

## STABILITAS KADAR KOLESTEROL TOTAL METODE CHOD-PAP PADA PLASMA K<sub>3</sub>EDTA DENGAN VARIASI WAKTU INKUBASI

*Stability of Total Cholesterol Measurement CHOD-PAP Method in K<sub>3</sub>EDTA Plasma with Variations in Incubation Period*

Siti Nur Lenny RR<sup>1</sup>, Nani Kurnaeni<sup>2</sup>, Ani Riyani<sup>3</sup>, Dewi Nurhayati<sup>4</sup>

<sup>1\*,2,3,4</sup>Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Bandung

\*Email: [sitinurlenny41@gmail.com](mailto:sitinurlenny41@gmail.com)

### ABSTRACT

Total cholesterol test is useful for helping to diagnose heart disease, atherosclerosis, stroke, hypertension, obesity and Diabetes Mellitus (DM). This test can use serum or plasma specimens where the recommended anticoagulant is Ethylene Diamine Tetra Acetate (EDTA). The reality is often the measure of the results cannot be carried out according to the procedure caused by several factors which result in the incubation period being more than 10-minutes. This research aim to know stability of total cholesterol level in K<sub>3</sub>EDTA plasma with variations in incubation period. The research design used a quasi-experimental. The sample were 4 students of the MLT Poltekkes Kemenkes Bandung. The number of treatments are 6, incubation for 10, 30, 60, 90, 120 and 150 minutes for each K<sub>3</sub>EDTA plasma specimens. The mean total cholesterol levels at incubation times of 10 (as standard), 30, 60, 90, 120, and 150 minutes were 155 mg/dL, 147 mg/dL, 140 mg/dL, 130 mg/dL, 123 mg/dL, 119 mg/dL with a difference compared to 10 consecutive minutes of 5.1%; 9.6%; 16.1%; 20.6% and 23.2%. The data obtained was analyzed statistically using the GLM and Pairwise Comparisons test. The result there were significant differences (Sig. 0.000<0,05) between the 10 minute and the 30, 60, 90, 120, and 150 minute incubation treatment groups. Based on the result can concluded that the total cholesterol level in the K<sub>3</sub>EDTA plasma was statistically unstable at 30 minutes of incubation period.

**Keywords** : Total Cholesterol, K<sub>3</sub>EDTA Plasma, Incubation Period, Stability

### ABSTRAK

Pemeriksaan kolesterol total berguna untuk membantu diagnosis penyakit jantung, atherosclerosis, stroke, hipertensi, obesitas dan Diabetes Melitus (DM). Spesimen yang dapat digunakan adalah serum atau plasma dengan antikoagulan yang dianjurkan adalah Etilen Diamin Tetra Acetat (EDTA). Kenyataan di lapangan seringkali pembacaan hasil tidak dapat dilakukan sesuai prosedur yang disebabkan karena beberapa faktor yang mengakibatkan waktu inkubasinya menjadi lebih dari 10 menit. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui stabilitas kadar kolesterol total pada spesimen plasma K<sub>3</sub>EDTA dengan variasi waktu inkubasi. Desain penelitian yang digunakan adalah *quasi experiment*. Sampel yang digunakan adalah 4 orang mahasiswa/i Jurusan TLM Poltekkes Kemenkes Bandung. Perlakuan berjumlah 6 yaitu inkubasi 10, 30, 60, 90, 120 dan 150 menit pada masing-masing spesimen plasma K<sub>3</sub>EDTA. Hasil rata-rata kadar kolesterol total pada waktu inkubasi 10 (sebagai standar), 30, 60, 90, 120, dan 150 menit berturut-turut 155 mg/dL, 147 mg/dL, 140 mg/dL, 130 mg/dL, 123 mg/dL, 119 mg/dL dengan perbedaan yang dibandingkan dengan 10 menit berturut-turut sebesar 5,1%; 9,6%; 16,1%; 20,6% dan 23,2%. Data yang diperoleh dianalisis statistik menggunakan uji GLM dan uji *Pairwise Comparisons*, hasilnya menunjukkan adanya perbedaan

signifikan ( $\text{Sig. } 0,000 < 0,05$ ) antara kelompok inkubasi 10 menit dengan kelompok perlakuan inkubasi 30, 60, 90, 120, dan 150 menit. Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa kadar kolesterol total pada plasma  $\text{K}_3\text{EDTA}$  secara statistik sudah tidak stabil pada waktu inkubasi 30 menit.

**Kata kunci :** Kolesterol Total, Plasma  $\text{K}_3\text{EDTA}$ , Waktu Inkubasi, Stabilitas

## PENDAHULUAN

Laboratorium klinik memiliki peran yang sangat penting dibidang kesehatan terutama untuk menunjang diagnosis invitro.<sup>1</sup> Salah satu pemeriksaan laboratorium yang banyak dilakukan yaitu pemeriksaan kolesterol total yang berguna untuk membantu diagnosis penyakit jantung, adanya penyumbatan arteri (*atherosclerosis*), penyumbatan pada pembuluh darah otak (*stroke*), hipertensi, obesitas dan Diabetes Melitus (DM).<sup>2</sup> Pemeriksaan kolesterol total dapat menggunakan sampel serum atau plasma dimana antikoagulan yang dianjurkan digunakan adalah *Etilen Diamin Tetra Acetat* (EDTA).<sup>3</sup> Penggunaan plasma sebagai sampel pemeriksaan karena dapat menghemat waktu dan volume darah. Kadar kolesterol total menggunakan sampel serum atau plasma EDTA hasilnya tidak terdapat perbedaan yang bermakna.<sup>4</sup> Antikoagulan  $\text{K}_3\text{EDTA}$  memiliki stabilitas lebih baik dibanding jenis EDTA lainnya karena pH-nya mendekati pH darah yaitu sekitar 6,4.<sup>5</sup> Salah satu metode pemeriksaan kolesterol total yang dapat digunakan yaitu Metode *Cholesterol Oxidase Para Aminoantipyrin* (CHOD-PAP) yang sesuai dengan standar WHO/IFCC.<sup>6</sup>

Pemeriksaan di laboratorium klinik terdiri dari tiga tahapan yaitu tahap pra analitik, analitik, dan pasca analitik. Tahap pra analitik merupakan tahap awal sebelum dilakukan pemeriksaan yaitu meliputi persiapan pasien, persiapan reagen, serta pengambilan, penanganan dan persiapan sampel. Tahap analitik merupakan tahap dimana sampel diperiksa yaitu mulai dari pengolahan, pembacaan sampel dan interpretasi hasil. Sedangkan tahap

pasca analitik meliputi pelaporan dan pencatatan hasil.<sup>7</sup>

Kenyataan di lapangan seringkali pada tahap analitik pembacaan hasil tidak dapat dilakukan dengan segera sesuai dengan prosedur yang ditetapkan, yang disebabkan karena beberapa faktor seperti keterbatasan jumlah tenaga laboratorium, banyaknya jumlah sampel yang diperiksa, dan/atau kerusakan pada alat. Contohnya yaitu pada pemeriksaan kolesterol total yang seharusnya waktu standar untuk inkubasi adalah 10 menit, tetapi jika jumlah sampel yang diperiksa banyak dengan tenaga laboratorium yang sedikit maka petugas akan memerlukan waktu yang lebih lama untuk membaca hasil tersebut akibatnya waktu inkubasinya menjadi lebih dari 10 menit. Makin lama waktu inkubasi maka senyawa akhir akan semakin lama terpapar dan rusak sehingga akan berpengaruh terhadap kadar kolesterol total.<sup>8</sup>

Penelitian sebelumnya telah dilakukan mengenai lama waktu inkubasi untuk pemeriksaan HDL Kolesterol tidak terdapat perbedaan kadar pada waktu inkubasi 5 sampai 20 menit dengan sampel serum.<sup>9</sup> Berdasarkan kit insert reagen pemeriksaan kolesterol total, warna dalam sampel setelah penambahan reagen dapat stabil selama 60 hingga 120 menit.<sup>10,11</sup>

Berdasarkan uraian di atas, pada penelitian sebelumnya dilakukan dengan menggunakan specimen serum sehingga peneliti bermaksud melakukan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui bagaimana stabilitas kadar kolesterol total Metode CHOD-PAP pada sampel plasma  $\text{K}_3\text{EDTA}$  dengan

lama waktu inkubasi 10, 30, 60, 90, 120 dan 150 menit pada suhu ruang.

## METODE

Desain penelitian yang digunakan adalah eksperimen semu (*quasi experiment*). Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Klinik Jurusan TLM Poltekkes Kemenkes Bandung pada 26 Mei 2023. Populasi yang digunakan pada penelitian ini adalah Mahasiswa/i TLM Poltekkes Kemenkes Bandung dengan sampel sebanyak 4 orang yang dipilih secara acak untuk diperiksa kadar kolesterol totalnya dengan spesimen plasma K<sub>3</sub>EDTA dengan kriteria inklusi laki-laki dan perempuan tanpa membedakan usia. Sedangkan kriteria eksklusi yaitu plasma yang hemolisis, lipemik, dan ikterik. Perlakuan yang dilakukan sebanyak 6 perlakuan yaitu waktu inkubasi 10, 30, 60, 90, 120 dan 150 menit pada suhu ruang dengan Metode CHOD-PAP menggunakan alat Fotometer Microlab 300.

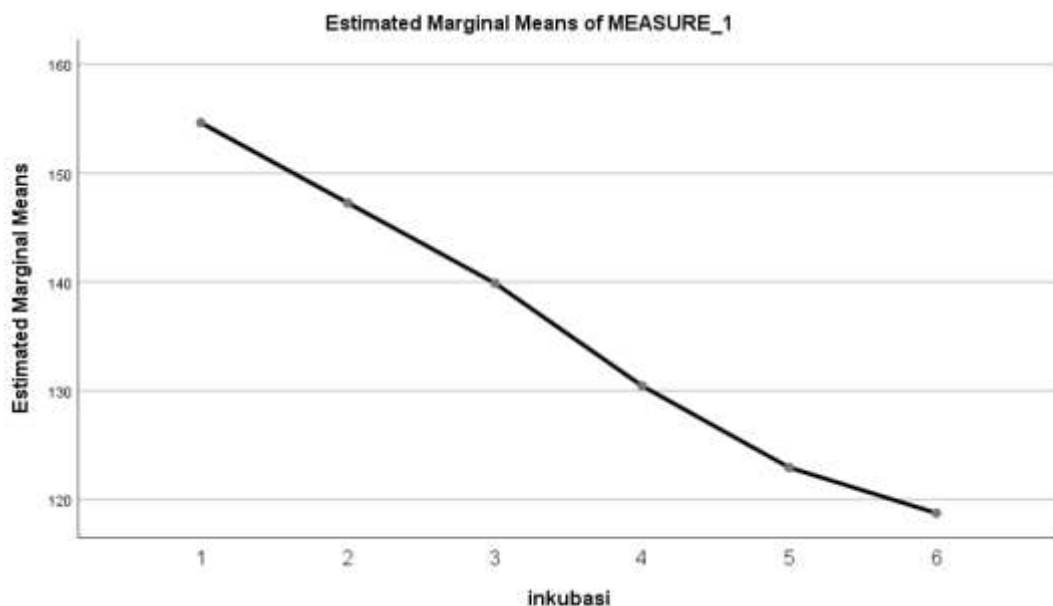
Data yang dikumpulkan merupakan data primer dari hasil

pemeriksaan kolesterol total. Kemudian data dianalisis secara deskriptif umum untuk melihat gambaran kadar kolesterol pada setiap perlakuan dan Analisis stabilitas setiap perlakuan yaitu untuk melihat perbedaan pada inkubasi 10, 30, 60, 90, 120 dan 150 menit dengan Uji *General Linier Model* (GLM) lalu dilanjutkan dengan Uji *Pairwise Comparisons* pada program SPSS. Tingkat kemaknaan (signifikansi) yang digunakan adalah 0,05.

Penelitian ini telah lolos kaji etik dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Bandung dengan nomor 76/KEPK/EC/V/2023.

## HASIL

Hasil rata-rata kadar kolesterol total pada plasma K<sub>3</sub>EDTA menurun secara linear seiring dengan bertambahnya waktu inkubasi seperti ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Grafik rata-rata kadar kolesterol total pada plasma K<sub>3</sub>EDTA dengan waktu inkubasi 10, 30, 60, 90, 120 dan 150 menit.

Tabel 1. Rata-rata hasil dan persen perbedaan kadar kolesterol total pada 6 variasi waktu inkubasi.

Waktu Inkubasi (Menit)	Kadar Kolesterol Total (mg/dL)		
	N	Mean	% Perbedaan
10	16	155	0
30	16	147	5,1
60	16	140	9,6
90	16	130	16,1
120	16	123	20,6
150	16	119	23,3

\*Uji Statistik

Tabel 1 menunjukkan rata-rata kadar kolesterol total pada plasma K<sub>3</sub>EDTA semakin menurun sering dengan bertambahnya waktu inkubasi dengan rata-rata tertinggi pada inkubasi 10 menit yaitu sebesar 155 mg/dL dan hingga paling kecil pada waktu inkubasi 150 menit yaitu sebesar 119 mg/dL dengan persentase perbedaan yang semakin meningkat mulai dari 10 dengan 30 menit sebesar 5,1% hingga

waktu inkubasi 10 dengan 150 menit berbeda sebesar 23,2%.

Hasil uji statistik GLM menunjukkan nilai Sig. 0,000 < 0,05 yang artinya terdapat perbedaan yang bermakna pada setiap kelompok inkubasi, untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda maka dilanjutkan dengan uji *Pairwise Comparisons* yang ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil uji statistik *Pairwise Comparisons* perbedaan kadar kolesterol total inkubasi 10 menit dengan inkubasi 30, 60, 90, 120, dan 150 menit.

Inkubasi (Menit)	Inkubasi (Menit)	Sig.
10	30	.000
	60	.000
	90	.000
	120	.000
	150	.000

\*Uji Statistik

Berdasarkan Tabel 2 hasil uji statistik dengan pairwise comparisons setelah uji GLM menunjukkan hasil kadar kolesterol total pada waktu inkubasi 30, 60, 90, 120, dan 150 menit semuanya berbeda signifikan dengan inkubasi 10 menit dengan nilai Sig. 0,000 < 0,05.

## PEMBAHASAN

Pada pemeriksaan kolesterol total dengan plasma K<sub>3</sub>EDTA ini kadarnya rata-rata menurun seiring dengan bertambahnya waktu inkubasi.

Pada penelitian sebelumnya kadar kolesterol pada sampel serum dengan waktu inkubasi 10 hingga 20 menit tidak ada perbedaan.<sup>8</sup> Stabilitas adalah kemampuan suatu sampel untuk mempertahankan sifat awal dari analit yang akan diukur dalam jangka waktu dan kondisi yang telah ditentukan.<sup>12</sup> Pada penelitian ini analit yang diukur adalah senyawa *quinoneimine*. Penurunan kadar kolesterol total ini kemungkinan dapat terjadi karena sifat dari H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> yang mudah terurai menjadi O<sub>2</sub> (oksigen) dan H<sub>2</sub>O (air) dan juga

memiliki sifat asam.<sup>13</sup> Hal tersebutlah yang dapat menyebabkan absorpsi menurun sehingga kadar kolesterol total pada penelitian ini terus menurun hingga inkubasi 150 menit.

Berdasarkan hasil dari analisis statistik untuk melihat perbedaan secara statistik antara kadar kolesterol total dengan waktu inkubasi 10 menit dengan waktu inkubasi 30, 60, 90, 120 dan 150 menit semuanya menunjukkan Sig.  $0,000 < 0,05$  yang artinya terdapat perbedaan yang bermakna. Artinya larutan pada pemeriksaan kolesterol total dalam jangka waktu 30 menit pada suhu ruang mengalami penurunan intensitas warna, sehingga kadar kolesterol total pada waktu inkubasi 30 menit secara statistik sudah tidak stabil. Hal ini dapat terjadi karena Ketidakstabilan senyawa yang terbentuk (*quinoneimine*) ini mengakibatkan warna larutan berkurang (*fading*) yang disebabkan oleh oksidasi udara, pengaruh keasaman, suhu, jenis pelarut dan penguraian secara fotokimia.<sup>14</sup> Ketidakstabilan tersebut akan sangat berpengaruh terhadap kadar kolesterol total menjadi rendah palsu apabila melebihi waktu inkubasi 10 menit.

Pada penelitian ini persentase penurunan kadar kolesterol total yang didapatkan dari inkubasi 10 menit ke 30 menit sebesar 5,1% dan 10 menit ke 60 menit sebesar 9,6% yaitu kurang dari nilai kesalahan yang diperbolehkan yang artinya secara klinis kadar kolesterol total hingga waktu inkubasi 60 menit tidak berbeda. Tetapi dari 10 menit ke 90 menit berbeda sebesar 16,1% dimana perbedaan tersebut sudah melebihi batas yang diperbolehkan yang berarti pada waktu inkubasi 90 menit secara klinis sudah berbeda.

Ketidakstabilan tersebut akan sangat berpengaruh terhadap kadar kolesterol total menjadi rendah palsu apabila melebihi waktu inkubasi 10 menit. Namun pada penelitian ini pembacaan standar tidak dilakukan

sesuai dengan inkubasi setiap perlakuan, tetapi hanya dilakukan dengan waktu inkubasi 10 menit. Kemungkinan hal ini dapat berpengaruh dan berbeda hasilnya dengan yang dilakukan pembacaan standar sesuai dengan penundaan inkubasi setiap perlakuan.

## SIMPULAN

Kadar kolesterol total pada plasma K<sub>3</sub>EDTA dengan waktu inkubasi 30, 60, 90, 120 dan 150 menit berbeda signifikan (Sig. 0,000) dengan waktu inkubasi 10 menit. Persentase perbedaan kadar kolesterol total berturut-turut sebesar 5,1%; 9,6%; 16,1%; 20,6%; dan 23,2%. Secara statistik kadar kolesterol total pada plasma K<sub>3</sub>EDTA sudah tidak stabil pada waktu inkubasi 30 menit.

## DAFTAR RUJUKAN

1. Sosmira E, Harahap J, Suroyo RB. Analisis Kepuasan Penggunaan Laboratorium Klinik di RSUD Sijunjung Sumatera Barat Tahun 2019. *J Healthc Technol Med.* 2021;7(1):488-501.
2. Putu N, Asri W, Pratini P, *et al.* Perbedaan Kadar Kolesterol Total Menggunakan Antikoagulan EDTA (CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H), Natrium Sitrat (Na<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub>), dan Natrium Oksalat (Na<sub>2</sub>C<sub>2</sub>O<sub>4</sub>). *J Anal Med Bio Sains.* 2019;6(2):130-134.
3. McPherson, Richard A; Pincus MR. *Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods.* 24th ed. Elsevier Ltd; 2021.
4. Marisa. *Perbedaan Kadar Kolesterol Total Menggunakan Serum Dan Plasma EDTA.* Universitas Katolik Musi Charitas; 2021.
5. Wahdaniah; Tumpuk S. Perbedaan Penggunaan Antikoagulan K<sub>2</sub>EDTA dan K<sub>3</sub>EDTA terhadap Hasil

- Pemeriksaan Indeks Eritrosit. *J Lab Khatulistiwa*. 2018;2(2):114-118.
6. Li LH, Dutkiewicz EP, Huang YC, Zhou HB, Hsu CC. Analytical Methods for Cholesterol Quantification. *J Food Drug Anal*. 2019;27(2):375-386.  
doi:10.1016/j.jfda.2018.09.001
  7. Abdurrahman S, Yayu S, Rahayu S. Pengaruh Waktu Penyimpanan Serum pada Pemeriksaan Kolesterol Total. *J MediLab Mandala Waluya*. 2021;5(2).  
doi:10.36566/medilab.v5i1%20juli.148
  8. Murniarti. *Perbedaan Kadar Kolesterol Berdasarkan Waktu Inkubasi 10, 15, Dan 20 Menit*. Universitas Muhammadiyah Semarang; 2019.
  9. Arulisia I. *Perbedaan Kadar HDL Kolesterol Dengan Variasi Lama Inkubasi*.; 2018.  
<http://repository.unimus.ac.id>
  10. Rives LH. Cholesterol CHOD-PAP. Published online 2019:1-2.
  11. Anamol Laboratories. Cholesterol Method CHOD-PAP. :1.
  12. Guder WG, da Fonseca - Wollheim F, Heil W, *et al*. Quality of Diagnostic Samples. Published online 2010:20-24.  
file:///C:/Users/inez/Downloads/Quality\_of\_diagnostic\_samples\_final\_version\_23.9.2009[1] - zum Zusammenführen.pdf
  13. Wahyu S, Agustina S. Studi Penurunan Konsentrasi Surfaktan dengan Oksidasi UV-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Published online 2004:127-132. Diunduh pada 2023.
  14. FMIPA K. Spektrofotometri Sinar Tampak (Visible). Universitas Jember. Published 2017.  
<https://kimia.fmipa.unej.ac.id/?p=472>