

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

Penelitian dengan judul “Uji Homogenitas dan Stabilitas *Pooled Plasma* EDTA Sebagai Syarat Bahan Kontrol Terhadap Kadar Trigliserida” telah dilaksanakan selama 1 bulan pada tanggal 15 Februari 2025 – 15 Maret 2025. Sampel yang digunakan adalah plasma *Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid* (EDTA) atau menggunakan tabung tutup ungu yang diambil dari mahasiswa Politeknik Kesehatan Kemenkes Yogyakarta Jurusan Teknologi Laboratorium Medis. Responden berjumlah 21 orang berjenis kelamin perempuan dan 4 orang berjenis kelamin laki-laki dengan rentang usia 19-21 tahun. Sampel dijadikan satu (*di-pooled*) dengan kriteria tidak hemolisis, tidak ikterik, tidak lipemik dan pengambilan darah menggunakan perbandingan tepat 3 ml. Pemeriksaan sampel dilakukan di Laboratorium Kimia Klinik Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Kemenkes Yogyakarta dengan kondisi suhu ruangan 25°C - 27,5°C. *Pooled* plasma EDTA disimpan di *freezer* dengan suhu $-19,1 \pm 1,18$ °C.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui homogenitas dan stabilitas *pooled* plasma EDTA sebagai syarat bahan kontrol pemeriksaan kadar trigliserida. Uji homogenitas *pooled* plasma EDTA dilakukan sebelum penyimpanan pada suhu $-19,1 \pm 1,18$ °C. Uji homogenitas ini bertujuan untuk mengetahui sampel bersifat sama sifat, karakteristik dan komposisinya. *Pooled* plasma EDTA disimpan pada suhu $-19,1 \pm 1,18$ °C

selama 1 minggu, 2 minggu, 3 minggu dan 4 minggu lalu diperiksa untuk uji stabilitas. Uji Stabilitas dilakukan untuk memastikan sampel selama penyimpanan tidak mengalami perubahan yang signifikan.

1. Analisis Deskriptif

Data yang didapat merupakan data primer dan berskala rasio, yaitu data hasil pemeriksaan kadar trigliserida dalam *pooled* plasma EDTA sebelum penyimpanan (0 minggu) dan sesudah penyimpanan selama 1 minggu, 2 minggu, 3 minggu dan 4 minggu pada suhu $-19,1 \pm 1,18$ °C. Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif menggambarkan hasil pemeriksaan kadar trigliserida pada *pooled* plasma EDTA sebelum dan sesudah penyimpanan pada suhu $-19,1 \pm 1,18$ °C menggunakan nilai tertinggi (*maximum*), nilai terendah (*minimum*), jumlah rerata (*mean*), standar deviasi (SD) dan koefisien variasi (CV) seperti yang ditunjukkan dalam tabel.

Tabel 4. Analisis Deskriptif Kadar Trigliserida *Pooled* Plasma EDTA

Kadar Trigliserida <i>Pooled</i> Plasma EDTA					
Perlakuan	0 Minggu	1 Minggu	2 Minggu	3 Minggu	4 Minggu
N	10(duplo)	3(duplo)	3(duplo)	3(duplo)	3(duplo)
Minimum	68,54	67,71	68,29	67,01	66,91
Maksimum	73,03	71,88	75,12	73,10	75,74
Rerata	70,45	70,49	71,06	71,07	72,43
Standar Deviasi	1,37	1,70	2,58	2,22	4,07
CV (%)	1,94	2,41	3,62	3,13	5,63

Sumber: Data Primer Terolah, 2025.

Tabel 4 menunjukkan bahwa kadar trigliserida *pooled* plasma EDTA yang disimpan selama 4 minggu merupakan rerata tertinggi, sedangkan yang terendah ditunjukkan pada kadar trigliserida *pooled*

plasma EDTA yang sebelum disimpan (0 minggu). Nilai Standar Deviasi (SD) dan Koefisien Variasi (CV) tertinggi juga ditunjukkan pada kadar trigliserida *pooled* plasma EDTA yang disimpan selama 4 minggu, sedangkan yang terendah yaitu yang sebelum disimpan (0 minggu).

Nilai koefisien variasi (CV) *pooled* plasma EDTA sebelum dan sesudah penyimpanan selama 1 minggu, 2 minggu, 3 minggu dan 4 minggu pada suhu $-19,1 \pm 1,18$ °C yang ditunjukkan pada tabel 4 tidak melebihi batas ketentuan yang telah ditetapkan Permenkes RI Nomor 43 Tahun 2013 yaitu sebesar 7%. Koefisien variasi (CV) ini menunjukkan presisi atau seberapa dekat suatu hasil bila dilakukan pemeriksaan berulang kali dengan sampel yang sama (Permenkes, 2013). Semakin kecil nilai CV semakin teliti dan sebaliknya, semakin besar nilainya maka semakin kurang ketelitiannya.

2. Uji Homogenitas

Data yang diperoleh adalah data primer dan berskala rasio, yaitu data hasil pemeriksaan kadar trigliserida dalam *pooled plasma* EDTA sebelum penyimpanan (0 minggu). Sampel yang diperiksa dipilih secara acak dengan cara mengocok sejumlah nomor vial dan mengeluarkan nomor sebanyak 10 sampel. Didapatkan kode nomor 2, 11, 13, 16, 25, 29, 32, 36, 47, dan 53. Sampel tersebut dilakukan diperiksa kadar trigliserida secara duplo (dua kali pemeriksaan) pada masing-masing sampel. Sehingga didapatkan 20 data dari pemeriksaan

kadar trigliserida *pooled* plasma EDTA. Hasil data tersebut kemudian diolah menggunakan perhitungan uji homogenitas menurut ISO 13528 Tahun 2015 yang ditunjukkan pada tabel berikut.

Tabel 5. Perhitungan Uji Homogenitas Kadar Trigliserida (0 Minggu)

Kode	Kadar Trigliserida(mg/dl)		Xt	Xt - Xr	(Xt-Xr) ²	Wt	Wt ²
	Siplo (Xt,1)	Duplo (Xt,2)					
2	69,66	71,91	70,79	0,34	0,1136	2,25	5,0499
11	71,91	70,79	71,35	0,90	0,8080	1,12	1,2625
13	71,91	71,91	71,91	1,46	2,1336	0,00	0,0000
16	70,79	68,54	69,66	-0,79	0,6186	2,25	5,0499
25	69,66	69,66	69,66	-0,79	0,6186	0,00	0,0000
29	70,79	69,66	70,22	-0,22	0,0505	1,12	1,2625
32	68,54	70,79	69,66	-0,79	0,6186	2,25	5,0499
36	70,79	73,03	71,91	1,46	2,1336	2,25	5,0499
47	69,66	68,54	69,10	-1,35	1,8180	1,12	1,2625
53	68,54	71,91	70,22	-0,22	0,0505	3,37	11,3622
		Σ	704,49	Σ	8,9635	Σ	35,3491
		Xr	70,45	Sx	0,997971	Sw	1,329456
				Sx ²	0,995946	Sw ²	1,767454
						Ss	0,334991

Sumber: Data Primer Terolah, 2025.

Keterangan:

Siplo : pemeriksaan pertama

Duplo : pemeriksaan kedua

Xt : rerata kadar trigliserida setiap kode dari pemeriksaan pertama dan kedua (mg/dL)

Xr : rerata kadar trigliserida (mg/dL)

Wt : Selisih kadar trigliserida yang dimutlakkan (mg/dL)

Sx : standar deviasi rata-rata sampel

Sw : standar deviasi *within samples*

Ss : standar deviasi *between samples*

Tabel 5 menunjukkan perhitungan hasil standar antar sampel (S_s) sebesar 0,334991. Menurut ISO 13528 Tahun 2015, sampel dapat dikatakan homogen jika $S_s \leq 0,3\sigma$, dimana σ merupakan standar deviasi untuk asesmen profisiensi (SDPA), σ dapat ditetapkan melalui $CV_{Horwitz}$. $CV_{Horwitz}$ dirumuskan $2^{1-0,5 \log C}$, perhitungannya dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 6. Perhitungan $CV_{Horwitz}$

Keterangan	Hasil
CV Horwitz	$2^{1-0,5 \log C}$
Fraksi Konsentrasi (C)	0,704494
$CV_{Horwitz}$	2,108272
$0,3 \sigma (0,3 \times CV_{Horwitz})$	0,632482

Sumber: Data Primer Terolah, 2025.

Fraksi konsentrasi (C) menunjukkan persen dari rerata rerata kadar trigliserida (mg/dL) *pooled* plasma EDTA yaitu 0,704494. Hasil perhitungan $CV_{Horwitz}$ (σ) ditunjukkan pada tabel yaitu 2,108272, sehingga nilai dari $0,3 \sigma$ adalah $0,3 \times 2,108272 = 0,632482$. Syarat sampel dinyatakan homogen jika $S_s \leq 0,3\sigma$. Maka *pooled* plasma EDTA dinyatakan homogen karena didapatkan hasil $S_s \leq 0,3\sigma$, yaitu $0,334991 \leq 0,632482$. Sehingga dapat dilakukan uji stabilitas.

3. Uji Stabilitas

Data yang didapat merupakan data primer dan berskala rasio, yaitu data hasil pemeriksaan kadar trigliserida dalam *pooled plasma* EDTA dan sesudah penyimpanan selama 1 minggu, 2 minggu, 3

minggu dan 4 minggu pada suhu $-19,1 \pm 1,18$ °C. Sampel yang diperiksa dipilih secara acak sebanyak 3 sampel setiap masing-masing minggu. Sampel tersebut dilakukan diperiksa kadar trigliserida secara duplo (dua kali pemeriksaan) pada masing-masing sampel. Sehingga didapatkan 6 data dari pemeriksaan kadar trigliserida *pooled* plasma EDTA pada masing-masing minggu. Hasil data tersebut kemudian diolah menggunakan perhitungan uji stabilitas menurut ISO 13528 Tahun 2015. Sampel dikatakan stabil apabila $|X_r - Y_r| \leq 0,3\sigma$.

a. Stabilitas *pooled* plasma EDTA yang disimpan 1 minggu

Sampel *pooled* plasma EDTA yang disimpan selama 1 minggu dipilih secara acak sebanyak 3 lalu diperiksa kadar trigliserida secara duplo. Hasil pengolahan data uji stabilitas *pooled* plasma EDTA yang disimpan 1 minggu ditunjukkan pada tabel berikut.

Tabel 7. Kadar Trigliserida *Pooled* Plasma EDTA yang Disimpan Selama 1 Minggu.

Kode	Kadar Trigliserida (mg/dL)		Rerata
	Siplo	Duplo	
17	69,79	71,88	70,83
19	69,79	67,71	68,75
20	71,88	71,88	71,88
	Yr (Rerata)		70,49

Sumber: Data Primer Terolah, 2025.

Sampel yang dipilih dalam pemeriksaan ini yaitu nomor 17, 19 dan 20. Pada tabel menunjukkan rerata (Yr) kadar trigliserida *pooled* plasma EDTA yang disimpan selama 1 minggu yaitu 70,49. Syarat sampel stabil apabila $|X_r - Y_r| \leq 0,3\sigma$ sesuai yang tertulis

di ISO 13528 Tahun 2015. Hasil dari $|70,45-70,49| = 0,04$, sehingga *pooled* plasma EDTA yang disimpan selama 1 minggu pada suhu $-19,1 \pm 1,18$ °C dapat dikatakan stabil karena hasilnya memenuhi syarat, yaitu $0,04 \leq 0,632482$.

b. Stabilitas *pooled* plasma EDTA yang disimpan 2 minggu.

Sampel yang digunakan untuk pemeriksaan kadar trigliserida dipilih secara acak sebanyak 3. Pemilihan sampel didapatkan nomor 8, 26 dan 30. Sampel tersebut diperiksa secara duplo. Tabel menunjukkan hasil pemeriksaan kadar trigliserida *pooled* plasma EDTA yang disimpan 2 minggu pada suhu $-19,1 \pm 1,18$ °C.

Tabel 8. Kadar Trigliserida Pooled Plasma EDTA yang Disimpan Selama 2 Minggu

Kode	Kadar Trigliserida (mg/dL)		Rerata
	Siplo	Duplo	
8	68,29	68,29	68,29
26	71,22	72,20	71,71
30	71,22	75,12	73,17
	Yr (Rerata)		71,06

Sumber: Data Primer Terolah, 2025.

Hasil rerata (Yr) ditunjukkan pada tabel 8, yaitu 71,06. Menurut ISO 13528 Tahun 2015, sampel dinyatakan stabil apabila $|X_r - Y_r| \leq 0,3\sigma$. Hasil perhitungan stabilitas pemeriksaan kadar trigliserida *pooled* plasma EDTA yang disimpan 2 minggu yaitu, $|70,45-71,06| \leq 0,3\sigma$, $0,61 \leq 0,632482$. Sehingga *pooled* plasma

EDTA dinyatakan stabil pada penyimpanan 2 minggu pada suhu $-19,1 \pm 1,18$ °C.

c. Stabilitas *pooled* plasma EDTA yang disimpan 3 minggu

Sampel yang digunakan untuk pemeriksaan kadar trigliserida dipilih secara acak sebanyak 3 vial. Pemilihan sampel didapatkan nomor 5, 28 dan 58. Sampel tersebut diperiksa secara duplo kemudian data diolah menggunakan perhitungan uji stabilitas ISO 13528 Tahun 2015 . Tabel 13 menunjukkan hasil pemeriksaan kadar trigliserida *pooled* plasma EDTA yang disimpan 3 minggu pada suhu $-19,1 \pm 1,18$ °C.

Tabel 9. Kadar Trigliserida *Pooled* Plasma EDTA yang Disimpan Selama 3 Minggu.

Kode	Kadar Trigliserida (mg/dL)		Rerata
	Siplo	Duplo	
5	73,10	73,10	73,10
28	71,07	71,07	71,07
58	71,07	67,01	69,04
	Yr (Rerata)		71,07

Sumber: Data Primer Terolah, 2025.

Tabel 9 menunjukkan rerata (Yr) kadar trigliserida *pooled* plasma EDTA yang disimpan selama 3 minggu yaitu 71,07. Syarat sampel stabil apabila $|Xr - Yr| \leq 0,3\sigma$ menurut ISO 13528 Tahun 2015. Hasil dari $|70,45 - 71,07| = 0,62$, sehingga *pooled* plasma EDTA yang disimpan selama 3 minggu pada suhu $-19,1 \pm 1,18$ °C dapat dinyatakan stabil karena hasilnya memenuhi syarat, yaitu $0,62 \leq 0,632482$.

d. Stabilitas *pooled* plasma EDTA yang disimpan 4 minggu

Sisa sampel *pooled* plasma EDTA yang belum digunakan dipilih secara acak sebanyak 3 lalu diperiksa kadar trigliserida secara duplo. Pemilihan sampel didapatkan nomor 38, 44 dan 50. Hasil perhitungan kadar trigliserida *pooled* plasma EDTA yang disimpan selama 4 minggu pada suhu $-19,1 \pm 1,18$ °C ditunjukkan pada tabel berikut.

Tabel 10. Kadar Trigliserida *Pooled* Plasma EDTA yang Disimpan Selama 4 Minggu.

Kode	Kadar Trigliserida (mg/dL)		Rerata
	Siplo	Duplo	
38	73,53	75,74	74,63
44	75,00	75,74	75,37
50	66,91	67,65	67,28
	Yr (Rerata)		72,43

Sumber: Data Primer Terolah, 2025.

Hasil rerata (Yr) ditunjukkan pada tabel, yaitu 72,43. Menurut ISO 13528 Tahun 2015, sampel dinyatakan stabil apabila $|X_r - Y_r| \leq 0,3\sigma$. Hasil perhitungan stabilitas pemeriksaan kadar trigliserida *pooled* plasma EDTA yang disimpan 4 minggu yaitu, $|70,45-72,43| \leq 0,3\sigma$, maka $1,98 \geq 0,632482$. Sehingga *pooled* plasma EDTA dinyatakan tidak stabil pada penyimpanan 4 minggu pada suhu $-19,1 \pm 1,18$ °C.

B. Pembahasan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, didapatkan hasil bahwa sampel *pooled* plasma dinyatakan homogen karena memenuhi syarat $S_s \leq 0,3$ ($0,334991 \leq 0,632482$) dan stabil selama 3 minggu penyimpanan pada suhu $-19,1 \pm 1,18$ °C. Hal tersebut dapat dipengaruhi karena terjadinya kontaminasi bahan kimia atau kuman, terjadi metabolisme oleh sel-sel hidup, penguapan, suhu penyimpanan dan paparan sinar matahari. Lama penyimpanan dapat mempengaruhi perubahan konsentrasi lipoprotein dan perubahan dalam mobilitas elektroforesis lipoprotein (Asrori dkk. 2023).

Penyimpanan *pooled* plasma EDTA pada minggu ke-4 mengalami ketidakstabilan karena tidak memenuhi syarat ISO 12538:2015 ($1,98 \geq 0,632482$). Hal tersebut terjadi karena mengalami kenaikan rerata kadar trigliserida yang melebihi batas toleransi $0,3\sigma$. Kadar Trigliserida mengalami peningkatan disebabkan karena adanya gangguan aktivitas enzim lipoprotein lipase (LPL) (Handayani dkk., 2003). Penundaan pemeriksaan trigliserida dapat mengaktifkan enzim lipoprotein lipase (LPL) yang berperan memecah trigliserida menjadi asam lemak dan gliserol sehingga kadar trigliserida dapat mengalami kenaikan (Wulandari dkk., 2023).

Pada suhu rendah, interaksi antara enzim dan substrat berlangsung dengan intensitas yang masih rendah, sehingga hanya sedikit kompleks enzim-substrat yang terbentuk dan produk yang dihasilkan. Pada suhu optimum, tumbukan antara enzim dan substrat menjadi lebih efektif,

sehingga pembentukan kompleks enzim-substrat lebih mudah dan jumlah produk yang dihasilkan bertambah. Jika suhu terus naik melebihi suhu optimum, enzim mengalami denaturasi sehingga aktivitas enzim menurun. Denaturasi ini menyebabkan perubahan struktur tiga dimensi enzim, yang membuat substrat sulit berikatan dengan sisi aktif enzim, sehingga aktivitas enzim menjadi kurang (Sadikin, 2002).

Penelitian dari Nguyen dan Nguyen (2024), Yang berjudul "*Evaluation of Triglycerides, Total Cholesterol and High Density Lipoprotein-Cholesterol Stability in Human Whole Blood and Plasma Samples*" mengatakan bahwa *whole blood* yang diberi antikoagulan EDTA yang disimpan selama 2 hari pada suhu 2-8°C dapat digunakan untuk pemeriksaan kolesterol total, HDL-Cholesterol dan trigliserida. Pada penelitian Naqiyah dkk. (2024), yang berjudul "*Stabilitas Waktu Penyimpanan Serum, Plasma K₃EDTA dan Plasma Heparin pada Suhu Ruang Terhadap Pemeriksaan Trigliserida*" menjelaskan bahwa spesimen serum dan plasma heparin kadar trigliserida stabil selama 1 hari, sedangkan pada sampel plasma K₃EDTA stabil selama 2 hari. Sedangkan penelitian peneliti disimpulkan bahwa *pooled* plasma EDTA stabil selama 3 minggu penyimpanan pada suhu $-19,1 \pm 1,18$ °C. Sehingga suhu mempengaruhi stabilitas sampel (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2013).

Menurut Naqiyah dkk. (2024), plasma K₃EDTA mempunyai stabilitas penyimpanan yang lebih lama, K₃EDTA dapat mengurangi risiko perubahan kimia yang bisa mempengaruhi stabilitas trigliserida selama

penyimpanan karena antikoagulan K₃EDTA dapat menjaga plasma tetap stabil dengan kondisi alami darah. Penggunaan antikoagulan K₃EDTA juga banyak digunakan daripada antikoagulan lainnya seperti plasma lithium-heparin, sehingga bahan mudah didapat (Nguyen dan Nguyen, 2024).

Terdapat dua tahap dalam pelaksanaan kontrol kualitas di laboratorium kimia klinik, yaitu tahap pertama berupa periode pendahuluan yang memerlukan waktu selama 5 minggu dan tahap kedua berupa periode kontrol yang memerlukan waktu 5 minggu juga. Sehingga bahan kontrol yang dapat digunakan dalam kontrol kualitas idealnya memiliki stabilitas 10 minggu (Mulyono, 2002). Jika dibandingkan dengan hasil penelitian yang menunjukkan kestabilan selama 3 minggu pada penyimpanan suhu $-19,1 \pm 1,18$ °C, yang mana *pooled* plasma EDTA dapat digunakan dengan masa simpan yang relatif singkat. Dengan demikian stabilitasnya belum memenuhi sebagai bahan kontrol kualitas penuh di laboratorium kimia klinik terhadap parameter trigliserida.

Kendala dalam penelitian ini adalah kestabilan suhu *freezer* yang digunakan untuk menyimpan *pooled* plasma EDTA. Hal tersebut dikarenakan ada perlakuan membuka dan menutup *freezer* serta isi *freezer* terlalu penuh sehingga menyebabkan suhu *freezer* tidak stabil (Muslim dkk. 2021). Serta suhu ruang yang tidak stabil atau tidak selalu pada suhu 16-25°C saat melakukan pemeriksaan.