilan pukul 08.00 dan pukul 12.00. Sehingga pengambilan sampel darah untuk pemeriksaan kadar testosteron pada pria dewasa dapat dilakukan hingga pukul 12.00.

Kata kunci: *Testosteron, Electrochemiluminescence Immunoassay*

PENDAHULUAN

Testosteron adalah hormon androgen utama yang disekresikan oleh sel Leydig pada testis pria (Tietz *et al.*, 1994) dan ovarium wanita (Pesce and Kaplan, 1987). Sel-sel Leydig dari testis distimulasi oleh *luteinizing hormon* (LH) dan *follicle stimulating hormone* (FSH) untuk menghasilkan testosteron sebanyak 2,5-11 mg sehari, sedangkan ovarium wanita menghasilkan hanya 0,5-2 mg sehari (Hoan Tjay dan Raharja, 2002).

Testosteron dan hormon androgen lain disintesis dari kolesterol yang

terdapat pada sitoplasma sel. Proses sintesis ini berlangsung pada membran bagian dalam mitokondria (Tietz *et al.*, 1994). Selama masa puber, testosteron berperan dalam pembangunan karakteristik sekunder seksual pria, stimulasi perilaku dan fungsi seksual dan menginisiasi pembentukan sperma. Pada pria dewasa, testosteron mempertahankan dan memelihara kekuatan dan massa otot, distribusi lemak, massa tulang, eritropoesis, pertumbuhan rambut pria, libido dan spermatogenesis (Winter, 1999).

Irama diurnal adalah irama sekresi endokrin yang terjadi pada siang hari. Irama ini merupakan bagian dari irama sirkadian yang memiliki periode 24 hingga 26 jam (Cauter and Turek, 1995). Kadar plasma testosteron memperlihatkan irama ini dengan kadar tertinggi di pagi hari (Ganiswarna, 1995).

Pada penelitian yang dilakukan oleh Ryo Mitamura *et al.*, (1999), irama harian dari LH, FSH dan testosteron terlihat pada semua anak laki-laki yang berumur antara 5 hingga 19 tahun, kecuali pada anak laki-laki yang berumur dibawah 5 tahun. Irama diurnal testosteron juga terjadi pada pria dewasa, dengan kadar tertinggi pada pagi hari, kemudian semakin menurun sepanjang siang hari, mencapai kadar terendah pada malam hari dan selama beberapa jam awal saat tertidur (Winter, 1999). Irama kadar plasma testosteron ternyata tidak hanya terjadi pada pria, pada penelitian yang dilakukan oleh Anette Rickenlund *et al.*, (2004), menunjukkan bahwa pada atlet wanita juga terjadi fenomena ini. Irama kadar testosteron plasma ini menyebabkan pengambilan sampel darah perlu dilakukan berulang kali untuk mendapatkan gambaran yang benar dalam pemeriksaan diagnostik maupun penelitian (Ganiswara, 1995). Berdasarkan uraian tersebut, perlu dilakukan penelitian Pengaruh Waktu Pengambilan Sampel Darah Terhadap Pemeriksaan Testosteron.

METODE PENELITIAN

Peralatan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah jarum pengambil darah (*venoject*), tabung sampel darah vakum tanpa antikoagulan, tabung serum *disposable*, mikropipet, lemari es, alat sentrifugasi (*Labofuse 200*[®]) alat penganalisis kadar testosteron (*Elecsys 2010*[®]).

Bahan

Bahan terdiri atas tiga jenis reagen utama yang digunakan dalam menentukan kadar testosteron dengan *Elecsys 2010*[®], yaitu M *streptavidin-coated microparticle*, R1 Anti-testosteron-ab-biotin dan R2 *testosterone-Ru(bpy)₃²⁺*. Kemudian terdapat juga beberapa reagen lain yang diperlukan, yaitu seperti *Elecsys ProCell*, *Elecsys CleanCell*, *Elecsys SysWash*, dan *Elecsys SysClean*.

Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah serum darah 19 pria berusia 19-25 tahun dengan kriteria:

1. Memiliki Indeks Masa Tubuh normal antara 18,5 – 24,9 Kg/m²
2. Tidak merokok
3. Tidak sedang atau menerima pengobatan terutama obat-obatan golongan kortikosteroid, antikonvulsan, digoksin dan antiandrogen.
4. Tidak mengkonsumsi alkohol.

Persiapan Sampel

Sampel darah diambil pada pukul 08.00 dan 12.00 menggunakan jarum pengambil darah yang dihubungkan dengan tabung sampel darah vakum tanpa anti koagulan. Kemudian disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 5000 rpm menggunakan alat *Labofuse 200*[®]. Kemudian serum darah diambil sebanyak 0.5 ml menggunakan mikropipet, lalu dimasukkan kedalam tabung serum *disposable*. Serum dapat disimpan dalam lemari es dengan suhu 2-8 °C selama 1 minggu atau pada suhu -20 °C selama 6 bulan.

Prosedur Pemeriksaan Testosteron

Reagen yang diperlukan seperti M *streptavidin-coated microparticle*, R1 Anti-testosteron-ab-biotin dan R2 *testosterone-Ru(bpy)₃²⁺* diletakkan pada wadah yang telah tersedia pada *Elecsys 2010*[®]. Kemudian sampel berupa serum

diletakan pada tempat sampel, lalu dilakukan SCAN. Kemudian ID sampel dan nomor posisi sampel dimasukan pada tempat sampel, lalu pilih test penentuan kadar testosteron. Kemudian tombol START ditekan. Kadar testosteron akan ditentukan secara otomatis dengan *Elecsys 2010*[®] dan membutuhkan waktu kurang lebih selama 18 menit.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Telah dilakukan pengukuran kadar testosteron pada 19 serum pria menggunakan metode *Electrochemiluminescence Immunoassay* (ECLIA), yang mana hasilnya dapat dilihat pada tabel 4.1.

Tabel 4.1 Hasil Pemeriksaan Testosteron (ng/dL)

No. Pasien	Kelompok	
	Pukul 08.00	Pukul 12.00
1	762	865,1
2	517,3	621,5
3	525,6	601,2
4	494,3	679,6
5	709,2	643,8
6	399,4	437,8
7	702,3	741,5
8	768,4	820,3
9	737,3	975
10	633,1	573,3
11	532,3	593,5
12	691,5	762,4
13	386,7	446,6
14	495,8	317,1
15	507,8	543,8
16	887,2	910,7
17	507,6	575,7
18	587,5	481,6
19	723,9	720,5
Σ	11569,2	12311,0
\bar{x}	608,9	647,95
S	138,15	171,65

Keterangan:

- I, II, dan III : Krim dengan emulgator anionik TEA-Stearat dengan konsentrasi TEA 1%, 2 %, dan 3 %
- III, IV, dan V : Krim dengan emulgator nonionik tween 60-span 60 3 %, 4 %, dan 5 %

Tabel 4.2 Karakteristik Data Responden

N	19
Kadar TestosteronPukul 08.00	608,90 ± 138,15 ng/dL
Kadar TestosteronPukul 12.00	647,95 ± 171,65 ng/dL
Usia	22,58 ± 1,14 tahun
TinggiBadan	168,37 ± 5,67 cm
BeratBadan	59,58 ± 7,03 kg
Indeks MasaTubuh	21,03 ± 2,23 kg/m ²
Gangguan Tidur	15

Kemudian diperoleh pula beberapa karakteristik data responden yang dapat dilihat pada tabel 4.2.

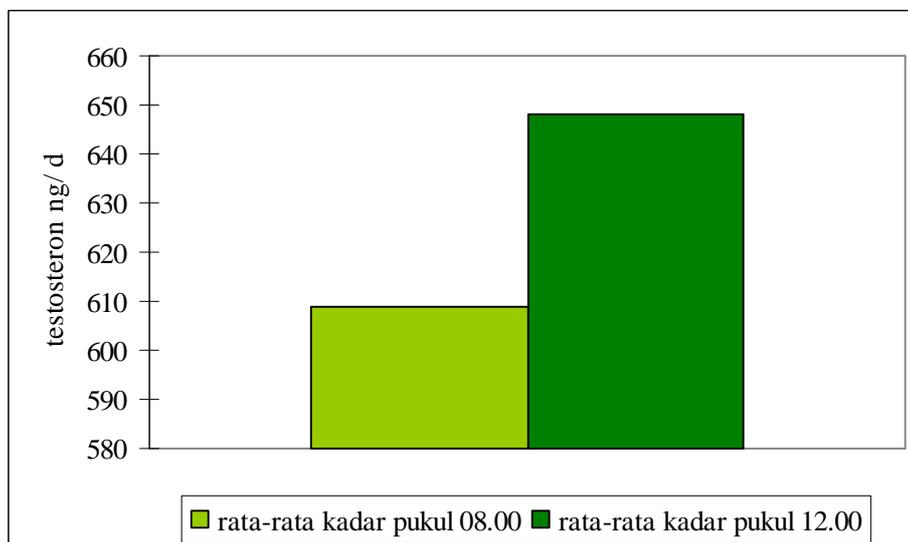
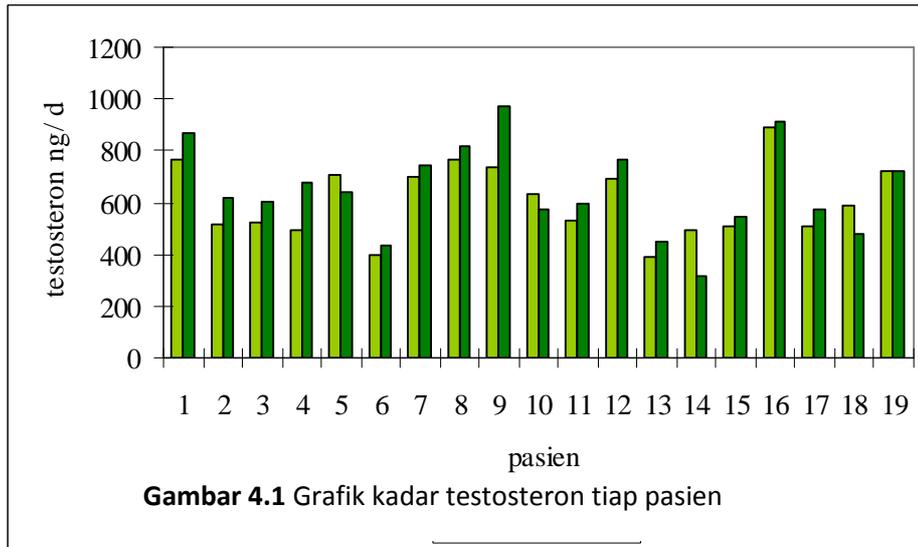
Penelitian ini menggunakan sample darah yang diambil pada pukul 08.00 dan 12.00 pada 19 pria yang berumur 19 – 25 tahun dan untuk memperkecil variasi hasil maka dibutuhkan kriteria sebagai berikut:

1. Memiliki Indeks Masa Tubuh normal antara 18,5 – 24,9 kg/m², karena pada pria yang mengalami obesitas, produksi SBHG oleh hati menurun akibatnya akan mempertinggi kadar testosteron bebas. Kadar testosteron yang tinggi akan mempercepat metabolisme dan ekskresinya oleh hati dan ginjal sehingga akan menurunkan kadar testosteron total.
2. Tidak merokok, karena merokok dapat meningkatkan produksi SBHG oleh hati sehingga kadar testosteron bebas akan menurun. Penurunan ini direspon tubuh sebagai keadaan yang abnormal, oleh karenanya tubuh akan meningkatkan sekresi testosteron sehingga kadar testosteron total akan meningkat.
3. Tidak sedang atau menerima pengobatan terutama obat-obatan golongan kortikosteroid, antikonvulsan, digoksin dan antiandrogen. Obat golongan kortikosteroid dapat menghambat sekresi testosteron oleh testes dan juga menghambat sekresi gonadotropin oleh hipofisis, sehingga kadar testosteron akan menurun (Setiyohadi, 2000). Obat golongan antikonvulsan seperti golongan barbiturat dapat menyebabkan peningkatan metabolisme testosteron, sehingga kadar testosteron akan menurun akibat peningkatan ekskresinya. Digoksin memiliki efek estrogenik yang dapat menurunkan produksi testosteron. Sedangkan obat golongan antiandrogen dapat menurunkan kadar testosteron karena

obat ini menghambat sekresi androgen oleh testis.

4. Tidak mengonsumsi alkohol, karena alkohol memiliki efek yang sama dengan rokok terhadap kadar testosteron.

Hasil dari pengukuran kadar testosteron menggunakan alat *Elecsys 2010*[®] menunjukkan bahwa rata-rata kadar testosteron yang diambil pada pukul 08.00 adalah 608,9 ng/dL sedangkan rata-rata kadar testosteron yang diambil pada pukul 12.00 adalah 647,95 ng/dL. Hasil tersebut menunjukkan bahwa rata-rata kadar testosteron pada pukul 08.00 sedikit lebih rendah daripada rata-rata kadar testosteron pada pukul 12.00, tetapi kedua hasil yang tampaknya berbeda tersebut tidak memiliki perbedaan yang signifikan secara perhitungan statistik. Pembuktian bahwa kedua rata-rata kadar testosteron tidak memiliki perbedaan yang signifikan dilakukan dengan menggunakan uji t sampel berpasangan dengan risiko kesalahan sebesar 5%. Selain itu, kedua rata-rata kadar testosteron tersebut masih dalam rentang nilai rujukan kadar testosteron normal untuk orang dewasa yaitu antara 200 ng/dL hingga 800 ng/dL. Kemudian jika merujuk pada nilai koefisien variasi (KV) alat, yang mana dalam hal ini adalah *Elecsys 2010*[®], yaitu sebesar 6,05%, menunjukkan bahwa perbedaan hasil kedua rata-rata kadar testosteron tersebut dapat dinilai sebagai variasi teknis pemeriksaan. Hal ini juga dibuktikan dengan melihat rentang rata-rata kadar testosteron pada pukul 08.00 terhadap KV alat yaitu antara 572,06 ng/dL hingga 645,74 ng/dL dan pada pukul 12.00 yaitu antara 608,75 ng/dL hingga 687,15 ng/dL. Dapat dilihat bahwa rata-rata kadar testosteron pada pukul 08.00 (608, 9 ng/dL) masuk dalam rentang rata-rata kadar testosteron pada pukul 12.00. Sehingga Sehingga pengambilan sampel testosteron hingga pukul 12.00 pada pria dewasa masih bisa ditoleransi.



Kadar testosteron rata-rata dan masing-masing individu yang diambil pada pukul 08.00 dan 12.00, terlihat pada Gambar 1 dan 2.

Variasi hasil kadar testosteron yang terjadi seperti pada gambar grafik 4.2, dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satunya adalah stress. Menurut menurut Williams dan Larsen,(1994), peningkatan kadar testosteron oleh stress adalah sebagai akibat terstimulasinya syaraf β -adrenergik oleh katekolamin yang dilepaskan pada kondisi tersebut. Terstimulasinya syaraf β -adrenergik ini menyebabkan peningkatan sekresi dan

sintesis testosteron oleh sel Leydig. Selain itu, mekanisme lain mungkin terjadi melalui peningkatan kadar glukosa darah sebagai konsekuensi pelepasan katekolamin saat stress. Kadar glukosa darah yang meningkat menyebabkan peningkatan sekresi insulin, sehingga kadar insulin darah meningkat. Menurut Speroff *et. al.*, (2005) , jika semua reseptor insulin telah berinteraksi dengan insulin, maka kelebihan insulin akan berinteraksi dengan reseptor *insulin growth factor* (IGF-1) pada hipotalamus yang susunan reseptornya mirip dengan reseptor insulin. Stimulasi reseptor IGF-

ini akan menyebabkan sekresi IGF-1 yang mana akan menyebabkan sekresi GnRH. GnRH yang disekresikan akan merangsang hormon LH dan FSH disekresikan oleh hipofisis. Selanjutnya LH akan menstimulasi sekresi dan produksi testosteron dalam sel Leydig (Daftary, 2005). Kemudian menurut penelitian yang dilakukan oleh Faldikova *et al.* (2001), penurunan kadar testosteron saat stress disebabkan oleh peningkatan sekresi glukokortikoid oleh kelenjar adrenal sebagai akibat peningkatan sekresi *adrenocorticotropic hormone* (ACTH) oleh kelenjar hipofisis. Glukokortikoid ini akan berikatan dengan reseptornya pada sel Leydig sehingga menyebabkan sekresi testosteron terhambat, akibatnya akan menurunkan kadar testosteron serum.

Kemudian irama sirkadian yang terganggu juga dapat mempengaruhi variasi kadar testosteron serum, karena dengan terganggunya irama harian ini akan menyebabkan terganggunya irama regulasi tubuh yang lain termasuk irama diurnal testosteron. Ciri-ciri gangguan ini adalah mudah mengantuk dan tertidur pada siang hari, sering tertidur sebelum pukul 8 malam dan terbangun pada pukul 1 pagi, sering begadang atau tidak tidur selama 24 jam, dan jadwal tidur-bangun yang tidak teratur (Japardi, 2002). Hasil kuesioner pada tabel 4.2 menunjukkan bahwa 15 orang sukarelawan mengalami gangguan tidur.

Penyebab irama diurnal testosteron pada manusia hingga kini masih belum diketahui secara pasti, tetapi beberapa literatur menyebutkan bahwa mungkin melatonin berperan pada fenomena ini. Melatonin adalah hormon yang disekresikan oleh kelenjar pineal pada malam hari. Hormon ini dapat menyebabkan terhambatnya sintesis LH oleh kelenjar hipofisis, sehingga akan menurunkan sekresi testosteron oleh testis. Tetapi hingga kini irama diurnal testosteron dimana kadar tertinggi terjadi pada pagi hari dan terendah pada malam

hari masih menjadi misteri bagi para peneliti. Sumber yang lain menyebutkan bahwa tingginya kadar testosteron pada pagi hari tidak berhubungan dengan kadar rata-rata LH, tetapi mungkin berhubungan dengan frekuensi pulsatile sekresi LH (Williams *and* Larsen, 2003).

KESIMPULAN

Hasil penelitian “Pengaruh Waktu Pengambilan Sampel Darah Terhadap Pemeriksaan Testosteron” menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada kadar testosteron yang diambil pada pukul 08.00 dan pukul 12.00. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa pengambilan sampel darah untuk pemeriksaan kadar testosteron pada pria dewasa dapat dilakukan hingga pukul 12.00.

SARAN

Pada penelitian selanjutnya disarankan agar:

1. Waktu pengambilan sampel darah dapat dilakukan pada waktu sore dan malam hari sehingga dapat diketahui secara pasti waktu pengambilan sampel darah untuk pemeriksaan testosteron yang masih ditoleransi.
2. Menggunakan sampel darah anak-anak yang memasuki masa puber dan wanita agar diketahui pula waktu yang masih bisa ditoleransi untuk pengambilan sampel darah untuk pemeriksaan testosteron pada anak-anak yang memasuki masa puber dan pada wanita.
3. Menggunakan sampel dengan profil kadar testosteron yang abnormal agar dapat dibandingkan dengan sampel dengan profil kadar testosteron yang normal.
4. Jumlah sampel yang dilibatkan untuk penelitian selanjutnya diharapkan lebih banyak dari jumlah sampel yang terlibat pada penelitian ini, agar hasil analisis yang diperoleh memiliki tingkat kepercayaan yang lebih tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

1. Cauter, E. V. & F. W. Turek. 1995. Endocrine and other Biological Rhythms. *Endocrinology*. Third edition. Edited by Lessie J. DeGroot. Philadelphia: W.B. Saunders Company. Page: 2393-2394
2. Daftary, S. S. & A. C. Core. 2005. IGF-1 in the Brain as a Regulator of Reproductive Neuroendocrine Function. *The Society for Experimental and Medicine*. 1535-3702.
3. Faldikova, L., I.Diblikova, J. Canderle, Z. Zraly, Z. Vaznik and A. Sulcova. 2001. Effect of Nutrition, Social Factor and Chronic Stress on the Mouse Leydig Cell. *Ved. Med.-Czech*, 46, 2001 (6): 160-168
4. Ganiswarna, S. G. 1995. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi ke-4. Jakarta : Gaya Baru. Hal: 456
5. Hoan Tjay, T. dan Kirana Raharja. 2002. *Obat-obat Penting*. Jakarta : PT Gramedia. Hal: 641
6. Japardi, I. 2002. *Gangguan Tidur*. Universitas Sumatera Utara *Digital Library*.
7. Mitamura, R., K. Yano, N. Suzuki, Y. Ito, Y. Makita and A. Akuno. 1999. Diurnal Rhythms of Luteinizing Hormone, Follicle-Stimulating Hormone, and Testosterone Secretion before the Onset of Male Puberty. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. Vol. 84, No. 1 29-37. available at: <http://jcem.endojournals.org/cgi/content/abstract/84/1/29> [diakses Desember 2006]
8. Pesce, A. J. and L. A. Kaplan. 1987. *Manual Handbook of Clinical Chemistry*. Missouri : The C. V. Mosby Company. Page: 266-269
9. Rickenlund, A., M. Thoren, K. Carlstrom, B. V. Schoultz and A. L. Hirschberg. 2004. Diurnal Profiles of Testosterone and Pituitary Hormones Suggest Different Mechanisms for Menstrual Disturbances in Endurance Athletes. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. Vol. 89, No. 2 702-707
10. Setiyohadi, B. 2000. Osteoporosis Akibat Steroid. *Cermin Dunia Kedokteran*. no. 129. available at: www.Kalbe.co.id [diakses Desember 2007]
11. Tietz, N. W., C. A. Burtis and E. R. Ashwood. 1994. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. Second edition. Edited by Carl A. Burtis and Edward R. Ashwood. Pennsylvania : W. B. Saunders Company. Page: 1843
12. Williams, R. H. & P. R. Larsen. 2003. *Williams Textbook of Endocrinology*. Tenth edition. Pennsylvania: Elsevier Science.
13. Winter, S. J., MD. **Current Status of Testosterone Replacement Therapy in Men.** *Arch Fam Med*. 1999;8:257-263. available at: <http://archfami.ama-assn.org/cgi/content/full/8/3/257> [diakses Desember 2006]