

**PERBEDAAN KADAR KOLESTEROL BERDASARKAN  
WAKTU INKUBASI 10, 15, DAN 20 MENIT**

**TUGAS AKHIR**

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan  
Pendidikan Diploma IV Kesehatan  
Bidang Analis Kesehatan**



**Disusun Oleh :**

**Murniati**

**G1C218172**

**PROGRAM STUDI D IV ANALIS KESEHATAN  
FAKULTAS ILMU KEPERAWATAN DAN KESEHATAN  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SEMARANG  
2019**

## HALAMAN PERSETUJUAN

Tugas Akhir dengan judul

### PERBEDAAN KADAR KOLESTEROL BERDASARKAN WAKTU INKUBASI 10, 15, DAN 20 MENIT

**Murniati**  
**G1C218172**

Telah disetujui oleh :

Pembimbing I



Andri Sukeksi, SKM, M.Si  
NIK 28.6.1026.024

Tanggal : 20 September 2019

Pembimbing II



Fitri Nuroini, M.Sc  
NIK 28.6.1026.312

Tanggal : 20 September 2019

Mengetahui

Ketua Program Studi D IV Analis Kesehatan  
Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan






Andri Sukeksi, SKM, M.Si  
NIK 28.6.1026.024

## HALAMAN PENGESAHAN

Tugas Akhir ini telah diajukan pada sidang Ujian Jenjang Pendidikan Tinggi  
Diploma IV Kesehatan Bidang Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan  
dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang.

Tanggal Sidang 27 September 2019

### Susunan Tim Penguji

No.	Nama	Nara Sumber	Tanda Tangan	Tanggal Tanda Tangan
1.	Dr Stalis Norma Ethica, M.Si NIK 28.6.1026.343	Penguji I		30-09-2019
2.	Andri Sukeksi, SKM, M.Si NIK 28.6.1026.024	Penguji II		28-09-2019
3.	Fitri Nuroini, M.Sc NIK 28.6.1026.312	Penguji III		28-09-2019

## SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini menyatakan dengan sungguh-sungguh bahwa Tugas Akhir ini adalah karya sendiri, disusun tanpa tindakan plagiarisme sesuai dengan peraturan yang berlaku di Universitas Muhammadiyah Semarang.

Nama : Murniati  
NIM : G1C218172  
Fakultas : Ilmu Keperawatan dan Kesehatan  
Program Studi : D IV Analis Kesehatan  
Judul : Perbedaan Kadar Kolesterol Berdasarkan Waktu Inkubasi  
10, 15, dan 20 Menit

Jika dikemudian hari ternyata saya melakukan tindakan plagiarisme, saya akan bertanggungjawab dan menerima sanksi yang dijatuhkan Universitas Muhammadiyah Semarang kepada saya.

Semarang, 28 September 2019



(Murniati)

## **PERBEDAAN KADAR KOLESTEROL BERDASARKAN WAKTU INKUBASI 10, 15, DAN 20 MENIT**

Murniati<sup>1</sup>, Andri Sukeksi<sup>2</sup>, Fitri Nuroini<sup>2</sup>,

1. Program Studi D IV Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang.
2. Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang.

### **ABSTRAK**

Pemeriksaan kolesterol merupakan salah satu bagian pemeriksaan profil lipid yang sering dilakukan di laboratorium klinik. Pembacaan kadar kolesterol menggunakan spektrofotometer seharusnya dilakukan pada waktu inkubasi 10 menit. Penundaan pembacaan seringkali terjadi disebabkan keterbatasan jumlah tenaga ATLM (Ahli Teknologi Laboratorium Medik) dan berbagai macam parameter yang harus diperiksa. Pembacaan dilakukan setelah waktu inkubasi 15 menit, dan 20 menit. Waktu inkubasi yang lebih lama dapat menurunkan aktivitas enzim, sehingga dapat berpengaruh terhadap hasil pemeriksaan kadar kolesterol. Penelitian bertujuan untuk mengetahui perbedaan kadar kolesterol berdasarkan waktu inkubasi 10, 15 dan 20 menit. Jenis penelitian eksperimen, sampel penelitian sebanyak 9 yang mendapat 3 kali pengukuran kadar kolesterol, yaitu waktu inkubasi 10 menit, 15 menit, dan 20 menit. Variabel penelitian adalah variasi waktu inkubasi dan kadar kolesterol. Hasil penelitian rerata kadar kolesterol inkubasi 10 menit, 15 menit, dan 20 menit secara berturut-turut adalah 190,11 mg/dL, 187,56 mg/dL, dan 184,78 mg/dL, Uji ANOVA menyebutkan tidak ada perbedaan bermakna kadar kolesterol inkubasi 10 menit, 15 menit, dan 20 menit ( $p=0,954$ ).

Kata kunci : kolesterol, inkubasi

## **THE DIFFERENCE OF CHOLESTEROL LEVEL BASED ON INCUBATION TIME DURING 10, 15 AND 20 MINUTES**

Murniati<sup>1</sup>, Andri Sukeksi<sup>2</sup>, Fitri Nuroini<sup>2</sup>,

1. Study Program of D IV Health Analyst, Faculty of Nursing and Health, University of Muhammadiyah Semarang.
2. Clinical Pathology Laboratory Faculty of Nursing and Health, University of Muhammadiyah Semarang.

### **ABSTRACT**

*Cholesterol examination is one of the lipid profile examination part which is often done in clinical laboratories. The cholesterol reading which using a spectrophotometer should be done at incubation time of 10 minutes. The reading delay often occurred due to limited numbers of MLTE (Medical Laboratory Technology Experts) and various parameters that must be checked. The reading is done after incubation time of 15 minutes, and 20 minutes. Longer incubation time could reduce the enzyme activity, so it could affect towards the result of cholesterol level. The research aims to know the difference of cholesterol level based on incubation times during 10, 15 and 20 minutes. The research type was experimental, as many as 9 research samples which got 3 times measurement of cholesterol level, namely incubation time during 10 minutes, 15 minutes and 20 minutes. The research variable was the variation of incubation time and cholesterol level. The research results of average during 10 minutes, 15 minutes, and 20 minutes incubation cholesterol level were 190,11 mg/dL, 187,56 mg/dL, and 184,78 mg/dL, the ANOVA Test said that there was no significant difference in the cholesterol level of incubation during 10 minutes, 15 minutes, and 20 minutes ( $p = 0,954$ ).*

*Keywords: cholesterol, incubation*

## **KATA PENGANTAR**

Segala puji syukur kepada Allah SWT atas rahmatNya tugas akhir berjudul ”Perbedaan Kadar Kolesterol Berdasarkan Waktu Inkubasi 10, 15, dan 20 Menit” telah terselesaikan. Tugas akhir merupakan syarat menyelesaikan pendidikan Diploma IV Bidang Analis Kesehatan di Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang. Terimakasih kepada semua pihak yang telah berperan dalam penyelesaian tugas akhir, khususnya :

1. Andri Sukeksi, SKM, M.Si selaku Pembimbing I yang telah memberikan waktu, tenaga, pikiran dalam penulisan.
2. Fitri Nuroini, M.Sc selaku Pembimbing II yang memberikan semangat dan sabar membimbing dan mengarahkan penulis.
3. Keluargaku tercinta atas dukungan moril maupun materiil.
4. Pimpinan dan teman-teman di Puskesmas Bugangan Semarang.
5. Semua pihak, atas bantuan dan dukungannya dalam penelitian.

Harapan penulis, tugas akhir ini bermanfaat bagi pembaca. Aamiin.

Semarang, September 2019

Penulis

Murniati

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PERSETUJUAN .....	ii
HALAMAN PENGESAHAN .....	iii
HALAMAN SURAT PERNYATAAN .....	iv
ABSTRAK .....	v
ABSTRACT .....	vi
KATA PENGANTAR .....	vii
DAFTAR ISI .....	viii
DAFTAR TABEL .....	x
DAFTAR GAMBAR .....	xi
DAFTAR LAMPIRAN .....	xii
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	3
1.4 Manfaat Penelitian .....	4
1.5 Orisinalitas .....	5
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Kolesterol .....	6
2.2 Faktor-faktor yang Berpengaruh Terhadap Kadar Kolesterol .....	8
2.3 Pengukuran Kadar Kolesterol Metode CHOD-PAP .....	10
2.4 Faktor yang Berpengaruh Terhadap Hasil Pemeriksaan Kolesterol .	13
2.5 Inkubasi .....	14
2.5 Kerangka Teori .....	15
2.6 Kerangka Konsep .....	15
2.7 Hipotesis .....	15
<b>BAB III METODE PENELITIAN</b>	
3.1 Jenis Penelitian.....	16
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian .....	16
3.3 Variabel Penelitian .....	17
3.4 Definisi Operasional.....	17
3.5 Populasi dan Sampel .....	17
3.6 Alat dan Bahan.....	18
3.7 Prosedur Penelitian .....	18
3.8 Alur Penelitian .....	20
3.9 Teknik Pengumpulan Data dan Analisis Data .....	21

BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Hasil Penelitian .....	22
4.2 Pembahasan .....	24
BAB V. SIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Simpulan .....	26
5.2 Saran .....	26
DAFTAR PUSTAKA .....	27
LAMPIRAN .....	29

## DAFTAR TABEL

Tabel		Halaman
1.	Orisinalitas Penelitian .....	5
2.	Definisi Operasional .....	17
3.	Panduan Interpretasi Hasil Uji Anova.....	21
4.	Deskripsi Kadar Kolesterol Berdasar Waktu Inkubasi .....	23
5.	Hasil Uji Normalitas dan <i>One Way ANOVA</i> .....	24

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Skema Kerangka Teori .....	15
2. Skema Kerangka Konsep . .....	15
3. Desain Penelitian . .....	16
4. Skema Alur Penelitian .....	20
5. Grafik Rerata Kadar Kolesterol Berdasar Waktu Inkubasi .....	22
6. Alat Sampling Darah Vena .....	37
7. Reagen Kolesterol .....	37
8. Sampling Darah Vena .....	37
9. Pemeriksaan Kadar Kolesterol .....	37
10. Pembacaan Kadar Kolesterol pada Alat Spektrofotometer .....	38

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Data Hasil Penelitian Perbedaan Kadar Kolesterol .....	29
2. Hasil Penghitungan Statistik .....	30
3. Insert kit Mindray .....	35
4. Dokumentasi Penelitian .....	37

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Lipid atau lemak tubuh adalah salah satu komponen yang dibutuhkan oleh tubuh. Lipid berguna sebagai bahan dasar pembentukan hormon, sumber energi, dan berperan sebagai komponen struktural membran sel. Lipid terbagi menjadi beberapa kelompok, salah satunya adalah kolesterol. Kolesterol merupakan derivat lipid tergolong steroid atau sterol yang berikatan dengan asam lemak lain dalam bentuk ester. Kolesterol memiliki fungsi utama dalam pembentukan membran sel, sintesis hormon steroid, dan sintesis asam empedu (Panil, 2008).

Pemeriksaan kolesterol merupakan salah satu bagian pemeriksaan profil lipid yang sering dilakukan di laboratorium klinik. Bahan pemeriksaan kolesterol dapat dilakukan menggunakan serum. Serum harus segera dipisahkan dari sel-sel darah dan segera diperiksa. Apabila tidak segera diperiksa, dapat disimpan dalam lemari es supaya distribusi kolesterol tidak berubah dan enzim-enzim tidak sempat mengubah proporsi lipoprotein. Pengukuran kadar kolesterol menggunakan metode enzimatik *Cholesterol Hydrolisis and Oxidation Determination from Hydrogen Peroxide and Aminophenazone* (CHOD-PAP). Pembacaan kadar kolesterol dilakukan pada alat semi otomatis (Dwi, 2010).

Hasil pemeriksaan kolesterol yang akurat dan dapat dipercaya harus melalui pengendalian tahap pra analitik, analitik, dan paska analitik. Tahap pra

analitik merupakan tahap persiapan sampel dan alat pemeriksaan. Tahap analitik dilakukan pemeriksaan sampel menggunakan alat yang telah disiapkan. Kesalahan yang terjadi pada tahap analitik meliputi kesalahan sistemik dan kesalahan acak.

Kesalahan sistemik merupakan kesalahan yang sifatnya sistemik sehingga mengikuti pola yang pasti. Hasil pengukuran cenderung selalu lebih tinggi atau selalu lebih rendah. Kesalahan acak merupakan suatu kesalahan yang tidak mengikuti pola yang dapat diprediksi. Kesalahan terjadi antara lain disebabkan adanya variasi teknik prosedur pemeriksaan yang dilakukan oleh operator atau tenaga ATLM. Kesalahan disebabkan pipetasi, pencampuran sampel dengan reagen, dan waktu inkubasi tidak sesuai dengan prosedur yang telah ditetapkan. Kesalahan acak menyebabkan hasil yang kurang presisi atau kurang teliti (Indranila, 2018).

Pemeriksaan kadar kolesterol di Puskesmas Bugangan dengan metode CHOD-PAP menggunakan reagen kolesterol pembacaan alat spektrofotometer. Prosedur kerja pada *insert kit Mindray* menyebutkan bahwa sampel serum dan reagen dicampur rata (homogen) kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit. Metode CHOD-PAP merupakan reaksi enzimatik yang memiliki prinsip kolesterol oksidase sehingga akan menghasilkan peroksida. Peroksida yang terbentuk diwarnai dengan empat amino antipirin dan phenol membentuk kuinoneimine yang berwarna merah ungu (Panil, 2008).

Penundaan waktu inkubasi pembacaan kadar kolesterol seringkali dilakukan pada waktu 15 menit, bahkan 20 menit. Hal ini disebabkan karena keterbatasan jumlah tenaga ATLM (Ahli Teknologi Laboratorium Medik) dan berbagai macam

parameter yang harus diperiksa. Penundaan waktu inkubasi dapat menurunkan aktivitas enzim, sehingga dapat mempengaruhi kadar kolesterol. Penelitian pemeriksaan laboratorium berdasarkan waktu inkubasi dilakukan oleh Nilam (2017) dengan parameter asam urat waktu inkubasi 5, 15, 30, dan 45 menit. Penelitian mengenai kadar kolesterol berdasarkan waktu inkubasi belum pernah dilaporkan, sehingga penelitian tersebut penting untuk dilakukan.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Berdasarkan uraian pada latar belakang maka permasalahan dapat dirumuskan sebagai berikut : bagaimanakah perbedaan kadar kolesterol berdasarkan waktu inkubasi 10, 15 dan 20 menit?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

### **1.3.1 Tujuan Umum**

Penelitian bertujuan untuk mengetahui perbedaan kadar kolesterol berdasarkan waktu inkubasi 10, 15 dan 20 menit.

### **1.3.2 Tujuan Khusus**

1. Mengukur kadar kolesterol waktu inkubasi 10 menit.
2. Mengukur kadar kolesterol waktu inkubasi 15 menit.
3. Mengukur kadar kolesterol waktu inkubasi 20 menit.
4. Menganalisis perbedaan kadar kolesterol waktu inkubasi 10, 15, dan 20 menit.

#### **1.4 Manfaat Penelitian**

##### **1. Bagi Peneliti**

Hasil penelitian diharapkan dapat menambah ketrampilan, wawasan dan pengetahuan peneliti dalam melakukan pemeriksaan kadar kolesterol.

##### **2. Bagi Ahli Teknologi Laboratorium Medik (ATLM)**

Hasil penelitian dapat memberi informasi bagi ATLM mengenai pentingnya memperhatikan waktu inkubasi pemeriksaan kolesterol.

##### **3. Bagi Institusi**

Hasil penelitian dapat menambah perbendaharaan skripsi di perpustakaan Fakultas Ilmu Kesehatan dan Keperawatan Universitas Muhammadiyah Semarang.

## 1.5 Orisinalitas Penelitian

Tabel 1. Orisinalitas Penelitian Perbedaan Kadar Kolesterol Berdasarkan Waktu Inkubasi 10,15, 20 menit

Nama Peneliti	Judul Penelitian	Hasil Penelitian
Atuningtyas, Nilam 2017	Perbedaan Kadar Asam Urat dengan Masa Inkubasi 5 Menit, 15 Menit, 30 Menit, dan 45 Menit	Rerata kadar asam urat masa inkubasi 5,15,30, dan 45 menit adalah 5,77 mg/dL, 5,99 mg/dL 5,93 mg/dL, dan 5,80 mg/dL. Uji <i>One way</i> ANOVA didapatkan hasil $p > 0,05$ artinya tidak ada perbedaan bermakna kadar asam urat masa inkubasi 5, 15, 30 dan 45 menit.
Suryanti, 2017	Perbedaan Kadar Kolesterol Serum Segera dengan Tunda 2 Jam dan 3 Jam	Rerata kadar kolesterol segera diperiksa, tunda 2 jam dan 3 jam adalah 220,78 mg/dL, 217,78 mg/dL, dan 210,89 mg/dL. Hasil uji statistik One-Way Anova diperoleh nilai $p$ -value= 0,939 yang berarti $p$ -value>0,05, menunjukkan tidak terdapat perbedaan signifikan pada kadar kolesterol segera dengan tunda 2 jam dan 3 jam.
Zulfikar Ali Rizal, 2017	Perbandingan Kadar Kolesterol Pada Sampel Langsung dan Tunda 5 Jam dengan Metode CHOD-PAP	Rerata kadar kolesterol langsung diperiksa, tunda 5 jam adalah 182,67 mg/dL, dan 179,47 mg/dL. Hasil uji <i>Paired t test</i> , memiliki nilai $p$ sebesar 0,000 ( $p < 0,05$ ) yang artinya terdapat perbedaan bermakna antara sampel serum langsung dan tunda lima jam.

Penelitian ini bersifat orisinal. Perbedaan dengan penelitian sebelumnya adalah pada variabel penelitian dan perlakuan sampel penelitian. Variabel dalam penelitian adalah kadar kolesterol waktu inkubasi 10, 15, dan 20 menit.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Kolesterol**

Kolesterol merupakan senyawa lemak kompleks 80% dihasilkan dari dalam tubuh sedangkan sisanya dari luar tubuh (Annisa, 2010). Kolesterol berasal dari bahan makanan yang dikonsumsi sehari-hari sehingga dapat meningkatkan kadar kolesterol dalam darah. Konsumsi lemak sebanyak 100 mg/hari dapat meningkatkan 3 mg/dL kadar kolesterol total (Yani, 2015).

Kolesterol bersifat tidak larut dalam air sehingga diperlukan suatu alat transportasi untuk beredar dalam darah yaitu apoprotein yang merupakan salah satu jenis protein. Kolesterol akan membentuk kompleks dengan apoprotein sehingga membentuk suatu ikatan yang disebut lipoprotein (Kosasih, 2008). Lipoprotein merupakan berbagai jenis kompleks lipid-protein yang berfungsi sebagai transport lipid di dalam darah. Partikel lipoprotein terdiri dari inti trigliserida atau ester kolesterol berbentuk bulat hidrofobik yang dikelilingi satu lapisan fosfolipid, kolesterol, dan apolipoprotein (Dorland, 2012).

Terdapat empat jenis lipoprotein yang menurut fungsinya, terdiri dari kilomikron, VLDL, LDL, dan HDL. Komponen utama kilomikron adalah trigliserida sebesar 85–90%, dan kolesterol hanya 6%. Kilomikron adalah lipoprotein yang paling besar dan memiliki densitas paling rendah. Kilomikron mengangkut lipid yang berasal dari makanan dari saluran cerna ke seluruh tubuh. Kilomikron mengemulsi lemak sebelum masuk ke dalam aliran darah. VLDL atau

*Very Low Density Lipoprotein* adalah lipoprotein yang dibentuk di dalam hati dengan densitas sangat rendah, yang terdiri dari trigliserida. Apabila VLDL meninggalkan hati, maka lipoprotein lipase kembali bekerja dengan memecah trigliserida yang ada pada VLDL, kemudian VLDL mengikat kolesterol pada lipoprotein lain dalam sirkulasi darah. VLDL bertambah berat dengan berkurangnya trigliserida dan berubah menjadi LDL (Almatsier, 2009). HDL (*High Density Lipoprotein*) dibentuk oleh sel hati dan usus, berfungsi mentransport kolesterol dari perifer ke hati dimana zat tersebut dimetabolisasi dan diekskresi (Kosasih, 2008).

Metabolisme kolesterol dalam tubuh dengan diabsorpsi di usus dan dikirim ke dalam bentuk kilomikron menuju hati. Kolesterol dibawa oleh VLDL membentuk LDL melalui perantara IDL (*Intermediate Density Lipoprotein*). LDL akan membawa kolesterol ke seluruh jaringan perifer sesuai dengan kebutuhan. Sisa kolesterol di perifer akan berikatan dengan HDL dan dibawa kembali ke hati agar tidak terjadi penumpukan di jaringan. Kolesterol di hati diekskresikan menjadi asam empedu, sebagian dikeluarkan melalui feses, sebagian asam empedu diabsorpsi oleh usus melalui vena porta hepatic yang disebut dengan siklus enterohepatik (Widman, 2005).

Nilai rujukan untuk kadar kolesterol normal adalah  $< 200$  mg/dL, sedang  $200\text{--}240$  mg/dL dan tinggi  $\geq 240$  mg/dL. Kolesterol berlebihan dalam tubuh akan tertimbun di dalam dinding pembuluh darah dan menimbulkan kondisi aterosklerosis yaitu penyempitan atau pengerasan pembuluh darah. Kelainan metabolisme lipid ditandai peningkatan atau penurunan fraksi lipid dalam plasma

yang disebut dislipidemia. Kelainan fraksi lipid meliputi kenaikan kadar kolesterol total (hiperkolesterolemia), peningkatan LDL, serta penurunan kadar HDL (Almatsier, 2009).

## **2.2 Faktor-faktor yang Berpengaruh Terhadap Kadar Kolesterol**

Kadar kolesterol dalam darah dipengaruhi faktor yang tidak dapat dikendalikan, dan faktor yang dapat dikendalikan. Faktor resiko yang tidak dapat dikendalikan terdiri atas keturunan, usia dan jenis kelamin. Faktor genetik merupakan faktor keturunan yang dapat diwariskan, dan berdasarkan penelitian dapat berpengaruh terhadap konsentrasi kolesterol di dalam darah. Keluarga yang memiliki riwayat kolesterol tinggi, kemungkinan memiliki keturunan dengan kadar kolesterol yang tinggi (Graha, 2010). Menurut Survey Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) tahun 2004, prevalensi hiperkolesterolemia di Indonesia pada usia 25–34 tahun sebesar 9,3%, pada kelompok usia 53–64 tahun sebesar 15,5% (Yoeantafara, 2017). Data Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Tengah tahun 2006 menyebutkan bahwa prevalensi hiperkolesterolemia sebesar 26,1% pada laki-laki dan 25,9% pada perempuan (Firdiansyah, 2014). Kadar HDL pada perempuan dapat meningkat karena adanya hormon estrogen yang secara alamiah ada di dalam tubuh (Lieseke, 2018).

Faktor risiko yang dapat dikendalikan antara lain, hipertensi, kebiasaan merokok, diabetes melitus (DM), stress, obesitas, dan gaya hidup (aktivitas fisik, pola makan). Kondisi stress atau tertekan memiliki resiko lebih besar untuk terkena kolesterol tinggi. Hal ini disebabkan karena tubuh mengeluarkan hormon kortisol dan adrenalin yang dapat meningkatkan kadar kolesterol. Kadar gula

darah yang tinggi dalam tubuh akan meningkatkan kadar kolesterol dalam darah. Penderita diabetes mellitus yang memiliki kadar gula yang tinggi dapat memicu tubuhnya memiliki kadar kolesterol yang tinggi. Gaya hidup penyebab kenaikan kadar kolesterol antara lain kurang aktifitas olahraga dan kurang minum air yang mengandung mineral. Nikotin dari asap rokok, minum minuman yang mengandung alkohol serta makan kurang teratur mengakibatkan kadar lemak jenuh menjadi lebih tinggi (Murray, 2009). Pengukuran IMT (Indeks Masa Tubuh) mempunyai pengaruh yang cukup besar terhadap kejadian hiperkolesterolemia atau kolesterol yang berlebih. Seseorang dengan berat badan kurang cenderung kurang beresiko terkena hiperkolesterolemia dibanding dengan seseorang yang memiliki berat badan berlebih. IMT memiliki resiko terhadap kenaikan kadar kolesterol darah 1,61 kali lebih tinggi. Kolesterol yang tinggi menyebabkan munculnya penumpukan plak di pembuluh darah. Hal ini menyebabkan jantung bekerja lebih keras untuk memompa darah sehingga menimbulkan tekanan darah yang tinggi (Soleha, 2012).

Konsumsi makanan yang banyak mengandung lemak dan kurang serat dapat meningkatkan kadar kolesterol dalam darah. Konsumsi makanan sesuai anjuran WHO untuk lemak adalah 20-30% dari kebutuhan energi total. Sumber lemak antara lain minyak kelapa, minyak kelapa sawit, mentega, margarine, lemak hewan (lemak daging dan ayam), kacang-kacangan, biji-bijian, krim, susu, keju, kuning telur serta bahan makanan yang dimasak dengan lemak atau minyak. Selain itu juga daging, susu, keju serta udang dan kerang (Almatsier, 2009).

## **2.3 Pengukuran Kadar Kolesterol Metode CHOD-PAP**

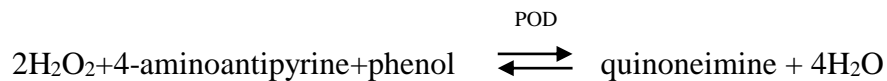
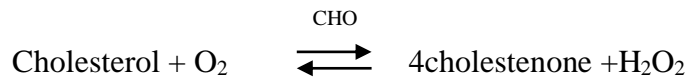
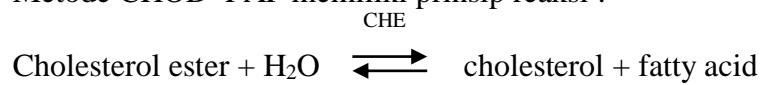
### **2.3.1 Spesimen**

Spesimen atau bahan pemeriksaan kolesterol adalah darah lengkap (*whole blood*) yang diperoleh dari pembuluh darah kapiler atau darah vena, dan serum atau plasma yang berasal dari pembuluh darah vena. Serum darah adalah plasma tanpa fibrinogen, sel dan faktor koagulasi lain. Serum merupakan cairan berwarna kuning muda yang diperoleh dengan cara mensentrifugasi sejumlah darah yang dibiarkan membeku tanpa antikoagulan (Widmann, 2005). Pengambilan serum harus dilakukan dengan hati-hati agar tidak terjadi hemolisis. Hemolisis dapat meningkatkan konsentrasi kalium dan laktat dehidrogenase dalam serum sehingga menyebabkan gangguan pada pemeriksaan akibat dibebaskannya pigmen hemoglobin (Sacher, 2009).

### **2.3.2 Metode Pengukuran**

Metode pengukuran kadar kolesterol antara lain metode kolorimetri, dan enzimatik. Metode kolorimetri salah satunya Lieberman–Burchad, yang memiliki prinsip kolesterol dengan asam asetat anhidrida dan asam sulfat pekat membentuk warna hijau kecoklatan. Absorban warna ini sebanding dengan kolesterol dalam sampel. Metode CHOD–PAP merupakan metode enzimatik yang banyak dipergunakan di laboratorium klinik karena hasilnya lebih teliti, hanya saja reagen harus disimpan dengan baik karena enzim mudah rusak. Kolesterol direaksikan menggunakan enzim tertentu sebagai biokatalisator sehingga reaksi lebih spesifik (Purbayanti, 2015).

Metode CHOD–PAP memiliki prinsip reaksi :



Metode CHOD–PAP merupakan reaksi enzimatik yang memiliki prinsip kolesterol oksidasi sehingga akan menghasilkan peroksida. Peroksida yang terbentuk diwarnai dengan empat amino antipirin dan phenol membentuk kuinoneimine yang berwarna merah ungu (Panil, 2008). Nilai aktivitas enzim berbanding terbalik dengan kenaikan waktu inkubasi. Semakin lama waktu inkubasi maka semakin turun nilai aktivitas enzimnya. Enzim merupakan protein yang sensitif terhadap kerusakan akibat paparan lingkungan, seperti suhu, cahaya dan bahan kimia yang berinteraksi dengan enzim. Semakin lama terkena paparan tersebut maka struktur enzim yang terdapat pada lingkungan tersebut akan semakin banyak yang rusak sehingga menurunkan nilai aktivitas (Adam, 2014).

Metode CHOD–PAP memperlihatkan linearitas yang baik sampai dengan 500 mg/dL. Sampel yang keruh, lipemik, ikterik, atau hemolisis dapat mengganggu pada saat pemeriksaan. Dalam metode enzimatik, bilirubin dapat menyebabkan interferensi negatif, karena bilirubin bereaksi dengan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sehingga mengurangi jumlah peroksida yang tersedia untuk membentuk kompleks berwarna (Setiawan, 2016).

### 2.3.3 Spektrofotometer

Spektrofotometri merupakan salah satu metode dalam kimia analisis yang digunakan untuk menentukan komposisi suatu sampel baik secara kuantitatif dan kualitatif yang didasarkan pada interaksi antara materi dengan cahaya. Para kimiawan telah lama menggunakan bantuan warna sebagai bantuan dalam mengenali zat-zat kimia. Peralatan spektrofotometri disebut spektrofotometer. Spektrofotometer merupakan alat yang digunakan untuk mengukur absorbansi dengan cara melewatkan cahaya dengan panjang gelombang tertentu pada suatu obyek kaca atau kuarsa yang disebut kuvet. Sebagian dari cahaya tersebut akan diserap dan sisanya akan dilewatkan. Nilai absorbansi dari cahaya yang dilewatkan akan sebanding dengan konsentrasi larutan di dalam kuvet. Alat spektrofotometer terdiri dari spektrometer dan fotometer. Spektrometer menghasilkan sinar dari spektrum dengan panjang gelombang tertentu dan fotometer adalah alat pengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau yang diabsorpsi. Spektrofotometer digunakan untuk mengukur energi secara relatif jika energi tersebut ditransmisikan, direfleksikan atau diemisikan sebagai fungsi dari panjang gelombang (Tuntun, 2018).

Spektrofotometer digunakan untuk membaca substrat, produk atau Ko enzim, yang diukur adalah aktivitas dari enzim yang paralel dengan konsentrasi kolesterol. Pengukuran kolesterol secara enzimatis perlu dilakukan persiapan blanko (aquadest) dan sampel. Pembuatan blanko reagen kolesterol total dan sampel harus dilakukan inkubasi selama 10 menit pada suhu 37°C. Pembacaan kadar kolesterol pada panjang gelombang 510 nm (*Insert kit Mindray*).

#### **2.4 Faktor yang Berpengaruh terhadap Hasil Pemeriksaan Kolesterol**

Hasil pemeriksaan yang baik tergantung pada semua tahap pemeriksaan, yaitu pra analitik, analitik dan paska analitik. Kesalahan pra analitik memberikan kontribusi sekitar 61%, kesalahan analitik 25%, dan paska analitik 14% dari total kesalahan pemeriksaan laboratorium. Tahap pra analitik meliputi kondisi pasien, cara dan waktu pengambilan sampel, penanganan, transportasi, proses penyimpanan sampai dengan sampel siap diperiksa (Tuntun, 2018). Peningkatan kadar kolesterol dapat disebabkan sebelum pengambilan darah pasien melakukan kerja fisik yang berat selama 12 jam. Pemeriksaan panel lipid dianjurkan pasien harus berpuasa 8-12 jam sebelum sampling, duduk tenang selama 5 menit dan pengambilan dengan pembendungan ringan dan sebaiknya kurang dari 1 menit, tidak mengonsumsi alkohol 3-4 hari sebelumnya, dan tidak mengalami penurunan berat badan yang mencolok (Harjono, 2003).

Tahap analitik meliputi pemeriksaan spesimen, pemeliharaan dan kalibrasi alat, uji kualitas reagen, dan uji ketelitian dan ketepatan (Tuntun, 2018). Kesalahan sistemik yang umum terjadi antara lain spesifitas reagen atau metode pemeriksaan rendah, blanko sampel dan blanko reagen kurang tepat, mutu reagen kalibrasi kurang baik, pipet tidak akurat, panjang gelombang yang digunakan tidak tepat, dan salah saat melarutkan reagen. Pengukuran kolesterol dapat terjadi kesalahan analitik acak (*random error*) merupakan suatu kesalahan yang tidak mengikuti pola yang dapat diprediksi. Kesalahan dapat disebabkan instrumen yang tidak stabil, adanya variasi atau perubahan pada temperatur, reagen dan kalibrasi, teknik prosedur pemeriksaan, dan variasi operator. Kesalahan teknik

pada prosedur pemeriksaan meliputi pipetasi, pencampuran, dan waktu inkubasi (Indranila, 2018).

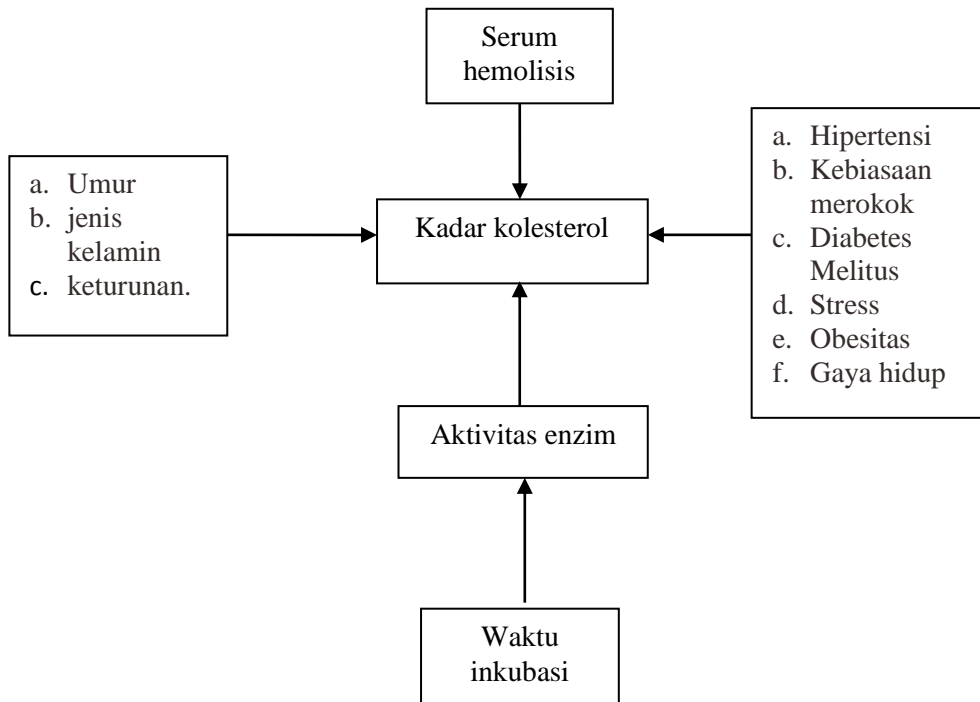
Tahap pasca analitik yaitu tahap sebelum hasil pemeriksaan diserahkan kepada pasien meliputi penulisan hasil, interpretasi hasil, dan pelaporan hasil. Kesalahan penulisan hasil pemeriksaan pasien dapat membuat klinisi atau dokter salah memberikan diagnosis terhadap pasien. Kesalahan dalam interpretasi dan melaporkan hasil pemeriksaan dapat berbahaya bagi pasien (Tuntun, 2018).

## **2.5 Inkubasi**

Kondisi inkubasi meliputi waktu dan suhu inkubasi. Waktu inkubasi adalah waktu yang diperlukan sampel dan reagen untuk bereaksi secara optimal sebelum dilakukan pemeriksaan. Waktu dan suhu inkubasi mempengaruhi kadar suatu zat yang ditentukan. Kenaikan suhu mempercepat reaksi-reaksi kimia sesuai dengan hukum van't Hoff yang menyatakan bahwa kenaikan suhu 10°C dapat melipatgandakan kecepatan reaksi (Wulansari, 2017). Kecepatan reaksi enzim mencapai puncaknya pada suhu optimum yang dipengaruhi oleh total waktu inkubasi. Suhu optimum pemeriksaan kadar kolesterol sampel serum dengan reaksi enzimatik yaitu pada suhu 37°C. Kenaikan suhu lingkungan menyebabkan enzim akan bereaksi secara optimal apabila suhu ditingkatkan terus, maka jumlah enzim yang aktif akan berkurang karena mengalami denaturasi (Aningsih, 2018).

Pemeriksaan kadar kolesterol menggunakan reagen mindray dengan alat spektrofotometer membutuhkan waktu inkubasi 10 menit. Kesalahan acak yaitu waktu inkubasi tidak seharusnya menyebabkan variasi hasil pada sampel yang sama walaupun pemeriksaan dilakukan dengan cermat (Riswanto, 2010).

## 2.6 Kerangka Teori



Gambar 1. Skema Kerangka Teori

## 2.7 Kerangka Konsep



Gambar 2. Skema Kerangka Konsep

## 2.8 Hipotesis

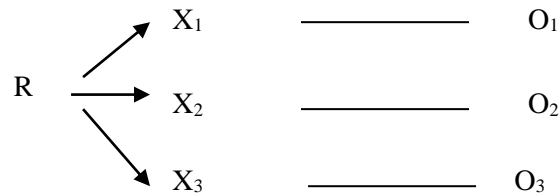
Ada perbedaan kadar kolesterol berdasarkan waktu inkubasi 10,15, dan 20 menit.

## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### 3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian eksperimen, dengan rancangan penelitian acak dengan tes akhir dan kelompok kontrol (*The randomized posttest only control group design*).



Gambar 3. Desain Penelitian

Keterangan :

R = random

X<sub>1</sub> = kontrol serum waktu inkubasi 10 menit

X<sub>2</sub> = sampel inkubasi 15 menit

X<sub>3</sub> = sampel inkubasi 20 menit

O<sub>1</sub> = kadar kolesterol waktu inkubasi 10 menit

O<sub>2</sub> = kadar kolesterol waktu inkubasi 15 menit

O<sub>3</sub> = kadar kolesterol waktu inkubasi 20 menit

#### 3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Puskesmas Bugangan yang beralamat di Jl. Cilosari No 1 Semarang. Waktu penelitian bulan Agustus 2019.

### 3.3 Variabel Penelitian

Variabel bebas dalam penelitian adalah variasi waktu inkubasi. Variabel terikat adalah kadar kolesterol.

### 3.4 Definisi Operasional

Tabel 2. Definisi Operasional Perbedaan Kadar Kolesterol Berdasarkan Waktu Inkubasi 10,15, 20 menit

Variabel	Definisi Operasional	Skala
Kadar kolesterol	Hasil pengukuran kolesterol sampel serum dengan metode CHOD-PAP pada suhu 37°C selama 10,15 dan 20 menit menggunakan pembacaan alat spektrofotometer dengan panjang gelombang 510 nm yang dinyatakan dalam mg/dL	Ratio
Waktu inkubasi	Waktu inkubasi adalah waktu yang diperlukan sampel dan reagen untuk bereaksi secara optimal pada suhu 37°C selama 10, 15 dan 20 menit	Ordinal

### 3.5 Populasi dan Sampel

Populasi penelitian adalah pasien yang periksa kadar kolesterol di Puskesmas Bugangan Semarang pada bulan Agustus 2019. Sampel dipilih yang memenuhi kriteria inklusi. Kriteria inklusi : serum tidak hemolisis, tidak lipemik, dan tidak ikterik. Sampel pada penelitian sebanyak 27 sampel, yang diperoleh dari perkalian antara jumlah replikasi dengan banyaknya kelompok perlakuan.

Penghitungan replikasi menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\begin{aligned}
 (t-1)(r-1) &> 15 \\
 (3-1)(r-1) &\geq 15 \\
 2(r-1) &\geq 15 \\
 2r &\geq 17 \\
 r &\geq 17 : 2 \\
 r &\geq 8,5 \quad \rightarrow \quad \text{dibulatkan } 9
 \end{aligned}$$

keterangan :

t = banyaknya kelompok perlakuan dan r = jumlah replikasi.

### **3.6 Alat dan Bahan**

Peralatan dalam penelitian adalah : spuit *disposable* 3 mL, pembendung, alat spektrofotometer (*Mindray BA-88A*). Bahan pemeriksaan berupa serum. Reagen dalam penelitian adalah reagen kit kolesterol *mindray*.

### **3.7 Prosedur Penelitian**

#### **3.7.1 Pengambilan Sampel Darah Vena**

Daerah yang akan diambil darahnya (vena mediana cubiti) dibersihkan dengan kapas alkohol dan dibiarkan sampai kering. Pembendung dipasang pada lengan bagian atas kira-kira di atas siku, dan pasien diminta mengepalkan tangan agar vena terlihat jelas. Kulit diatas vena ditegangkan dengan jari tangan kiri supaya vena tidak bergerak, kemudian ditusuk menggunakan jarum spuit steril sampai masuk ke dalam lumen vena, posisi lubang jarum menghadap ke atas.

Pembendungan diregangkan dan penghisap semprit ditarik secara perlahan sampai jumlah darah yang dikehendaki. Pembendung yang masih terpasang dilepaskan dan kapas diletakkan diatas jarum spuit dan spuit dicabut secara perlahan. Luka tusukan ditutup selama beberapa menit dengan kapas, jarum dari semprit dilepaskan dan darah dimasukkan melalui dinding secara perlahan ke dalam tabung reaksi bersih.

#### **3.7.2 Pembuatan Serum**

Darah dalam tabung beku didiamkan selama 10 menit. Tabung dimasukkan dalam sentrifuge dan disentrifius selama 5 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Lapisan jernih berwarna kuning muda di bagian atas dipisahkan dengan

menggunakan pipet dan dimasukkan dalam tabung reaksi bersih dan diberi label (barcode) yang sesuai dan benar.

### **3.7.3 Prosedur Pemeriksaan Kadar Kolesterol Metode CHOD-PAP**

#### **1. Persiapan Sampel**

Tabung reaksi bersih yaitu tabung I, II, dan III masing-masing diisi serum sebanyak 10  $\mu\text{L}$  ditambah dengan 1000  $\mu\text{L}$  reagen kolesterol. Setiap sampel dihomogenkan, diinkubasi pada suhu 37°C. Waktu inkubasi tabung I, II, dan III adalah 10 menit, tabung II untuk pembacaan 15 menit, dan tabung III untuk pembacaan 20 menit.

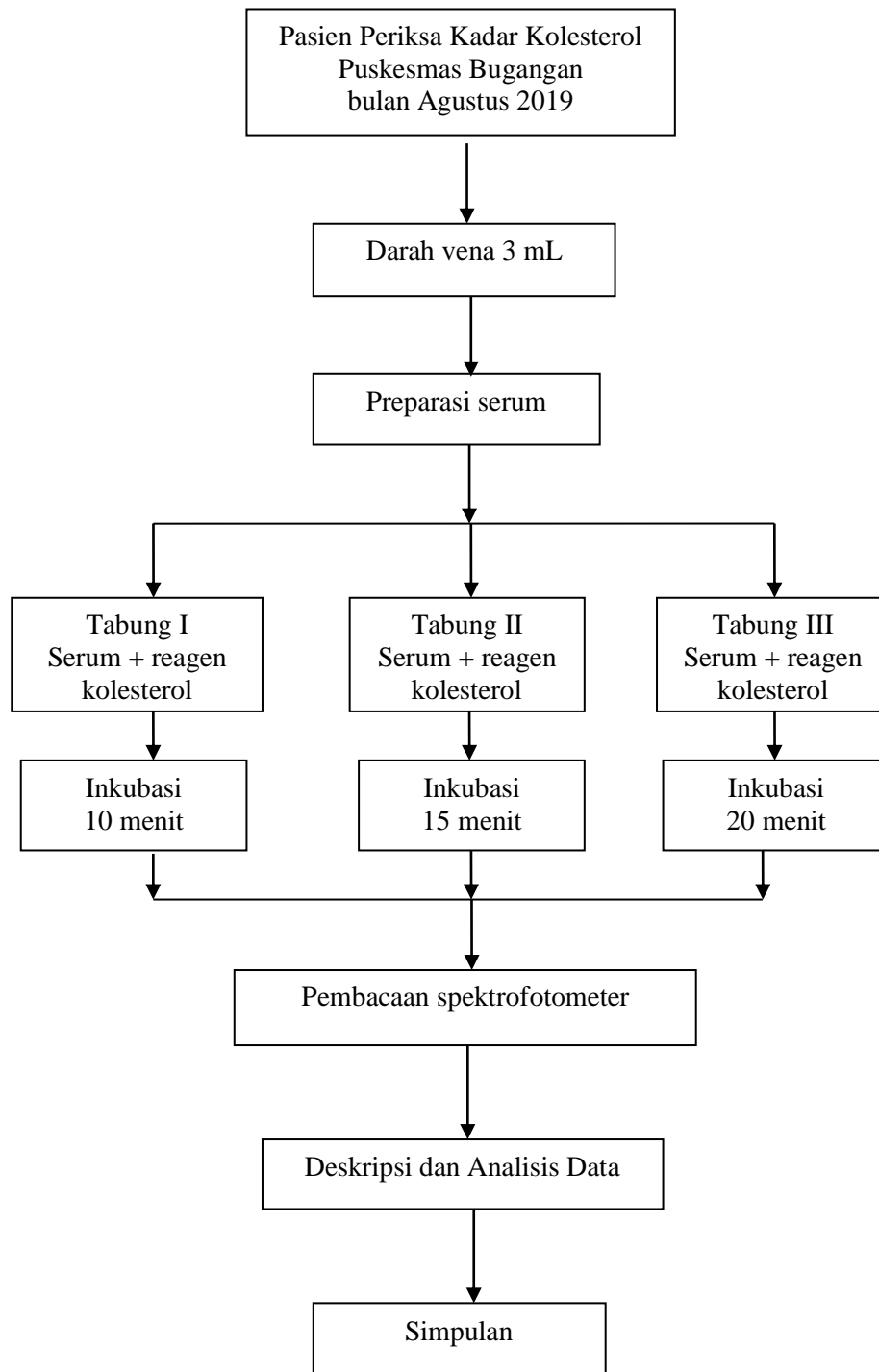
#### **2. Persiapan Blanko Reagen**

Tabung reaksi bersih yaitu tabung I, II, dan III diisi dengan 1000  $\mu\text{L}$  reagen kolesterol, ditambah dengan 10  $\mu\text{L}$  aquabidest. Blanko reagen diinkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit, 15 menit, dan 20 menit.

#### **3. Pembacaan Kadar Kolesterol**

Pembacaan dilakukan dengan mengukur blanko reagen terlebih dahulu, kemudian dilakukan pembacaan pada sampel menggunakan spektrofotometer *Mindray* BA-88A pada panjang gelombang 510 nm. Pembacaan dilakukan berdasar waktu penelitian, tabung I dibaca setelah 10 menit, tabung II dibaca setelah 15 menit, dan tabung III dibaca setelah 20 menit. Hasil pembacaan dicatat sebagai kadar kolesterol.

### 3.8 Alur Penelitian



Gambar 4. Skema Alur Penelitian

### 3.9 Teknik Pengumpulan dan Analisis Data

Data kadar kolesterol yang telah terkumpul dianalisis menggunakan aplikasi statistik komputer. Data dianalisis secara deskriptif dan analitik. Analisis deskriptif, mendeskripsikan variabel kadar kolesterol waktu inkubasi 10, 15, dan 20 menit.

Analisis bivariat, menganalisis variabel kadar kolesterol berdasarkan variasi waktu inkubasi dalam 3 kelompok data, yaitu 10, 15, dan 20 menit. Pengujian statistik diawali dengan uji normalitas *Saphiro Wilk*. Hasil uji normalitas  $p > 0,05$  maka data terdistribusi normal sehingga uji beda dilakukan menggunakan uji hipotesis komparatif variabel numerik ANOVA (*Analysis of Variate*). Uji ANOVA dipilih karena dalam penelitian ini ada 3 kelompok data (Dahlan S, 2014).

Tabel 3. Panduan Interpretasi Hasil Uji ANOVA

Nama uji	Nilai	Interpretasi
Uji ANOVA	$p < 0,05$	Terdapat dua kelompok data yang mempunyai perbedaan rerata yang bermakna (untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda secara bermakna harus dilakukan analisis post-hoc)
Uji Kruskall Wallis	$p > 0,05$	Tidak terdapat perbedaan rerata yang bermakna antara dua kelompok data.

---

Sumber : Statistika untuk Kedokteran dan Kesehatan

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

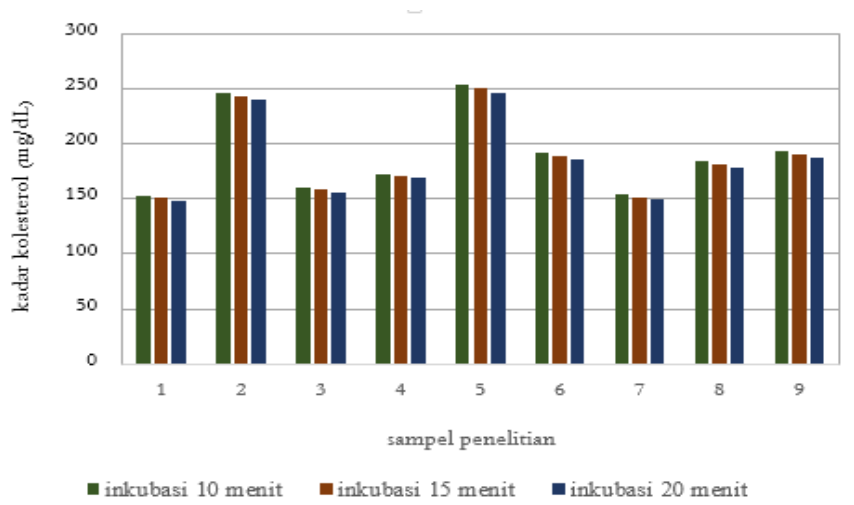
#### 4.1 Hasil Penelitian

##### 4.1.1 Gambaran Umum Sampel Penelitian

Sampel penelitian diperoleh dari 9 sampel darah yang diterima di Laboratorium Puskesmas Bugangan Semarang pada bulan Agustus 2019. Sampel darah diolah menjadi serum. Sampel penelitian dipilih sampel dengan volume cukup, tidak lisis, tidak ikterik dan tidak lipemik. Setiap sampel dibagi dalam 3 tabung kemudian kadar kolesterol diperiksa menggunakan spektrofotometer. Pembacaan menggunakan spektrofotometer suhu 37°C waktu inkubasi 10 menit, 15 menit, dan 20 menit.

##### 4.1.2 Sajian Deskriptif Hasil Penelitian

Hasil penelitian kadar kolesterol disajikan pada Gambar 5.



Gambar 5. Grafik Kadar Kolesterol Berdasar Waktu Inkubasi

Gambar 5 memperlihatkan grafik kadar kolesterol berdasar waktu inkubasi 10 menit, 15 menit, dan 20 menit. Kadar kolesterol waktu inkubasi 15 menit semua sampel penelitian mengalami penurunan dibanding kadar kolesterol waktu inkubasi 10 menit. Kadar kolesterol waktu inkubasi 20 menit semua sampel penelitian mengalami penurunan dibanding kadar kolesterol waktu inkubasi 15 menit, dan 10 menit.

Tabel 4. Deskripsi Kadar Kolesterol (mg/dL) Berdasar Waktu Inkubasi

Kadar kolesterol	N	Minimal	Maksimal	Rerata	Simpang baku
inkubasi 10 menit	9	153,00	254,00	190,11	37,19
inkubasi 15 menit	9	151,00	251,00	187,56	36,79
inkubasi 20 menit	9	149,00	247,00	184,78	36,28

Tabel 4 menyebutkan bahwa kadar kolesterol inkubasi 10 menit terendah 153,00 mg/dL, tertinggi 254,00 mg/dL, rerata 190,11 mg/dL. Kadar kolesterol inkubasi 15 menit mengalami penurunan, yaitu terendah 151,00 mg/dL, tertinggi 251,00 mg/dL, rerata 187,56 mg/dL. Kadar kolesterol inkubasi 20 menit semakin menurun, yaitu terendah 149,00 mg/dL, tertinggi 247,00 mg/dL, rerata 184,78 mg/dL. Hasil penelitian kadar kolesterol diperlihatkan pada Gambar 5.

#### 4.1.3 Sajian Analisis Bivariat

Proses penghitungan statistik melalui tahapan uji normalitas dengan *Saphiro Wilk* diperoleh nilai p ketiga variabel  $> 0,05$  yang artinya data terdistribusi normal, sehingga uji beda dilakukan dengan uji *One way ANOVA*. Hasil uji normalitas dan uji beda *one way ANOVA* disajikan pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil Uji Normalitas dan *One Way ANOVA*

Kadar kolesterol	Uji normalitas	Uji beda ANOVA
inkubasi 10 menit	0,091	0,954
inkubasi 15 menit	0,085	
inkubasi 20 menit	0,076	

Tabel 5 menyebutkan uji normalitas variabel kadar kolesterol  $p > 0,05$ . Hasil uji beda ANOVA diperoleh  $p = 0,954$  yang artinya tidak terdapat perbedaan bermakna pada kadar kolesterol inkubasi 10 menit, 15 menit, dan 20 menit.

#### 4.2 Pembahasan

Hasil pemeriksaan kadar kolesterol berdasar waktu inkubasi dipengaruhi pemeriksaan spesimen, pemeliharaan dan kalibrasi alat, uji kualitas reagen, dan uji ketelitian dan ketepatan (Tuntun, 2018). Kesalahan teknik pada prosedur pemeriksaan yaitu waktu inkubasi 15 menit dan 20 menit merupakan permasalahan yang diteliti. Tahap analitik merupakan tahap pengerjaan pengujian sampel meliputi metode, reagen, dan alat pengukuran. Metode pemeriksaan CHOD-PAP pembacaan secara semi otomatis pada alat spektrofotometer. Reagen kit kolesterol dalam keadaan baik. Pencampuran serum dengan reagen sebelum pembacaan dilakukan hingga homogen. Sesuai *Insert kit Mindray* pembacaan kadar kolesterol dilakukan pada panjang gelombang 510 nm diinkubasi selama 10 menit pada suhu 37°C. Hasil pembacaan kadar kolesterol pada alat spektrofotometer dicatat pada lembar data penelitian tanpa menuliskan identitas pasien hanya menuliskan nomor urut sampel pada lembar pengumpulan data.

Data yang terkumpul kemudian diolah dan disajikan secara deskriptif untuk mengetahui distribusi variabel kadar kolesterol. Tabel 4 menunjukkan rerata kadar kolesterol inkubasi 15 menit dan 20 menit mengalami penurunan dibanding inkubasi 10 menit. Rerata kadar kolesterol waktu inkubasi 10 menit, 15 menit dan 20 menit adalah 190,11 mg/dL, 187,56 mg/dL, dan 184,78 mg/dL. Rerata persentase penurunan waktu inkubasi 15 menit dan 20 menit dibanding waktu inkubasi 10 menit adalah 1,35% dan 2,81%. Penurunan kadar kolesterol waktu inkubasi 20 menit lebih besar dibanding waktu inkubasi 15 menit. Hasil pengukuran kadar kolesterol pada inkubasi lebih dari 10 menit mengalami penurunan dimungkinkan adanya enzim peroksidase. Semakin lama waktu inkubasi maka semakin turun nilai aktivitas enzimnya. Hasil penelitian ini sesuai dengan teori bahwa nilai aktivitas enzim berbanding terbalik dengan kenaikan waktu inkubasi. Waktu inkubasi yang lebih lama dari seharusnya, artinya terkena paparan lebih lama maka struktur enzim yang terdapat pada lingkungan tersebut akan semakin banyak yang rusak sehingga nilai aktivitas enzim menurun.

Penelitian ini menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna pada kadar kolesterol inkubasi 10 menit, 15 menit, dan 20 menit. Kadar kolesterol pada 9 sampel penelitian mengalami penurunan seiring waktu inkubasi, meski secara statistik penurunan tersebut tidak bermakna.

## **BAB V**

### **SIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 Simpulan**

Penelitian perbedaan kadar kolesterol berdasar waktu inkubasi disimpulkan :

1. Kadar kolesterol inkubasi 10 menit terendah 153,00 mg/dL, tertinggi 254,00 mg/dL, rerata 190,11 mg/dL, simpang baku 37,19.
2. Kadar kolesterol inkubasi 15 menit terendah 151,00 mg/dL, tertinggi 251,00 mg/dL, rerata 187,56 mg/dL, simpang baku 36,79.
3. Kadar kolesterol inkubasi 20 menit terendah 149,00 mg/dL, tertinggi 247,00 mg/dL, rerata 184,78 mg/dL, simpang baku 36,28.
4. Kadar kolesterol mengalami penurunan seiring waktu inkubasi inkubasi 10 menit, 15 menit, dan 20 menit, meski secara statistik tidak ada perbedaan bermakna ( $p=0,954$ ).

#### **5.2 Saran**

1. ATLM sebaiknya dalam melakukan pembacaan kadar kolesterol pada spektrofotometer sesuai dengan prosedur, salah satunya adalah waktu inkubasi.
2. Penelitian dapat dilanjutkan dengan menambah jumlah sampel penelitian, dan perbedaan suhu inkubasi.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adam, M. 2014. Pengaruh Waktu, pH dan Suhu Inkubasi Terhadap Aktivitas Enzim Keratinase Dari Isolat Bacillus SLII-I.
- Atuningtyas, N, 2017. Perbedaan Kadar Asam Urat dengan Masa Inkubasi 5 Menit, 15 Menit, 30 Menit, dan 45 Menit. *Skripsi*. Universitas Muhammadiyah. Semarang
- Aningsih, R. 2018. Perbedaan Kadar Asam Urat Berdasarkan Variasi Waktu Inkubasi. *Skripsi*. Universitas Muhammadiyah. Semarang
- Annisa, M. 2010. Evaluasi Bobot Badan dan Profil Lipid (Total Kolesterol, Triglicerida dan LDL) Pada Monyet Ekor Panjang (*Macaca Fascicularis*) dengan Diet Tinggi Lemak dan Intervensi Nikotin. *Jurnal Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor*.
- Dahlan S. 2014. *Statistika untuk Kedokteran dan Kesehatan*. Arkans. Jakarta
- Departemen Kesehatan RI. 2004. *Pedoman Praktek Laboratorium Yang Benar (Good Laboratory Praktice)*. Jakarta
- Dorland, W.A. Newman. 2012. *Kamus Kedokteran. Edisi 28*. Buku Kedokteran EGC. Jakarta
- Dwi, S. 2010. Pengaruh Suhu Dan Waktu Simpan Pada Serum Untuk Pemeriksaan Kolesterol Total. *Karya Tulis Ilmiah*. Universitas Muhammadiyah. Semarang.
- Firdiansyah, M. 2014. Hubungan Antara Rasio Kadar Kolesterol Total Terhadap High Density Lipoprotein (HDL) dengan Kejadian Penyakit Jantung Koroner di RSUD dr. Moewardi. *Skripsi*. Universitas Muhammadiyah. Surakarta
- Graha, KC. 2010. *Kolesterol*. PT Elex Media Komputindo. Jakarta
- Harjono, 2003. *Interpretasi Hasil Test Laboratorium Diagnostik*. Hasanuddin Universitas Pers. 277-9. Makassar
- Indranila, KS. 2018. Kontrol Kualitas Laboratorium Klinik. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Semarang
- Insert Kit Mindray. 2011. *Total Colesterol*.
- Kosasih, EN. 2008. *Tafsiran Hasil Pemeriksaan Laboratorium Klinik*. Karisma Publising Group. Jakarta.
- Lieseke, L. Constance. 2018. *Buku Ajar Laboratorium Klinis*. Penerbit Buku Kedokteran ECG. . Jakarta

- Murray, R. K., Granner, D. K., & Rodwell, V. W. 2009. *Harper's Illustrated Biochemistry*. Toronto.
- Panil. Z. 2008. *Memahami Teori Dan Praktik Biokimia Dasar Medis*. EGC. Jakarta
- Riswanto. 2013. *Pemeriksaan Laboratorium Hematologi*. Alfamedika dan Kanal Medika. Yogyakarta
- Sacher, Ronald. McPherson, Richard. 2009. *Tinjauan klinis Hasil Pemeriksaan Laboratorium. Edisi 11*. EGC. Jakarta
- Soleha, M. 2012. Kadar Kolesterol Tinggi dan Faktor-faktor yang Berpengaruh Terhadap Kadar Kolesterol Darah. *Jurnal Biomedik*. Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan, Badan Litbangkes Kemenkes RI
- Sunita, A 2009. *Prinsip Dasar Ilmu Gizi*. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta
- Suryanti, 2017. Perbedaan Kadar Kolesterol Serum Segera dengan Tunda 2 Jam dan 3 Jam. *Skripsi*. Universitas Muhammadiyah. Semarang
- Tuntun M, WS. 2018. *Bahan Ajar Teknologi Laboratorium Medik (TLM) : Kendali Mutu*. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta
- Widmann, F.K. 2005. *Tinjauan Klinis atas Hasil Pemeriksaan Laboratorium. Edisi 9*. EGC. Jakarta
- Wulansari, D. 2017. Perbedaan Suhu dan Waktu Inkubasi Pada Pemeriksaan Glukosa. *Skripsi*. Universitas Muhammadiyah. Semarang
- Yani, M. 2015. Mengendalikan Kadar Kolesterol pada Hiperkolesterolemia. *Jurnal*. Olahraga Prestasi. 11(2)
- Yoeantafara, A. 2017. Pengaruh Pola Makan Terhadap Kadar Kolesterol Total. *Jurnal MKMI*. 13(4)
- Zulfikar, A. 2017. Perbandingan Kadar Kolesterol Pada Sampel Langsung dan Tunda 5 Jam dengan Metode CHOD-PAP. *Skripsi*. Universitas Muhammadiyah. Semarang

*Lampiran 1. Data Hasil Penelitian Perbedaan Kadar Kolesterol Berdasarkan Waktu Inkubasi*

No. Sampel	Kadar kolesterol (mg/dL)		
	inkubasi 10 menit	inkubasi 15 menit	inkubasi 20 menit
1	153	151	149
2	246	243	240
3	161	159	156
4	173	171	169
5	254	251	247
6	192	189	186
7	154	152	150
8	185	182	179
9	193	190	187

*Lampiran 2. Hasil Penghitungan Statistik*

*Deskripsi*

		Statistics		
		Kadar kolesterol inkubasi 10 menit	Kadar kolesterol inkubasi 15 menit	Kadar kolesterol inkubasi 20 menit
N	Valid	9	9	9
	Missing	18	18	18
Mean		190.1111	187.5556	184.7778
Median		185.0000	182.0000	179.0000
Std. Deviation		37.19020	36.79032	36.27595
Minimum		153.00	151.00	149.00
Maximum		254.00	251.00	247.00

Frequency Table

		Kadar kolesterol inkubasi 10 menit			
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	153.00	1	3.7	11.1	11.1
	154.00	1	3.7	11.1	22.2
	161.00	1	3.7	11.1	33.3
	173.00	1	3.7	11.1	44.4
	185.00	1	3.7	11.1	55.6
	192.00	1	3.7	11.1	66.7
	193.00	1	3.7	11.1	77.8
	246.00	1	3.7	11.1	88.9
	254.00	1	3.7	11.1	100.0
	Total	9	33.3	100.0	
Missing	System	18	66.7		
Total		27	100.0		

		Kadar kolesterol inkubasi 15 menit			
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	151.00	1	3.7	11.1	11.1
	152.00	1	3.7	11.1	22.2
	159.00	1	3.7	11.1	33.3
	171.00	1	3.7	11.1	44.4
	182.00	1	3.7	11.1	55.6
	189.00	1	3.7	11.1	66.7
	190.00	1	3.7	11.1	77.8
	243.00	1	3.7	11.1	88.9
	251.00	1	3.7	11.1	100.0
	Total	9	33.3	100.0	
Missing	System	18	66.7		
Total		27	100.0		

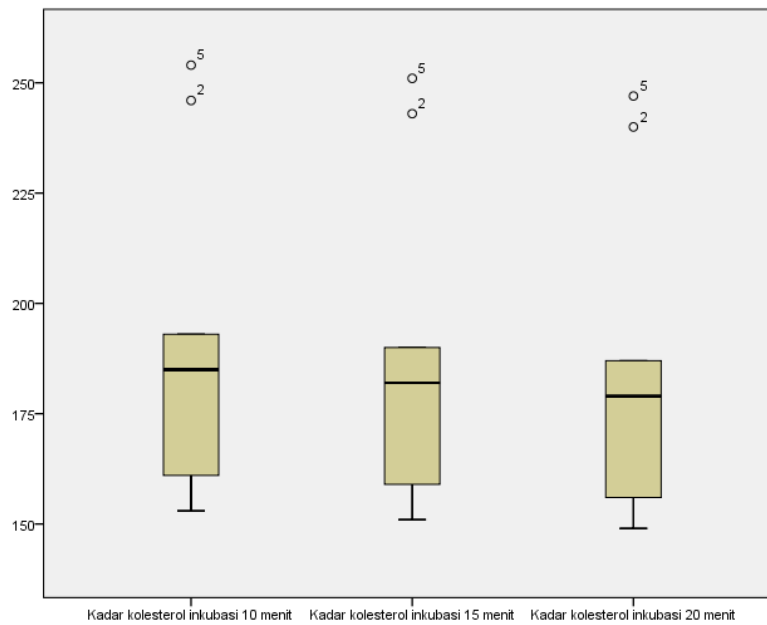
Kadar kolesterol inkubasi 20 menit					
	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent	
Valid	149.00	1	3.7	11.1	11.1
	150.00	1	3.7	11.1	22.2
	156.00	1	3.7	11.1	33.3
	169.00	1	3.7	11.1	44.4
	179.00	1	3.7	11.1	55.6
	186.00	1	3.7	11.1	66.7
	187.00	1	3.7	11.1	77.8
	240.00	1	3.7	11.1	88.9
	247.00	1	3.7	11.1	100.0
	Total	9	33.3	100.0	
Missing System	18	66.7			
Total	27	100.0			

No. Sampel	Kadar kolesterol (mg/dL)						
	inkubasi 10 menit	inkubasi 15 menit	selisih	% selisih 10 dan 15 menit	inkubasi 20 menit	selisih	% selisih 10 dan 20 menit
1	153	151	2	1.31	149	4	2.61
2	246	243	3	1.22	240	6	2.44
3	161	159	2	1.24	156	5	3.11
4	173	171	2	1.16	169	4	2.31
5	254	251	3	1.18	247	7	2.76
6	192	189	3	1.56	186	6	3.13
7	154	152	2	1.30	150	4	2.60
8	185	182	3	1.62	179	6	3.24
9	193	190	3	1.55	187	6	3.11

## Explore

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kadar kolesterol inkubasi 10 menit	.247	9	.121	.858	9	.091
Kadar kolesterol inkubasi 15 menit	.251	9	.106	.855	9	.085
Kadar kolesterol inkubasi 20 menit	.253	9	.099	.851	9	.076

a. Lilliefors Significance Correction



## Oneway

## Descriptives

Kadar kolesterol		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
10 menit	Inkubasi	9	190.1111	37.19020	12.39673	161.5242	218.6980	153.00	254.00
15 menit	Inkubasi	9	187.5556	36.79032	12.26344	159.2760	215.8351	151.00	251.00
20 menit	Inkubasi	9	184.7778	36.27595	12.09198	156.8936	212.6619	149.00	247.00
Total		27	187.4815	35.38184	6.80924	173.4849	201.4781	149.00	254.00

## Test of Homogeneity of Variances

Kadar kolesterol			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.003	2	24	.997

## ANOVA

Kadar kolesterol					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	128.074	2	64.037	.047	.954
Within Groups	32420.667	24	1350.861		
Total	32548.741	26			

## Post Hoc Tests

## Multiple Comparisons

Dependent Variable: Kadar kolesterol

## Tukey HSD

(I)	(J)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
Inkubasi	Inkubasi				Lower Bound	Upper Bound
10 menit	15 menit	2.55556	17.32603	.988	-40.7125	45.8236
	20 menit	5.33333	17.32603	.949	-37.9347	48.6014
15 menit	10 menit	-2.55556	17.32603	.988	-45.8236	40.7125
	20 menit	2.77778	17.32603	.986	-40.4903	46.0459
20 menit	10 menit	-5.33333	17.32603	.949	-48.6014	37.9347
	15 menit	-2.77778	17.32603	.986	-46.0459	40.4903

## Homogeneous Subsets

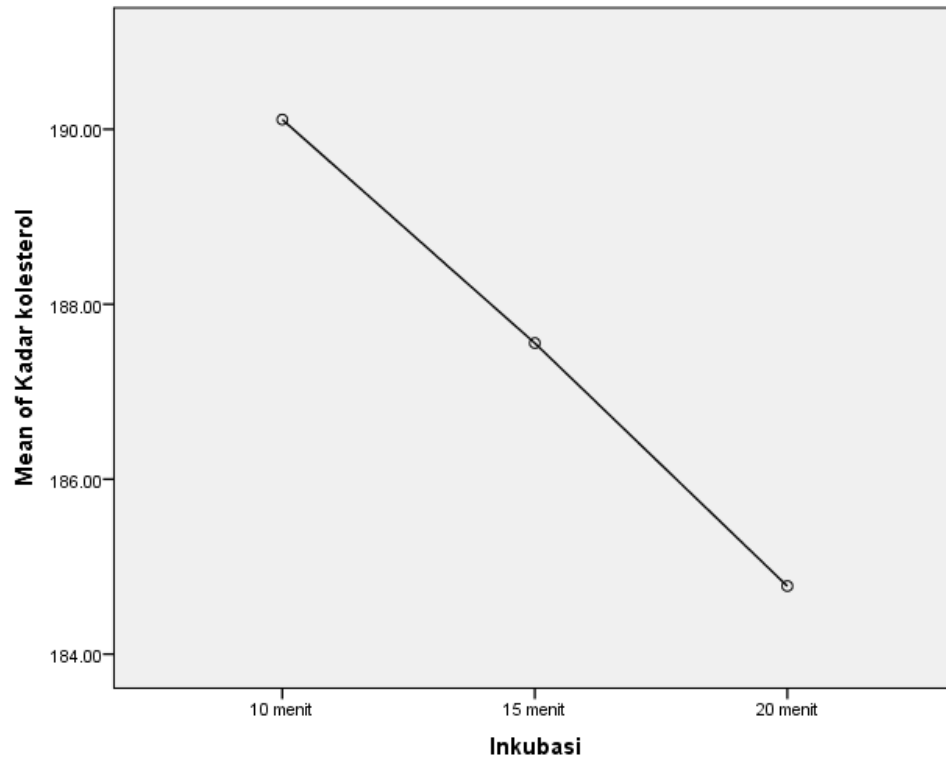
## Kadar kolesterol

Tukey HSD		
Inkubasi	N	Subset for alpha = 0.05
1		
20 menit	9	184.7778
15 menit	9	187.5556
10 menit	9	190.1111
Sig.		.949

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 9.000.

## Means Plots



## Lampiran 3. Insert kit Mindray

## TC

## Total Cholesterol Kit (CHOD-POD Method)

## Order Information

Cat. No.	Package size
TC0102	R 4x40 mL
TC0103	R 6x40 mL
TC0104	R 6x60 mL
TC0105	R 4x250 mL

## Intended use

In vitro test for the quantitative determination of TC concentration in serum and plasma on photometric systems.

Summary <sup>1,2,3</sup>

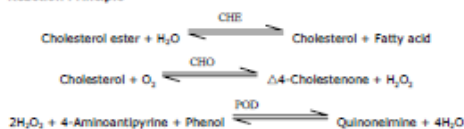
Cholesterol is a main component of cell membranes and lipoprotein and it is the precursor for steroid hormones and bile acids synthesizing. Cholesterol is transported in plasma by low-density lipoprotein.

The level of the individual's total cholesterol is used in screening early atherosclerosis and monitoring the clinical effect of drugs or low-fat diet.

## Method

Cholesterol oxidase- Peroxidase (CHOD-POD) method

## Reaction Principle



By the catalysis of CHE and CHO, Cholesterol ester is catalyzed to yield H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, which oxidates 4- Aminoantipyrine with phenol to form a colored dye of quinoneimine. The absorbency increase is directly proportional to the concentration of cholesterol.

## Reagents

## Components and concentrations

R <sub>L</sub>	Component	Concentration
	Phosphate buffer	100 mmol/L
	Phenol	5 mmol/L
	4-Aminoantipyrine	0.3 mmol/L
	Cholesterol esterase	>150 KU/L
	Cholesterol oxidase	>100 KU/L
	Peroxidase	5 KU/L

## Warnings and precautions

- For in vitro diagnostic use only.
- Take the necessary precautions for the use of laboratory reagents.
- Preservative contained. Do not swallow. Avoid contact with skin and mucous membranes.
- Disposal of all waste material should be in accordance with local guidelines.
- Material safety data sheet is available for professional user on request.

## Reagent Preparation

Single reagent is ready to use.

## Storage and stability

Up to expiration date indicated on the label, when stored unopened at 2-8°C and protected from light.

Once opened, the reagents are stable for 28 days when refrigerated on the

mindray

analyzer or refrigerator.

Contamination of the reagents must be avoided.

Do not freeze the reagents.

## Reagent blank absorbency

The absorbance of reagent blank at 510 nm should be <0.3 A.

## Materials required but not provided

- Calibrator and controls as indicated below.
- NaCl solution 9 g/L.
- General laboratory equipments.

Specimen collection and preparation <sup>4,5</sup>

- Serum, heparin or EDTA plasma is suitable for samples. Whole blood, hemolysis is not recommended for use as a sample. Freshly drawn serum is the preferred specimen.
- Use the suitable tubes or collection containers and follow the instruction of the manufacturer; avoid effect of the materials of the tubes or other collection containers.
- Centrifuge samples containing precipitate before performing the assay.
- Stability:
  - 5-7 days at 2-8°C
  - 3 months at -20°C

## Assay procedure

	Blank	Sample
R	1000 µL	1000 µL
Dist. water	10 µL	—
Sample	—	10 µL
Mix thoroughly at 37°C, and read the absorbance 10 min. later.		
ΔA = [ΔA sample] - [ΔA blank]		

Application sheets for BS series analyzers are available in this document. Refer to the appropriate operator manual for the analyzer-specific assay instructions.

## Calibration

- It is recommended to use the Human multi-calibrator from Mindray and 9 g/L NaCl for two-point calibration. Traceability of the multi-calibrator can refer to the calibrator instructions for use of Mindray Company.
- Calibration frequency:
  - After reagent lot changed.
  - As required following quality control procedures.

## Quality control

At least two levels of control material should be analyzed with each batch of samples. In addition, these controls should be run with each new calibration, with each new reagent cartridge, and after specific maintenance or troubleshooting procedures as detailed in the appropriate system manual.

We recommend using the Human Assayed Control made by Mindray to verify the performance of the measurement procedure; other suitable control material can be used in addition.

Each laboratory should establish its own internal quality control scheme and procedures for corrective action if controls do not recover within the acceptable tolerances.

## Calculation

The analyzer calculates the TC concentration of each sample automatically after calibration.

Conversion factor: mg/dL x 0.025 = mmol/L

Or: C sample = (ΔA sample/ΔA calibration) x C calibration

Reference Intervals<sup>6</sup>

## TC

Each laboratory should establish its own reference intervals based upon its patient population. The reference intervals measured at 37°C listed below were taken from literature:

Sample Type	S.I. Units
Serum / Plasma	≤5.2 mmol/l

### Performance Characteristics

Representative performance data obtained from Mindray system (Mindray BS series analyzers / Mindray TC Reagent) is given below. Results may vary if a different instrument, an individual laboratory or a manual procedure is used.

### Limitations-interference

The following substances were tested for interference with this methodology. Criterion: Recovery within ±10 % of initial value.

Substance	Level Tested	Observed Effect
Lipemia	500 mg/dL	NSI*
Hemoglobin	500 mg/dL	NSI

\* NSI: No Significant Interference (within ± 10 %)

### Linearity range

The Mindray System provides the following linearity range:

Sample Type	Conventional Units	S.I. Units
Serum / Plasma	3.85-769.23 mg/dL	0.1-20.0 mmol/L

If the value of sample exceeds 20.0 mmol/L, the sample should be diluted with 9 g/L NaCl solution (e.g. 1+ 1) and rerun; the result should be multiplied by 2.

### Analytic Sensitivity/Limit of Detection

The lowest measurable TC concentration that can be distinguished from zero is 0.1 mmol/L with 99.7% confidence.

### Precision

Precision performance using the CLSI Approved Guideline EP5-A2 to assay serum control appears in the table below<sup>6</sup>. U: mmol/L.

Type of Imprecision	Level II			Level III		
	Mean	SD	CV %	Mean	SD	CV %
Within-run	4.3	0.112	2.606	7.282	0.038	0.524
Between-run		0.014	0.324		0.016	0.219
Between-day		0.006	0.142		0.033	0.446
Within-device		0.113	2.630		0.053	0.722

### Method Comparison

A comparison between Mindray System (Mindray BS series analyzers /Mindray TC Reagent) (y) and Hitachi/Roche System (Hitachi /Roche TC) (x) using 40 samples gave following correlation (mmol/L):  $y=0.9872x+0.0721$ ,  $R^2 = 0.999$ . Details of the comparison experiments are available on request.

### References

- Rifal N, Bachorik PS, Albers JJ. Lipids, lipoproteins and apolipoproteins. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W.B Saunders Company; 1999. p. 809-61.
- Recommendation of the Second Joint Task Force of European and other Societies on Coronary Prevention of coronary heart disease in clinical practice. Eur Heart J 1998; 19: 1434-503.
- Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998.
- Pisani T, Gebiski CP, Leary ET et al. Accurate Direct Determination of Lowdensity Lipoprotein Cholesterol Using an Immunoseparation Reagent and Enzymatic Cholesterol Assay. Arch Pathol Lab Med 1995; 119:1127.
- Tietz NW, ed. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed. Philadelphia, Pa: WB Saunders Company, 1995:130-131.
- CLSI. Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement

**mindray**

Methods; Approved Guideline-Second Edition. CLSI document EP5-A2  
[ISBN 1-56238-542-9. CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087 USA, 2008.

© 2011 Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd. All rights Reserved.

SHENZHEN MINDRAY BIO-MEDICAL ELECTRONICS CO., LTD.  
Mindray Building, Keji 12th Road South, Hi-tech Industrial Park,  
Nanshan, Shenzhen, 518057 P.R. China  
Shanghai International Holding Corp. GmbH(Europe)  
Eiffelstraße 80, 20537 Hamburg Germany



*Lampiran 4. Dokumentasi Penelitian*



Gambar 6. Alat sampling darah vena



Gambar 7. Reagen kolesterol



Gambar 8. Sampling darah vena



Gambar 9. Pemeriksaan kadar kolesterol



Gambar 10. Pembacaan kadar kolesterol pada alat spektrofotometer