

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

Penelitian dengan judul “Perbedaan Variasi Inkubasi Terhadap Kadar Kolestrol Sampel Serum Selama 10 Menit dan 90 Menit pada Suhu Ruang Menggunakan Spektrofotometer” telah dilaksanakan pada tanggal 30 Januari Tahun 2026 di Laboratorium Kimia Klinik Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Yogyakarta setelah mendapatkan persetujuan dari komisi etik Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Yogyakarta dengan nomor No.DP.04.03/e-KEPK.1/1341/2025. Sampel diperoleh dari mahasiswa semester empat Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Yogyakarta.

Sampel dari responden yang digunakan adalah sampel yang memenuhi kriteria inklusi yaitu responden melakukan puasa selama 10-12 jam. Responden dalam kondisi sehat atau tidak dalam keadaan memiliki riwayat penyakit yang akan mengganggu kadar kolesterol seperti penyakit jantung, hipertensi (tekanan darah tinggi) dan stroke. Responden tidak mengonsumsi obat-obatan seperti *kortikosteroid*, *diuretik*, *beta bloker*, *ezetimibe* dan suplemen minyak ikan sebelum dilakukan pengambilan sampel. Kriteria eksklusi dari penelitian ini yaitu serum hemolisis, lipemik dan ikterik.

Responden dilakukan pengambilan darah vena menggunakan tabung *serum separator tube* (SST), kemudian sampel yang diperoleh dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 3500 RPM selama 10 menit. Sampel serum

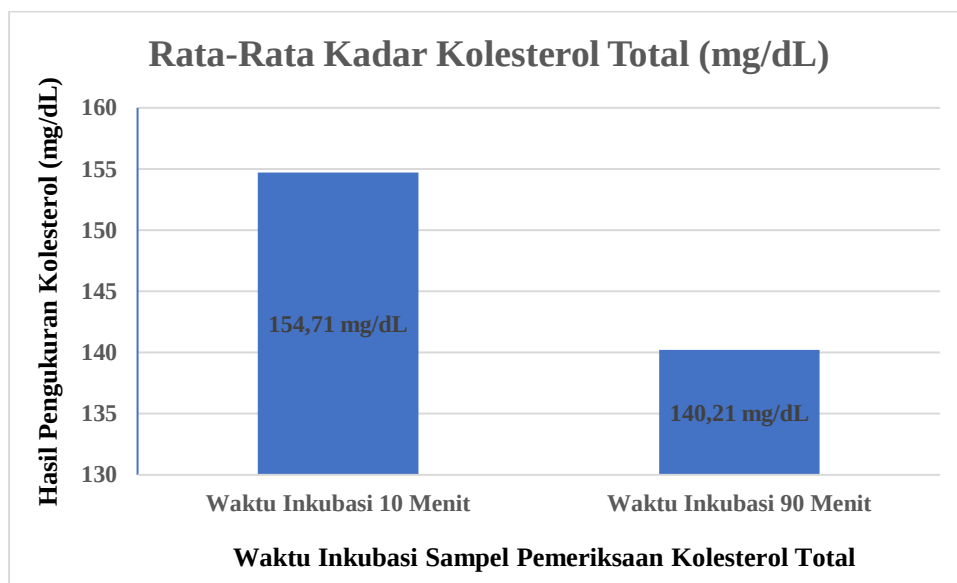
dilakukan pemeriksaan dengan mencampurkan 10 µl sampel dan 1000 µl reagen kolesterol kemudian dilakukan inkubasi selama 10 menit dan 90 menit. Data yang diperoleh dilakukan analisis secara deskriptif dan analisis secara statistik. Hasil analisis data secara deskriptif yaitu data hasil pemeriksaan kadar kolesterol berdasarkan inkubasi pada menit ke 10 yang kemudian diperpanjang 90 menit. Hasil analisis data secara statistik dilakukan menggunakan program SPSS 24.0 *for windows*

Tabel 4.1 Analisis *Descriptive* Hasil Pemeriksaan Kadar Kolesterol Total pada Waktu Inkubasi 10 Menit dan 90 Menit

Data	Hasil pemeriksaan kolesterol dengan inkubasi selama 10 menit	Hasil pemeriksaan kolesterol dengan inkubasi selama 90 menit
Jumlah sampel	42	42
Minimum	89 mg/dL	82 mg/dL
Maksimum	236 mg/dL	317 mg/dL
Rata-rata	154,71 mg/dL	140,21 mg/dL
Selisih rata-rata	14,5 mg/dL	

Sumber: Data Primer Terolah, 2026.

Nilai minimum kadar kolesterol pada waktu inkubasi 10 menit yaitu 89 mg/dL dan nilai maksimum yaitu 236 mg/dL. Kadar kolesterol yang diinkubasi selama 90 menit memiliki nilai minimum yaitu 82 mg/dL dan nilai maksimum 140,21 mg/dL.



Gambar 4.1 Hasil Uji Deskriptif

Berdasarkan pemeriksaan yang sudah dilakukan, diketahui bahwa rata-rata kadar kolesterol pada waktu inkubasi 10 menit adalah 154,71 mg/dL dan rata-rata kadar kolesterol dengan inkubasi 90 menit adalah 140,21 mg/dL. Selisih penurunan yaitu 14,5 mg/dL (9,37%). Hasil analisis data secara deskriptif menunjukkan kadar kolesterol yang semakin menurun pada pembacaan absorbansi dengan waktu inkubasi yang semakin lama. Besarnya perbedaan hasil pembacaan absorbansi dengan variasi waktu terhadap kadar kolesterol dapat diketahui dari perhitungan secara kuantitatif menggunakan analisis statistik.

Data yang diperoleh merupakan data primer dan berskala rasio, sehingga dilakukan analisis kuantitatif menggunakan uji statistik normalitas data dan dilanjutkan dengan uji non parametrik (uji *wilcoxon*). Langkah awal yaitu menguji normalitas data:

a. Hasil Uji Normalitas Data

Uji normalitas data digunakan untuk mengetahui distribusi data normal atau tidak. Data berdistribusi normal apabila nilai sig pada *Shapiro-Wilk* $> 0,05$ maka dilanjutkan dengan uji *paired sample T test*, jika data pada *Shapiro-Wilk* $< 0,05$ maka data tersebut tidak berdistribusi normal dan dilanjutkan dengan uji Non Parametrik yaitu uji *wilcoxon*. Uji normalitas data menggunakan *Shapiro-Wilk Test* pada SPSS 24.0 for windows disajikan pada tabel berikut:

Tabel 4.2 *Test Of Normality*

Pemeriksaan Kolesterol	<i>Shapiro-Wilk</i>
Hasil pemeriksaan kolesterol dengan inkubasi selama 10 menit	0,058
Hasil pemeriksaan kolesterol dengan inkubasi selama 90 menit	0,000

Sumber: Data Primer Terolah, 2026.

Uji normalitas data pada pemeriksaan kolesterol dengan inkubasi selama 10 menit menunjukkan nilai sig pada *Shapiro-Wilk* yaitu $0,058 > 0,05$ yang menandakan data ini berdistribusi normal. Nilai sig pemeriksaan kolesterol dengan inkubasi selama 90 menit yaitu $0,000 < 0,05$ yang berarti data ini tidak berdistribusi normal. Uji statistik dilanjutkan dengan uji non parametrik yaitu uji *wilcoxon*.

b. Hasil uji *wilcoxon*

Uji statistik non parametrik (*wilcoxon*) dilakukan ketika data pada sampel berpasangan (sampel dengan pengukuran berulang pada subjek yang sama) diperoleh data tidak berdistribusi normal. Uji *wilcoxon signed-rank test* di khususkan untuk memanfaatkan informasi yang ada dalam perbedaan

antara setiap data berpasangan, lalu melihat apakah data inkubasi selama 10 menit berbeda dengan data inkubasi selama 90 menit.

Tabel 4.3 *Test Statistics* (Uji Wilcoxon)

Hasil pemeriksaan kadar kolesterol dengan inkubasi selama 10 dan 90 menit	
<i>Asymp. Sig. (2-tailed)</i>	0,000

Sumber: Data Primer Terolah, 2026.

Uji *wilcoxon* menunjukkan nilai *Asymp. Sig. (2-tailed)* yaitu 0,000 menandakan bahwa nilai H_0 ditolak *Asymp sig* $0,000 < 0,05$. Maka dapat disimpulkan bahwa H_a diterima artinya ada perbedaan yang signifikan hasil pemeriksaan kadar kolesterol pada inkubasi selama 10 menit dan 90 menit.

Tabel 4.3 Nilai Persen Bias Relatif

<i>Mean difference</i>	<i>95% Confidece interval (CI)</i>		Selisih CI 95%	<i>Mean difference (%)</i>	<i>95% Confidece interval (CI) (%)</i>	
14,5	Lower 16,08	Upper 12,93	3,15	9,37%	Lower 10,4%	Upper 8,35%

Sumber: Data Primer Terolah, 2026.

Nilai persen bias relatif atau total error (TEa) dari *mean difference* diperoleh dengan perhitungan sesuai dengan *Clinical Laboratory Improvement Amendment* (CLIA) sebagai berikut:

$$\text{Tea (\%)} = \frac{\text{Selisih}}{\text{Nilai Rerata Awal}} \times 100$$

$$\text{Tea (\%)} = \frac{14,5}{154,71} \times 100$$

$$\text{Tea (\%)} = 9,37\%$$

Hasil persen bias relatif atau total error (TEa) adalah 9,37%. Berdasarkan standar *Clinical Laboratory Improvement Amendment* (CLIA) hasil pemeriksaan yang telah dilakukan masih dibawah $\pm 10\%$ ini mendakan bahwa

pemeriksaan yang telah dilakukan masih dalam batas kesalahan yang dapat diterima (*Clinical Laboratory Improvement Amendment*, 2025).

B. Pembahasan

Hasil analisis deskriptif menunjukkan adanya penurunan hasil pemeriksaan rata-rata kadar kolesterol yaitu dari 154,71 mg/dL pada inkubasi 10 menit menjadi 140,21 mg/dL pada inkubasi 90 menit. Penurunan ini sebesar 14,5 mg/dL (9,37%), namun hasil pemeriksaan kadar kolesterol ini masih berada dalam rentang nilai normal kadar kolesterol total yaitu < 200 mg/dL. Hal ini mengindikasikan bahwa secara klinis perubahan yang terjadi belum memberikan implikasi signifikan terhadap status kesehatan individu yang diperiksa, karena kadar kolesterol total masih berada dalam batas nilai normal pemeriksaan kolesterol. Penurunan rata-rata hasil pemeriksaan ini tetap menunjukkan bahwa variasi waktu inkubasi menandakan bahwa durasi inkubasi berpengaruh terhadap hasil pengukuran, sehingga aspek prosedural dalam pemeriksaan laboratorium tetap perlu diperhatikan. Konsistensi waktu inkubasi sangat krusial untuk menjaga akurasi dan daya banding hasil, khususnya dalam penelitian atau monitoring berkelanjutan. Hasil klinis pemeriksaan masih dalam rentang nilai normal namun secara metodologis temuan ini tetap relevan dan perlu dipertimbangkan dalam interpretasi hasil pemeriksaan.

Hasil analisis statistik uji *wilcoxon* menunjukkan nilai *Asymp sig* 0,000 sehingga dinyatakan bahwa adanya perbedaan yang signifikan terhadap hasil pemeriksaan kadar kolesterol total pada waktu inkubasi 10 menit dan

inkubasi 90 menit. Hal ini menunjukkan bahwa berdasarkan analisis statistik lama inkubasi berpengaruh terhadap hasil pemeriksaan kadar kolesterol.

Analisis statistik mengindikasikan adanya perbedaan yang signifikan secara statistik antara hasil pengukuran yang diperoleh, pada evaluasi lebih lanjut melalui perhitungan Total Error (TE) yang bernilai sebesar 9,37% menunjukkan bahwa magnitudo deviasi tersebut masih berada di bawah ambang batas maksimum TEa yang ditetapkan sebesar $\pm 10\%$ berdasarkan standar *Clinical Laboratory Improvement Amendment* (CLIA). Berdasarkan perspektif analitik, perbedaan yang diamati dapat dikategorikan sebagai variasi yang masih dapat diterima dan tidak mengganggu validitas keseluruhan hasil. Uji statistik mendeteksi adanya perbedaan yang signifikan, namun hasil pemeriksaan laboratorium tersebut tetap berada dalam rentang kesalahan pengukuran yang ditoleransi secara metodologis. Waktu inkubasi 90 menit pada penelitian ini masih dalam batas maksimum TEa sebesar $\pm 10\%$, namun apabila waktu inkubasi dilakukan lebih lama lagi maka nilai TEa akan melebihi batas maksimum yang ditetapkan oleh *Clinical Laboratory Improvement Amendment* (Clia, 2025). Waktu inkubasi yang semakin lama akan menghasilkan pemeriksaan yang tidak stabil, hal ini disebabkan terjadinya aktivitas enzimatik pada sampel.

Aktivitas enzimatik yang ada dalam sampel pemeriksaan akan bereaksi secara masimal pada waktu tertentu, umumnya pada waktu 10 menit sampai 60 menit (Huang, 2021). Enzim yang berperan dalam proses pengukuran kadar kolesterol total yaitu kolesterol oksidase. Enzim oksidase berfungsi mengubah kolesterol menjadi *cholesterol-3-on* dan menghasilkan hidrogen

peroksida sebagai produk sampingan. Enzim peroksidase juga berperan mengubah hidrogen peroksida bersama dengan zat pewarna fenol dan 4-*aminofenazon* menjadi senyawa berwarna baru. Enzim kolesterol esterase (CE) bertugas memecah kolesterol ester menjadi kolesterol bebas dan asam lemak sebelum proses pengukuran dilakukan. Aktivitas dari enzim-enzim tersebut sangat peka terhadap waktu inkubasi maupun kondisi lingkungan didalam proses pemeriksaan. Waktu inkubasi terlalu lama atau tidak sesuai standar operasional prosedur yang telah ditetapkan maka enzim peroksidase berpotensi mengalami denaturasi atau inaktivasi, yang pada akhirnya menurunkan efektivitas reaksi enzimatik dan menyebabkan penguatan sinyal yang dihasilkan menjadi lebih lemah (Hanifah, dkk, 2024). Dampaknya, hasil pengukuran kadar kolesterol menjadi lebih rendah dari nilai sebenarnya.

Temuan ini sejalan dengan penelitian oleh Salmanda Endrique putri, dkk (2024) dengan judul penelitian “Stabilitas Reaksi Enzimatik Kadar Trigliserida Metode GPO-PAP Dengan Variasi Waktu Inkubasi”, hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan hasil pemeriksaan kadar trigliserida yang diinkubasi selama 10, 60, 75, 90 dan 105 menit. Rata-rata kadar trigliserida yang diinkubasi selama 10, 60, 75, 90 dan 105 menit secara berturut adalah 80,0 mg/dL, 79,00 mg/dL, 76,36 mg/dL, 73,65 mg/dL dan 67,94 mg/dL. Hasil pemeriksaan menunjukkan terjadinya penurunan nilai rata-rata kadar trigliserida. Perbedaan hasil pemeriksaan dan terjadinya penurunan dapat terjadi karena ketidakstabilan senyawa yang terbentuk (*quinoneimine*) mengakibatkan warna larutan berkurang (*fading*) yang disebabkan oleh oksidasi udara, pengaruh

keasaman, suhu, jenis pelarut dan penguraian secara fotokimia, sehingga dapat menimbulkan kadar trigliserida menjadi rendah palsu.

Penelitian lain yang dilakukan oleh Dera Suci Elmaria, dkk (2023) dengan judul “Pengaruh Waktu Inkubasi Campuran Sampel dan Reagen Kerja Terhadap Kadar Bilirubin Total metode Jendrassik-Grof”. Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan terhadap kadar bilirubin total selama 0, 5, 10, 15, 20, 25 dan 35 menit, dengan nilai rata-rata hasil pemeriksaan secara berturut yaitu 0,0333 mg/dL, 0,0333 mg/dL, 0,0333 mg/dL, 0,0333 mg/dL, 0,0333 mg/dL, 0,0333 mg/dL, 0,0882 mg/dL. Waktu inkubasi sangatlah berpengaruh terhadap hasil uji pada laboratorium klinik, oleh karena itu pemeriksaan di laboratorium klinik yang dilakukan harus sesuai standar operasional prosedur (SOP).

Rata-rata hasil penelitian ini menunjukkan adanya penurunan kadar kolesterol pada inkubasi 10 menit dan 90 menit. Hasil penelitian juga menunjukkan terdapat sembilan sampel yang mengalami peningkatan hasil pemeriksaan kadar kolesterol total pada inkubasi 90 menit dari inkubasi 10 menit. Peningkatan hasil pemeriksaan menunjukkan ketidak stabilan hasil pengukuran kadar kolesterol, hal ini disebabkan oleh faktor stabilitas sampel atau reaksi kimia yang terjadi selama proses inkubasi yang telah dilakukan selama 90 menit tersebut (Darussalam dan Nofiyanto, 2021).

Oksidasi lipid atau lipoprotein dalam serum juga menjadi faktor yang mempengaruhi peningkatan hasil pemeriksaan kadar kolesterol. Oksidasi ini disebabkan oleh dislipidemia atau paparan oksigen selama penyimpanan, baik

dalam suhu ruang maupun dalam pendingin (2-8°C). Reaksi oksidasi tersebut menghasilkan radikal bebas yang dapat merusak sehingga mempengaruhi konsentrasi yang terukur (Darussalam dan Nofiyanto, 2021).

Penyimpanan serum yang optimal, pengendalian suhu yang stabil serta pencegahan paparan oksigen yang berlebihan menjadi hal yang sangat penting untuk diperhatikan. Waktu inkubasi juga harus konsisten dengan standar operasional prosedur (SOP) yaitu 10 menit, guna menjaga akurasi dan presisi hasil analisis kolesterol di laboratorium klinik.

Penelitian ini menunjukkan hasil pemeriksaan kadar kolesterol dengan waktu inkubasi 10 menit atau sesuai dengan standar operasional prosedur (SOP) lebih efektif karena reaksi pada enzim-enzim yang ada dalam reagen sudah mencapai reaksi maksimal dan stabil, hal ini dibuktikan dengan hasil pengukuran kadar kolesterol dari responden penelitian yang telah dilakukan. Inkubasi 90 menit justru meningkatkan risiko ketidakakuratan akibat ketidakstabilan reaksi dan faktor eksternal seperti pengaruh waktu dan beresiko terkontaminasi oleh lingkungan. Inkubasi sampel sesuai dengan standar operasional prosedur cenderung menghasilkan pemeriksaan kadar kolesterol yang lebih stabil dan akurat dibanding pemeriksaan dengan waktu inkubasi yang tidak sesuai SOP.

Kelemahan dari penelitian ini yaitu aspek teknis pada saat proses analitik seperti terjadinya gelembung udara saat proses pemipetan sampel dan reagen sehingga menyebabkan ketidaktepatan volume sampel dan reagen saat pemipetan, hal ini dapat berpengaruh pada hasil pemeriksaan, sehingga perlu

diadakan penelitian lebih lanjut dengan memperhatikan aspek teknis pada saat proses analitik.