

STABILITAS REAKSI ENZIMATIK KADAR TRIGLISERIDA METODE GPO-PAP DENGAN VARIASI WAKTU INKUBASI

*Stability Of Enzymatic Reactions To Concerns Serum Triglycerides GPO-PAP
Method With Variations In Incubation Time*

**Salmanda Endrique Putri^{1*}, Nani Kurnaeni², Dewi Nurhayati³, Fusvita
Merdekawati⁴**

^{1*} Poltekkes Kemenkes Bandung, Prodi Teknologi Laboratorium Medis
Email: salmandap4@gmail.com

² Poltekkes Kemenkes Bandung, Prodi Teknologi Laboratorium Medis
Email: nanikur@yahoo.com

³ Poltekkes Kemenkes Bandung, Prodi Teknologi Laboratorium Medis
Email: dewinurhayati66@yahoo.com

⁴ Poltekkes Kemenkes Bandung, Prodi Teknologi Laboratorium Medis
Email: dewinurhayati66@yahoo.com

ABSTRACT

One of the triglycerides test lipid profile examination that is often analyzed because it provides information about cardiovascular health and stroke. Laboratory services have an important meaning in making a diagnosis based on the patient's health history and are an integral part in achieving quality laboratory results that have accurate accuracy and precision. Analytical factors that can influence examination results include incubation time. The delay in the length of incubation time is due to the limited number of laboratory personnel and inadequate equipment. The objective of this study was to assess the impact of stability on serum triglyceride levels using the GPO-PAP method with different incubation durations. The research employed a quasi-experimental design, utilizing serum samples from three Medical Laboratory Technology students. The samples were subjected to varying incubation times of 10, 60, 75, 90, and 105 minutes at room temperature, with each condition being repeated five times. The mean results of serum triglyceride levels with incubation times of 10, 60, 75, 90, and 105 minutes respectively were 80,0 mg/dL, 79,00 mg/dL, 76.36 mg/dL, 73.65 mg/dL, and 67.94 mg/dL. Data analysis was conducted using the General Linear Model (GLM) test, with significance indicated by the Sig value. < 0.05 means that triglyceride levels with an incubation time of 75 minutes are statistically unstable.

Key words: *Incubation time, stability, triglycerides GPO-PAP method*

ABSTRAK

Pemeriksaan trigliserida salah satu pemeriksaan profil lipid yang sering dianalisis karena memberikan informasi tentang kesehatan kardiovaskuler dan stroke. Pelayanan laboratorium memiliki arti penting dalam menegakan diagnosis berdasarkan riwayat kesehatan pasien dan merupakan bagian integral dalam mencapai mutu hasil laboratorium yang memiliki ketelitian serta ketepatan yang akurat. Faktor analitik yang dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan diantaranya waktu inkubasi. Penundaan lamanya waktu inkubasi disebabkan keterbatasan jumlah petugas laboratorium serta alat yang kurang memadai. Penelitian ini bertujuan untuk menilai apakah ada pengaruh stabilitas terhadap kadar trigliserida serum dengan menggunakan metode GPO-PAP pada berbagai waktu inkubasi. Desain penelitian ini adalah quasi-eksperimental, dengan menggunakan serum dari 3 sampel mahasiswa/i Teknologi Laboratorium

<https://doi.org/10.34011/jks.v5i2.2378>

Medis sebagai bahan pemeriksaan. Serum tersebut diinkubasi pada suhu ruangan dengan waktu yang bervariasi, yaitu 10, 60, 75, 90, dan 105 menit, dengan masing-masing waktu diulang sebanyak 5 kali. Rata-rata kadar trigliserida serum pada waktu inkubasi 10, 60, 75, 90, dan 105 menit berturut-turut adalah 80,0 mg/dL, 79,10 mg/dL, 76,36 mg/dL, 73,65 mg/dL, dan 67,94 mg/dL. Analisis data dilakukan menggunakan uji General Linear Model (GLM) dengan nilai signifikansi (Sig.) < 0,05, yang menunjukkan bahwa pada waktu inkubasi 75 menit, kadar trigliserida sudah tidak stabil secara statistik.

Kata kunci: stabilitas, trigliserida metode GPO-PAP, waktu inkubasi

PENDAHULUAN

Proses pemeriksaan laboratorium terdiri dari tahapan penting yaitu pra-analitik, analitik, dan pasca-analitik. Tahap pra-analitik mencakup persiapan dan identifikasi pasien, pengambilan sampel, pengelolaan spesimen, serta pengiriman spesimen ke laboratorium. Tahap analitik meliputi pemeliharaan dan kalibrasi peralatan, serta pemeriksaan dan pemantauan untuk memastikan keakuratan dan ketelitian hasil. Tahap pasca analitik meliputi: pencatatan dan pelaporan hasil kepada pasien.¹ Dalam suatu pelayanan kesehatan terdapat faktor-faktor lain yang tentunya dapat menghambat pelayanan mutu kesehatan di laboratorium seperti: kurangnya petugas laboratorium, stabilitas arus listrik serta fasilitas maupun peralatan yang masih kurang memadai.² Observasi dilakukan langsung ke beberapa puskesmas di daerah cimahi utara, masih ada puskesmas yang menggunakan alat seperti fotometer untuk mengerjakan spesimen serta mengalami perlambatan pengerjaan spesimen dikarenakan kurangnya tenaga petugas laboratorium medis sehingga mengakibatkan sampel *overload*. Pada tahap analitik dengan tingkat keesalahan 10-15% sering terjadinya kesalahan yang

dapat mempengaruhi ketidakkakuratannya suatu hasil seperti kesalahan acak maupun sistemik.³

Adapun kesalahan yang terjadi pada tahap analitik seperti pipet reagen yang kurang akurat, mutu reagen, variasi temperatur dan waktu inkubasi yang tidak sesuai SOP serta tegangan arus listrik.⁴ Pemeriksaan laboratorium yang sering dianalisis salah satunya pemeriksaan trigliserida karena dapat memberikan informasi mengenai kesehatan kardiovaskular dan stroke. Kadar trigliserida yang melebihi ambang batas dianggap sebagai faktor risiko untuk penyakit jantung koroner.⁵ Pemeriksaan trigliserida di laboratorium menggunakan metode *Glyserol Phosphat Oxidase Para-Aminoantipyrin* (GPO-PAP) menyebutkan pada kit insert Biolabo sampel dihomogenkan lalu diinkubasi 10 menit pada suhu 20°C-25°C. Serum lebih sering digunakan dalam pemeriksaan trigliserida karena spesimen serum tidak mengandung fibrinogen maupun analit yang dapat mempengaruhi reaksi aktivitas enzim sehingga terjadi perbedaan pengukuran kadar trigliserida serum pada kadar trigliserida memiliki sensitivitas lebih tinggi daripada plasma.⁶ Penundaan seringkali dilakukan karena kondisi lapangan

laboratorium yang keterbatasan petugas kesehatan dan alat yang belum memadai. Hal itu dapat mengakibatkan perubahan stabilitas dalam pengukuran pemeriksaan sehingga hasil yang diperoleh tidak akurat.⁷ Peneliti sebelumnya menyatakan bahwa kadar kolesterol serum dengan waktu inkubasi selama 90, 120, serta 150 menit terjadi penurunan dan penelitian lain menyebutkan kadar kolesterol serum sudah tidak stabil pada waktu inkubasi 30 menit.^{8,9} Hal itu terjadi karena adanya faktor yang dapat mempengaruhi aktifitas enzim seperti suhu maupun konsentrasi enzim sehingga stabilitas suatu pemeriksaan dapat terganggu. Berdasarkan uraian diatas, pada penelitian terdahulu dilakukan dengan kadar pemeriksaan kolesterol sehingga peneliti bermaksud melakukan penelitian dengan menggunakan kadar pemeriksaan trigliserida untuk melihat stabilitas kadar trigliserida dengan variasi waktu inkubasi pada suhu ruang.

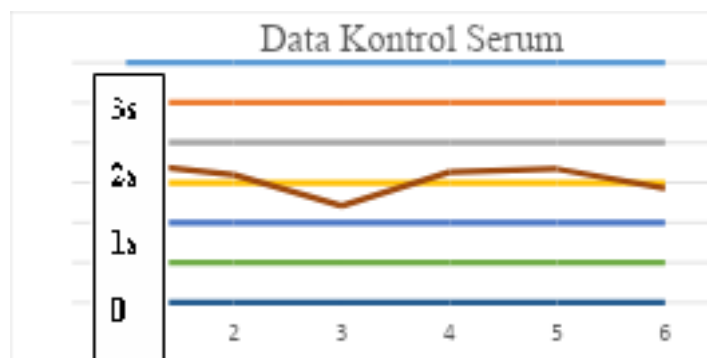
METODE

Metode yang digunakan adalah kuantitatif dengan desain *quasi-eksperiment design*, yang melibatkan kelompok kontrol dan kelompok eksperimen tanpa pemilihan acak, serta tanpa kontrol penuh terhadap semua variabel yang tidak diteliti. Desain penelitian ini melibatkan pemberian perlakuan untuk mengamati perbedaan kadar trigliserida berdasarkan variasi waktu inkubasi. Sampel yang digunakan yaitu serum mahasiswa/ jurusan Teknologi Laboratorium Medis berjumlah 3 orang dengan

memenuhi kriteria sampel tidak hemolisis dan ikterik. Penelitian ini melibatkan lima perlakuan yang berbeda, yaitu inkubasi selama 10, 60, 75, 90, dan 105 menit, menggunakan metode *Glycerol Phosphate Oxidase* (GPO-PAP) dengan pengukuran dilakukan menggunakan alat *fotometer Microlab 300*. Penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia Klinik Jurusan TLM Poltekkes Kemenkes Bandung Data primer didapat dari hasil pengukuran kadar trigliserida dengan variasi perlakuan waktu inkubasi, kemudian data dianalisis secara deksriptif dan dilanjutkan dengan analisis uji *General Linear Model* (GLM) pada aplikasi IBM Statistic 24. Penelitian ini telah lolos kaji etik pada Komisi Etik Politeknik Kementerian Kesehatan Bandung dengan nomor 32/KEPK/EC/IV/2024.

HASIL

Pemeriksaan spesimen dilakukan menggunakan alat fotometer Microlab 300, sebelum dilakukan pengerjaan spesimen kadar trigliserida serum, terlebih dahulu dilakukan pemeriksaan kontrol serum agar hasil pemeriksaan yang didapat akurat dan sesuai. Exatrol-N Biolabo dengan No LOT 062138A-Z merupakan kontrol serum yang digunakan pada penelitian ini dengan Nilai range kontrol serum ± 3 SD yaitu 77 – 107 mg/dL. Range kontrol yang diperbolehkan pada penelitian ini adalah ± 1 SD dengan range 87 – 97 mg/dL. Data hasil kontrol serum dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Grafik hasil kontrol serum trigliserida

Pada hasil kontrol serum menunjukkan bahwa kontrol serum telah memenuhi persyaratan sehingga hasil penelitian dapat dipertanggung jawabkan, maka

dilanjutkan dengan pengukuran kadar trigliserida serum metode GPO-PAP menggunakan fotometer Microlab 300.

Tabel 1. Hasil penelitian kadar trigliserida serum (mg/dL)

Sampel	Waktu Inkubasi				
	10 Menit	60 Menit	75 Menit	90 Menit	105 Menit
1	76,06	74,40	70,20	65,70	64,54
2	86,98	86,22	84,20	80,78	72,36
3	77,06	76,68	74,68	74,48	66,92
Rata-rata	80,00	79,10	73,65	73,65	67,94

Tabel1 menunjukkan hasil pemeriksaan kadar trigliserida serum dengan perbedaan variasi waktu inkubasi terjadi adanya penurunan pada waktu inkubasi 60, 75, 90, dan 105 menit.

Kemudian data hasil pemeriksaan trigliserida serum dianalisis dengan uji General Linear

Model (GLM) untuk melihat perbedaan secara bermakna antara lebih dari dua sampel yang berpasangan.

Tabel 2. Hasil Uji General Linear Model (GLM)

Kelompok data	Sig.
Waktu inkubasi 60 menit vs 10 Menit	0,075
Waktu inkubasi 75 menit vs 10 Menit	0,002

Waktu inkubasi 90 menit vs 10 Menit	0,000
Waktu inkubasi 105 menit vs 10 Menit	0,000

Tabel 2 menunjukkan bahwa nilai Sig. untuk perbandingan waktu inkubasi 60 menit dengan 10 menit adalah 0,075, yang menunjukkan tidak ada perbedaan signifikan dalam kadar trigliserida serum antara kedua waktu inkubasi tersebut. Sebaliknya, nilai Sig. untuk perbandingan waktu inkubasi 75 menit dengan 10 menit adalah 0,002,

PEMBAHASAN

Pada penelitian pemeriksaan trigliserida berdasarkan perbedaan variasi penambahan waktu inkubasi mengalami penurunan. Hal ini juga ditunjukkan pada hasil statistika Uji GLM yang menunjukkan adanya perbedaan waktu inkubasi 75, 90, dan 105 menit pada waktu inkubasi 60 menit bahwa kadar serum trigliserida terjadi penurunan seiring dengan lamanya waktu inkubasi. Pada kit insert BIOLABO menyebutkan reaksi warna stabil pada 60 menit.¹⁰ Penurunan kadar trigliserida serum pada penelitian ini disebabkan oleh warna reaksi *quinononeimine* yang memudar karena aktivitas enzim hal ini disebabkan karena pengaruh keasaman, suhu, konsentrasi pada substrat serta adanya oksidasi oleh udara.¹¹ Selama proses reaksi enzimatik, trigliserida mengalami hidrolisis untuk menghasilkan gliserol dan asam lemak bebas. Dalam reaksi oksidasi trigliserida, oksigen digunakan untuk membentuk hidrogen peroksida. Hidrogen peroksida (H_2O_2) kemudian bereaksi dengan phenol dan *4-aminoantipyrine*, menghasilkan warna *quinononimine* sebagai hasil reaksinya. Hidrogen peroxidase bersifat tidak stabil, perlahan terurai jika terkena paparan cahaya, asam, dan pengoksidasi yang kuat pada phenol.

mengindikasikan adanya perbedaan signifikan dalam kadar trigliserida serum. Selain itu, nilai Sig. untuk waktu inkubasi 90 dan 105 menit adalah 0,000, yang menunjukkan adanya perbedaan signifikan dalam kadar trigliserida serum antara waktu inkubasi tersebut dengan waktu inkubasi 10 menit.

Aktivitas peroxidase ditentukan berdasarkan serapan cahaya pada panjang gelombang tertentu, oleh karena itu ketika *quinononimine* mengalami oksidasi oleh udara akan menyebabkan pudarnya warna *quinononimine* maka kadar trigliserida serum akan semakin menurun seiring dengan bertambahnya massa inkubasi.¹²

Adanya penurunan kadar trigliserida serum juga disebabkan oleh penurunan aktivitas pada reaksi enzimatik trigliserida. Kecepatan reaksi sangat dipengaruhi oleh lamanya waktu, di mana aktivitas enzim cenderung menurun dan mengalami suatu perubahan susunan molekul seiring dengan meningkatnya massa inkubasi.¹³ Semakin lama masa inkubasi ditingkatkan maka semakin turun nilai aktivitas enzim karena konsentrasi enzim akan meningkat, semakin banyak substrat maka semakin banyak juga ikatan antara substrat dan enzim, tetapi jika substrat berlebih maka akan menurunkan kadar trigliserida saat dilakukan pengukuran karena enzim sudah berada di titik jenuh. Pembentukan *quinononimine* dipengaruhi oleh enzim hidrogen peroksidase; oleh karena itu, jika aktivitas enzim menurun, produksi *quinononimine* juga akan menurun.¹⁴

Laju reaksi juga dipengaruhi oleh suhu, jika selama proses reaksi

enzimatik berlangsung suhu mengalami kenaikan maka protein dalam enzim akan rusak dan mengalami pemecahan. Suhu memiliki batas optimal saat aktivitas katalik enzim, jika suhu berada diatas suhu optimal maka akan menyebabkan terjadinya kecepatan reaksi sehingga reaksi kataliknya akan menurun.¹⁵

Menurut perhitungan presentase penurunan berdasarkan nilai CLIA trigliserida sebesar $\pm 25\%$ tidak terdapat perbedaan secara klinis pada waktu inkubasi 60, 75, 90, dan 105 menit. Didapatkan nilai berturut-turut yaitu 1,2%, 4,5%, 7,9%, dan 15,2%.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang didapat terdapat pengaruh yang signifikan kadar trigliserida serum pada variasi waktu inkubasi 75, 90, dan 105 menit. Bahwa waktu inkubasi 75, 90, dan 105 menit sudah tidak stabil secara statistik. Pada penelitian ini terjadi penurunan kadar trigliserida dengan lamanya waktu inkubasi pada sampel. Saran pada peneliti selanjutnya dapat memperhatikan stabilitas suhu waktu inkubasi serta menambah perlakuan pada sampel patologis.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada keluarga yang telah memberikan dukungan dan kasih sayang dalam membantu penyusunan penelitian ini serta dosen pembimbing yang telah senantiasa terus memberikan arahan dan masukan.

DAFTAR RUJUKAN

1. Makmur T, Siregar FA. Metabolisme Lipid Dalam Tubuh. *J Inov Kesehat Masy.* 2020;1(2). doi:<https://doi.org/10.36656/jikm.v1i2.293>
2. Siagian M, Sinaga J, Mokoagow W. Analisis Faktor - Faktor yang Mempengaruhi Hasil Tunggu Hasil Pemeriksaan Laboratorium Klinik di RSUP Haji Adam Malik Medan Tahun 2019. *J Kesehat Masy dan Lingkung Hidup.* Published online 2019:27-43. http://e-journal.sari-mutiara.ac.id/index.php/Kesehatan_Masyarakat/article/view/853/721
3. Mengko R. Instrumen Laboratorium Klinik. In: ITB Bandung; 2013.
4. Kusmiati M, Nurpalah R, Restaviani R. Presisi dan Akurasi Hasil Quality Control pada Parameter Pemeriksaan Glukosa Darah di Laboratorium Klinik Rumah Sakit X Kota Tasikmalaya. *J Indones Med Lab Sci.* 2022;3(1):27-37. doi:<https://doi.org/10.53699/joimedlabs.v3i1.86>
5. Costance L, Zeibig E. *Buku Ajar Laboratorium Klinis.* 1st ed. Jakarta: EGC; 2017.
6. Hardisari ratih, Koiriyah B. Gambaran Kadar Trigliserida (Metode GPO-PAP) pada Sampel Serum dan Plasma EDTA. *J Teknolab.* 2016;5:27-31.
7. Amelda A, Asrori, Karneli. Hasil Pemeriksaan Kolesterol Total Pada Serum Segera Diperiksa Dan Ditunda 7 Hari Pada Suhu 2-8°C. *J Anal Kesehat Klin Sains.* 2020;8(2).
8. Anipah Y. Pengaruh Variasi Lama Waktu Inkubasi Terhadap Kadar Kolesterol Total Serum Metode Cholesterol Oxidase-Para Aminoantipyryrin (Chod-Pap). *Poltekkes Kemenkes Bandung.* Published online 2023. doi:<https://doi.org/10.34011/jks.v4i1.1453>
9. Lenny S. Stabilitas Kadar Kolesterol Total Metode CHOD-PAP pada Plasma K3EDTA dengan Variasi Waktu Inkubasi. *Poltekkes Kemenkes Bandung.* Published online 2023.

<https://doi.org/10.34011/jks.v5i2.2378>

- doi:<https://doi.org/10.34011/jks.v4i1.1428>
10. BIOLABO. TRIGLYCERIDES GPO METHOD. Published online 2019.
 11. Risnawati M, Cahyaningrum E. Pengaruh Penambahan Ion Logam Ca²⁺ Terhadap Aktivitas Enzim Papain. *Unesa J Chem*. 2013;2(1).
 12. Sadikin M. *Biokimia Enzym*. 2nd ed. Widya Medika; 2012.
 13. Kurniawati L, Kusdiyantini E, Wijanarka. Pengaruh Variasi Suhu dan Waktu Inkubasi Terhadap Aktivitas Enzim Selulase dari Bakteri *Serratia marcescens*. *J Akad Biol*. 2019;8(1):1-9.
 14. Oliveira F, Santos L, Buffon J. Mechanism of action, sources, and application of peroxidases. *Elsevier*. Published online 2021:143. doi:110266
 15. Zulkarnaen, Mutiani L, Faritzah C, Cristanti W. Pengaruh Suhu terhadap Bioreaktor Tekanan pada Percobaan Enzim Katalase. *J Biodidaktika*. 2022;17(2).