

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

Penelitian dengan judul “Perbedaan Kadar Bilirubin Total menggunakan *Serum Separator Tube* dengan Waktu Pendiaman Selama 5 Menit dan 30 Menit Sebelum Disentrifugasi” telah dilaksanakan pada bulan Januari sampai dengan 6 Februari 2026 di Laboratorium Kimia Klinik Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Yogyakarta. Penelitian ini telah mendapatkan izin Komite Etik Penelitian Kesehatan Poltekkes Kemenkes Yogyakarta dengan nomor DP.04.03/e-KEPK.1/086/2026. Sampel pada penelitian ini berjumlah 40 sampel darah vena berasal dari Mahasiswa Jurusan Teknologi Laboratorium Medis semester 2 yang dipilih secara acak melalui undian menggunakan metode *spin* nama calon responden dan bersedia mengisi lembar persetujuan penelitian.

Penelitian ini diawali dengan pengundian nama lalu diberikan Penjelasan Sebelum Penelitian (PSP) dan diajukan lembar persetujuan penelitian sebagai bukti bahwa keikutsertaan dalam penelitian yang dilakukan bersifat sukarela. Sebelum dilakukan pengambilan sampel darah dan pemeriksaan, terlebih dahulu dilakukan pemeriksaan serum kontrol sebanyak satu kali guna memastikan validitas alat dan reagensia yang akan digunakan dalam pemeriksaan. Hasil pemeriksaan serum kontrol menunjukkan hasil sebesar 1,53 mg/dL. Hasil pemeriksaan menggunakan serum kontrol tersebut masuk

dalam rentang nilai kontrol 1,37 – 2,34 mg/dL, sehingga dapat dipastikan bahwa alat dan reagen yang digunakan dalam keadaan baik.

Sebelum proses pengambilan darah vena, responden terlebih dahulu diminta untuk menyatakan persetujuan dengan mengisi dan menandatangani lembar persetujuan atau *inform concent* yang sudah diberikan peneliti. Lalu saat sudah mendapatkan giliran untuk pengambilan darah, responden diberikan penjelasan singkat terkait alur dan risiko setelah pengambilan darah.

Pengambilan darah vena dilakukan sebanyak satu kali menggunakan dua tabung *Serum Separator Tube* dengan volume total ± 6 ml. Tabung diberi identitas nomor urut pengambilan serta keterangan untuk pendiaman 5 menit dan pendiaman 30 menit. Kedua tabung mendapatkan perlakuan satu kali proses sentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit dan sama-sama disimpan dalam *sterofoam box* yang sudah diberi *ice gel*. Serum yang digunakan adalah serum yang memenuhi kriteria peneliti, yaitu serum yang tidak hemolisis, tidak lipemik dan tidak ikterik. Serum yang diperoleh selanjutnya segera diperiksa kadar bilirubin totalnya menggunakan metode Jendrassik-Grof.

Data pemeriksaan kadar bilirubin total menggunakan *Serum Separator Tube* dengan waktu pendiaman selama 5 menit dan 30 menit sebelum disentrifugasi merupakan data primer yang diperoleh melalui pemeriksaan yang dilakukan oleh peneliti di Laboratorium Kimia Klinik Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Yogyakarta. Analisis data dilakukan secara deskriptif dan selanjutnya dilakukan uji statistik menggunakan *software*

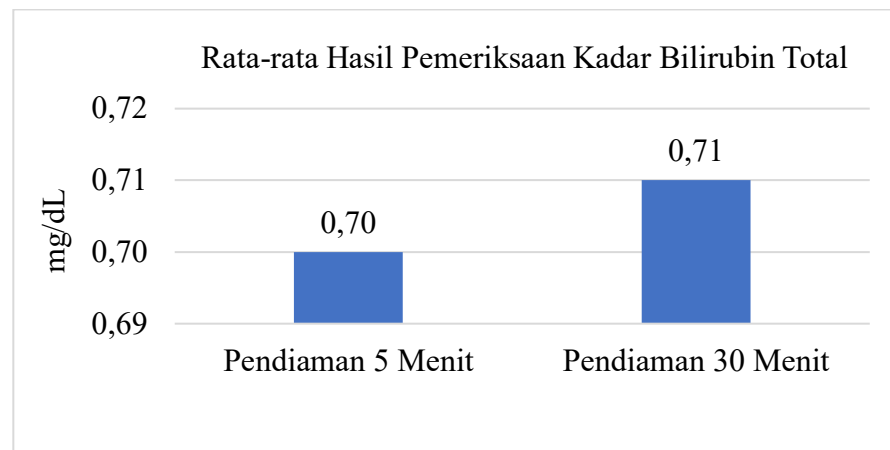
SPSS versi 16.0. Hasil lengkap pemeriksaan kadar bilirubin total untuk kedua perlakuan dapat dilihat pada lampiran 5.

1. Uji Deskriptif

Penelitian ini menggunakan *Serum Separator Tube* sebagai tabung pengumpul. Pemilihan tabung ini membuat serum yang dihasilkan lebih maksimal sehingga dapat menunjang ketepatan hasil pemeriksaan. *Gel separator* yang terdapat dalam tabung mampu memisahkan sel darah dengan serum dalam waktu yang singkat. Beberapa sampel pada tabung dengan waktu pendiaman 5 menit secara visual tampak belum beku sempurna, tetapi tetap dilakukan sentrifugasi dengan perlakuan yang sama.

Sampel yang dikumpulkan menghasilkan warna serum yang bervariasi, hal ini berkaitan dengan kondisi dari responden dan juga perlakuan dalam penelitian. Terdapat hasil pemeriksaan bilirubin total yang berada di ambang batas normal (1,2 mg/dL), pada sampel ini setelah diamati pada kedua perlakuan memang warna serum memiliki kecenderungan intensitas warna lebih pekat dari pada sampel yang lain.

Berdasarkan analisis secara deskriptif didapatkan rata-rata hasil pemeriksaan kadar bilirubin total yang dapat dilihat pada gambar berikut.



Gambar 5. Diagram Rata-rata Hasil Pemeriksaan Kadar Bilirubin Total

Gambar 5. menunjukkan rata-rata rata-rata hasil pemeriksaan kadar bilirubin total dengan pendiaman selama 5 menit sebelum disentrifugasi sebesar 0,70 mg/dL, sedangkan rata-rata hasil pemeriksaan kadar bilirubin total dengan pendiaman 30 menit sebelum disentrifugasi sebesar 0,71 mg/dL. Nilai rata-rata (*mean*), nilai tertinggi, nilai terendah, dan standar deviasi (SD) hasil pemeriksaan kadar bilirubin total menggunakan SST yang didiamkan 5 menit dan 30 menit sebelum disentrifus dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 4.1 Perbedaan Kadar Bilirubin Total

Keterangan	Mean	Nilai Tertinggi	Nilai Terendah	SD
Pendiaman 5 menit sebelum disentrifugasi (mg/dL)	0,70	1,20	0,40	0,18
Pendiaman 30 menit sebelum disentrifugasi (mg/dL)	0,71	1,20	0,40	0,20
Selisih (mg/dL)	0,10	0,00	0,00	0,02
Persentase (%)	1,50	0,00	0,00	2,14

Sumber: Data Primer, 2026

Berdasarkan Tabel 4.1, rata-rata kadar bilirubin total pada sampel dengan pendiaman 5 menit dan pendiaman 30 menit memiliki selisih sebesar 0,01 mg/dL, yang menunjukkan adanya perbedaan. Selisih ini menunjukkan jika hasil pemeriksaan kadar bilirubin total dengan waktu pendiaman selama 30 menit sebelum proses sentrifugasi memiliki nilai lebih tinggi dari pendiaman selama 5 menit sebelum proses sentrifugasi. Kenaikan kadar bilirubin total ini disebabkan oleh kondisi sampel yang belum beku sempurna tetapi sudah dilakukan proses sentrifugasi, sehingga terdapat fibrin ataupun hemolisis yang tidak terlihat secara visual.

Perbedaan ini mengindikasikan bahwa variasi waktu pendiaman dapat memberikan pengaruh terhadap hasil pemeriksaan kadar bilirubin total. Nilai tertinggi dan terendah pada kedua perlakuan sama, yaitu masing-masing 1,2 mg/dL dan 0,4 mg/dL. Standar deviasi yang relatif kecil pada kedua kelompok (0,18 dan 0,20) menunjukkan bahwa data memiliki variasi yang rendah dan cenderung homogen. Dengan demikian, perbedaan yang muncul lebih mencerminkan adanya pengaruh perlakuan dibandingkan variasi acak dalam data.

2. Uji Statistik

Selanjutnya data yang didapatkan dari hasil pemeriksaan kadar bilirubin total menggunakan *Serum Separator Tube* dengan waktu pendiaman selama 5 menit dan 30 menit sebelum disentrifugasi di uji statistik menggunakan *software* SPSS versi 16.0.

Data yang didapatkan dari hasil penelitian diuji distribusi terlebih dahulu (*test of normality*). Uji yang digunakan yaitu uji *Saphiro Wilk*.

Tabel 4.2 Hasil Uji Distribusi

Uji Distribusi (<i>test of normality</i>)	Sig.	Kesimpulan
Pendiaman 5 Menit Sebelum Disentrifugasi	0,055	Data berdistribusi normal
Pendiaman 30 Menit Sebelum Disentrifugasi	0,057	Data berdistribusi normal

Sumber: Data Primer, 2026

Berdasarkan data dalam Tabel 4.2, maka diketahui jika data yang diperoleh berdistribusi normal ($p \geq 0,05$). Sehingga dilanjutkan dengan uji t 2 sampel berpasangan atau *Paired Sample T-test*. Hipotesis uji *Paired Sample T-test*. Uji statistik tersebut menggunakan hipotesis:

H_0 : Tidak ada perbedaan kadar bilirubin total menggunakan SST yang didiamkan selama 5 menit dan 30 menit sebelum disentrifus

H_a : Ada perbedaan kadar bilirubin total menggunakan SST yang didiamkan selama 5 menit dan 30 menit sebelum disentrifus

Tabel 4.3 Hasil Uji Statistik

Uji Statistik (<i>Paired Sample T-test</i>)	Sig.	Kesimpulan
5 Menit – 30 Menit	0,225	Tidak ada perbedaan kadar bilirubin total menggunakan SST yang didiamkan selama 5 menit dan 30 menit sebelum disentrifus

Sumber: Data Primer, 2026

Berdasarkan hasil uji statistik menggunakan *Paired Sample T-test*, diperoleh nilai signifikansi (Sig.) sebesar 0,225. Nilai ini lebih besar dari batas signifikansi yang ditetapkan ($p > 0,05$), sehingga keputusan yang diambil adalah menerima H_0 dan menolak H_a . Dengan demikian, secara statistik tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kadar bilirubin total pada sampel yang didiamkan selama 5 menit dan 30 menit sebelum disentrifugasi menggunakan tabung *Serum Separator Tube* (SST).

Hasil uji statistik pemeriksaan kadar bilirubin total dihitung persentase penyimpangannya untuk menyimpulkan berkna klinis atau tidak. Berpedoman dari *Clinical Laboratory Improvement Amandements* (CLIA), *Total Error Allowable* (TEa) yang ditoleransi untuk pemeriksaan bilirubin total sebesar $\pm 20\%$ (CLIA, 2025).

Tabel 4.4 Uji Persentase Penyimpangan

Uji Statistik	Hasil	Persentase Penyimpangan
<i>Paired Sample T-test (Mean Different)</i>	-0,0150	9,1%
<i>95% CI of The Different (Lower)</i>	-0,0396	1,5%
<i>95% CI of The Different (Upper)</i>	0,0096	0,8%

Sumber: Data Primer, 2026

Persentase penyimpangan yang dihitung berdasarkan *mean difference*, *upper*, dan *lower* menunjukkan bahwa ketiga nilai tersebut masih berada dalam batas *Total Error Allowable* (TEa) untuk kadar bilirubin total yang ditetapkan oleh CLIA, yaitu $\pm 20\%$. Oleh karena itu,

sampel darah yang dengan variasi waktu pendiaman dalam rentang 5 hingga 30 menit tidak memberikan pengaruh yang bermakna terhadap kadar bilirubin total. Kondisi pra-analitik berupa perbedaan waktu pendiaman tersebut masih dapat ditoleransi tanpa menyebabkan perubahan signifikan pada hasil pemeriksaan bilirubin total.

B. Pembahasan

Pemilihan tabung SST sebagai tabung pengumpul darah memungkinkan pembentukan serum yang lebih cepat, stabil, dan minim kontaminasi oleh sel. SST bekerja dengan mempercepat pembekuan darah dan menciptakan pemisahan optimal antara fase sel dan fase cair melalui gel separator pada saat diberi gaya sentrifugal (Kang *dkk.*, 2025). Berdasarkan hasil pemeriksaan yang dilakukan beberapa sampel dengan pendiaman 5 menit belum mencapai beku sempurna, sehingga didapatkan variasi hasil kadar bilirubin total menggunakan SST dengan waktu pendiaman selama 5 menit dan 30 menit sebelum disentrifugasi. Hasil 40 sampel yang diperiksa ditemukan 11 sampel memiliki nilai bilirubin total dengan pendiaman 5 menit sebelum sentrifugasi lebih tinggi dari pada pendiaman 30 menit sebelum sentrifugasi dan 7 sampel mengalami kenaikan pada pendiaman 30 menit sebelum disentrifugasi. Variasi ini mengakibatkan selisih pada rata-rata hasil pemeriksaan sebesar 0,01 mg/dL.

Visual serum yang dihasilkan dari variasi proses pendiaman berbeda-beda intensitas warnanya. Secara deskriptif, data ini mengindikasikan bahwa waktu pendiaman sebelum proses sentrifugasi menghasilkan perbedaan kadar bilirubin total yang dimungkinkan akibat dari hemolisis semu dan fibrin yang

tidak tampak secara visual ikut terambil saat pemrosesan. Akan tetapi, pada uji *Paired Sample T-test* diperoleh nilai signifikansi sebesar 0,225 ($p > 0,05$), yang berarti tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kadar bilirubin total pada pendiaman 5 menit dan 30 menit. Hal ini menunjukkan bahwa variasi waktu pendiaman dalam rentang tersebut tidak memengaruhi hasil pemeriksaan secara bermakna.

Hasil stabil pada pemeriksaan kadar bilirubin total dalam penelitian ini secara teoritis dapat dijustifikasi melalui efektivitas manajemen pada fase pra-analitik. Sebagai tahapan yang paling krusial, fase pra-analitik sangat menentukan validitas hasil laboratorium, mengingat sebagian besar kesalahan pemeriksaan berasal dari tahap ini (Suwandi dan Djohan, 2022). Bilirubin memiliki sensitivitas yang tinggi terhadap variabel eksternal seperti paparan cahaya, fluktuasi suhu, dan durasi penundaan pemeriksaan. Namun, Fadhilah dkk. (2019) mengemukakan bahwa perubahan kadar bilirubin total cenderung minimal (kurang dari 4%) pada waktu pendiaman yang relatif singkat (≤ 30 menit), dengan catatan sampel diproses secara optimal.

Sensitivitas bilirubin terhadap cahaya (sifat fotosensitif) merupakan faktor risiko utama terjadinya penurunan kadar akibat proses foto-oksidasi (Sari, Kesuma dan Kusumawati, 2023). Oleh karena itu, dalam penelitian ini, kestabilan hasil pada penggunaan *Serum Separator Tube* (SST) dengan variasi waktu pendiaman 5 menit dan 30 menit sebelum sentrifugasi dipengaruhi oleh upaya mengurangi risiko paparan cahaya. Penggunaan *styrofoam box* dan *ice gel* terbukti efektif dalam meminimalisir paparan cahaya serta menjaga

konsistensi suhu penyimpanan. Hal ini selaras dengan studi Sofronescu, Loebs, dan Zhu (2012) yang menunjukkan bahwa dalam kondisi gelap (terlindung dari cahaya laboratorium), bilirubin total tetap stabil setidaknya selama 24 jam, baik pada suhu ruang (22°C) maupun suhu 3°C.

Temuan ini juga diperkuat oleh penelitian Hana dan Riyanto (2025), yang menyatakan bahwa pengukuran bilirubin total yang ditunda selama 30 hingga 60 menit pada suhu ruang yang terkendali (20-25°C) dan terlindung dari cahaya matahari tidak menunjukkan perbedaan signifikan secara statistik. Konsistensi hasil ini juga serupa dengan parameter kimia klinis lainnya, seperti protein total. Penelitian Fitriyani (2022), menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan signifikan pada kadar protein total antara sampel yang diperiksa segera dengan sampel yang didiamkan selama 30 menit sebelum sentrifugasi, selama stabilitas suhu terjaga. Dengan demikian, integrasi antara waktu penanganan yang efisien dan perlindungan sampel dari faktor lingkungan yang ekstrem menjadi faktor determinan dalam menjaga kualitas analit bilirubin total dalam penelitian ini.

Selain itu, faktor lain yang dapat memengaruhi hasil pemeriksaan bilirubin adalah kondisi spesimen seperti hemolisis. Hemolisis dapat menyebabkan gangguan pada hasil pemeriksaan bilirubin total karena adanya interferensi dalam proses analitik (Kesuma, Rodiyah dan Maulida, 2023). Dalam penelitian ini, tidak adanya perbedaan signifikan kemungkinan juga dipengaruhi oleh kondisi sampel yang baik secara visual (tidak hemolisis, tidak lipemik dan tidak ikterik) serta metode yang digunakan oleh peneliti.

Pemeriksaan kadar bilirubin total pada penelitian ini menggunakan metode Jendrassik-Grof yang dikenal memiliki keunggulan dibanding metode diazo lainnya karena lebih spesifik dan relatif tidak banyak dipengaruhi oleh interferensi zat lain seperti hemoglobin dan lipid (Dokliwan, Wicaksana dan Mu'awanah, 2026). Selain itu, metode ini juga memberikan stabilitas warna yang lebih baik sehingga hasil pengukuran lebih presisi dan reliabel. Oleh karena itu, metode ini banyak digunakan sebagai metode standar dalam pemeriksaan bilirubin total di laboratorium kimia klinik.

Dari sisi mutu laboratorium, hasil pemeriksaan bilirubin total pada penelitian ini mencerminkan tingkat presisi dan akurasi yang baik apabila prosedur dilakukan sesuai standar. Hal ini sejalan dengan penelitian (Rahmani, Amalia dan Novalina, 2024) yang menunjukkan bahwa pemeriksaan bilirubin total memiliki nilai presisi dan kinerja analitik yang baik berdasarkan evaluasi *quality control*. Dengan demikian, variasi kecil pada tahap pra-analitik seperti waktu pendiaman singkat tidak selalu memberikan dampak signifikan terhadap hasil pemeriksaan.

Secara keseluruhan, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa waktu pendiaman 5 menit dan 30 menit sebelum sentrifugasi menggunakan SST tidak memberikan perbedaan yang bermakna terhadap kadar bilirubin total. Hal ini menunjukkan adanya toleransi waktu dalam tahap pra-analitik, selama kondisi penanganan spesimen tetap terkontrol. Meskipun demikian, standar operasional prosedur laboratorium tetap harus dipatuhi untuk meminimalkan potensi kesalahan, terutama terkait paparan cahaya dan penundaan

pemeriksaan yang lebih lama. Variasi waktu pendiaman yang hanya berbeda 25 menit belum cukup untuk menimbulkan perubahan kadar bilirubin total yang bermakna secara klinis maupun statistik.

Keterbatasan penelitian ini terletak pada teknis penelitian yang tidak mengukur indeks HIL (hemolisis, ikterik, lipemik) akibat dari perlakuan pada metode yang digunakan. Hasil yang didapatkan dari penelitian ini bervariasi, menunjukkan adanya peningkatan maupun penurunan nilai. Meskipun demikian, penelitian ini memiliki keunggulan karena memberikan gambaran penting terkait pengaruh tahap pra-analitik dalam pemeriksaan laboratorium klinik. Hasil penelitian ini dapat menjadi acuan bagi praktisi laboratorium untuk selalu menjalankan prosedur sesuai standar operasional (SOP), khususnya dalam pengendalian waktu penanganan sampel. Dengan demikian, kualitas hasil pemeriksaan tetap terjaga dan potensi variasi akibat penundaan waktu dapat diminimalkan.