



Effect of time delay in centrifugation and centrifugation immediately on the stability of triglyceride levels in blood samples

Rosnita Sebayang¹, Silvia², Mustika Sari H Hutabarat³,

^{1,2,3}DIV Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas, Katolik Musi Charitas

ABSTRACT

Background : Triglyceride examination was carried out in three stages, namely pre-analytical, analytical, and post-analytical stages. The pre-analytical stage of specimen processing is one of the factors that can affect triglyceride levels. However, in the field are often that the processing for triglyceride test specimen examination often is not in accordance with applicable regulations.

Method : This research is a pre-experimental research design with intact Group Comparison. The research subjects used were 30 TLM students. Blood samples were collected in 2 clot activator tubes, then the first tube was immediately centrifuged and the second tube was left for 30 minutes before being centrifuged.

Results : The results showed that the average triglyceride level in the blood that immediately centrifuged was heigher than the blood that was left for 30 minutes before being centrifuged. There for, It is stated that there is a significant difference in the p value = 0.001 ($p < 0.05$).

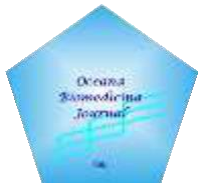
Conclusion : Based on the research, it was concluded that there was a significant difference in the examination of triglyceride levels. Between blood sample that was immediately centrifuged and the blood that was left for 30 minutes before being centrifuged.

Keywords : Centrifugation, be left / left, Triglyceride

ABSTRAK

Latar Belakang : Pemeriksaan trigliserida dilakukan dalam tiga tahap, yaitu tahap pra analitik, analitik, dan pasca analitik. Tahap pra analitik pengolahan spesimen merupakan salah satu faktor yang dapat mempengaruhi kadar trigliserida. Namun di lapangan seringkali pengolahan untuk pemeriksaan benda uji trigliserida seringkali tidak sesuai dengan ketentuan yang berlaku.

Metode : Penelitian ini merupakan penelitian pra-eksperimental dengan rancangan Intact Group Comparison. Subyek penelitian yang digunakan adalah 30 siswa TLM. Sampel darah diambil dalam 2 tabung aktivator bekuan, kemudian tabung pertama segera disentrifugasi dan tabung kedua dibiarkan selama 30 menit sebelum disentrifugasi.



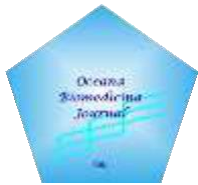
Hasil : Hasil penelitian menunjukkan bahwa rata-rata kadar trigliserida dalam darah yang langsung disentrifugasi lebih tinggi dibandingkan dengan darah yang dibiarkan selama 30 menit sebelum disentrifugasi. Oleh karena itu, dinyatakan ada perbedaan yang signifikan dengan nilai $p = 0,001$ ($p < 0,05$).

Kesimpulan : Berdasarkan penelitian diperoleh kesimpulan bahwa terdapat perbedaan bermakna pada pemeriksaan kadar trigliserida. Antara sampel darah yang langsung disentrifugasi dan darah yang didiamkan selama 30 menit sebelum disentrifugasi.

Kata kunci : Sentrifugasi, dibiarkan/kiri, Trigliserida

LATAR BELAKANG

Laboratorium klinik yaitu laboratorium kesehatan yang melakukan pelayanan pemeriksaan yang terbagi menjadi 5 bidang, yaitu bidang kimia klinik, hematologi, imunologi klinik, mikrobiologi klinik, dan parasitologi klinik (Yaqin & Arista, 2015). Bidang kimia klinik dibagi menjadi beberapa parameter pemeriksaan, yaitu pemeriksaan glukosa, ureum, kreatinin, protein total, albumin, bilirubin total, asam urat, gamma GT (*Glutamil Transferase*), LDH (*Lactic Acid Dehydrogenase*), kolesterol, dan trigliserida (PerMenKes, 2013). Trigliserida termasuk salah satu pemeriksaan kimia klinik. Trigliserida yaitu suatu ester gliserol, terbentuk dari asam lemak dan gliserol. Fungsi trigliserida pada tubuh yaitu sebagai zat energi. Umumnya lemak tidak dapat larut dalam darah, agar lemak dapat larut dalam darah maka lemak harus dibuat larut dengan cara mengikatkan pada protein yang larut dalam darah (Maryam, 2016, p. 32). Laboratorium klinik yaitu laboratorium kesehatan yang melakukan pelayanan pemeriksaan yang



terbagi menjadi 5 bidang, yaitu bidang kimia klinik, hematologi, imunologi klinik, mikrobiologi klinik, dan parasitologi klinik (Yaqin & Arista, 2015). Bidang kimia klinik dibagi menjadi beberapa parameter pemeriksaan, yaitu pemeriksaan glukosa, ureum, kreatinin, protein total, albumin, bilirubin total, asam urat, gamma GT (*Glutamil Transferase*), LDH (*Lactic Acid Dehydrogenase*), kolesterol, dan trigliserida (PerMenKes, 2013). Trigliserida termasuk salah satu pemeriksaan kimia klinik. Trigliserida yaitu suatu ester gliserol, terbentuk dari asam lemak dan gliserol. Fungsi trigliserida pada tubuh yaitu sebagai zat energi. Umumnya lemak tidak dapat larut dalam darah, agar lemak dapat larut dalam darah maka lemak harus dibuat larut dengan cara mengikatkan pada protein yang larut dalam darah (Maryam, 2016, p. 32). Berdasarkan latar belakang diatas dengan penelitian sebelumnya, pada Permenkes (2013) pengolahan spesimen yang baik sampel didiamkan 20-30 menit, pada penelitian Familianti *et al* (2021) pemeriksaan trigliserida menggunakan sampel yang didiamkan 20 menit maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian terkait “Perbedaan kadar Trigliserida pada sampel darah segera disentrifugasi dan didiamkan selama 30 menit sebelum disentrifugasi”.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian ini adalah penelitian pre-eksperimental dengan desain *intact Group Comparison*. Subjek penelitian menggunakan sampel darah vena mahasiswa/i tingkat II dan tingkat IV Teknologi Laboratorium Medis



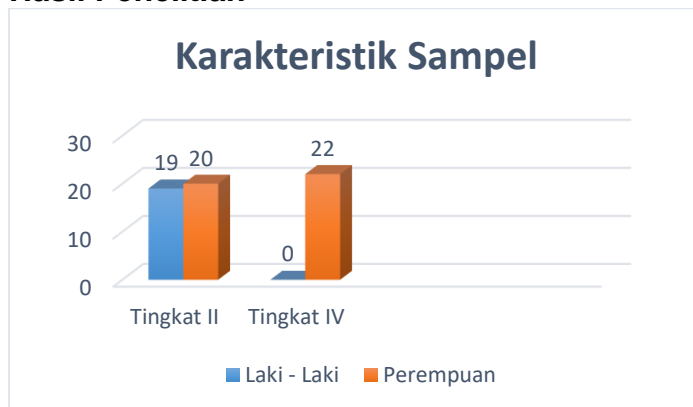
Universitas Katolik Musi Charitas Palembang berjumlah 30 orang yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi, seperti bersedia mengisi *inform consent* dan diambil darah, berusia 18 – 22 tahun, tidak mengkonsumsi obat-obatan yang dapat mempengaruhi kadar trigliserida seperti asam askorbat, dan tidak melakukan aktivitas berat sebelum dilakukan pengambilan darah. Pengambilan darah diambil pada bagian *vena mediana cubiti* menggunakan vacutainer. Darah ditampung sebanyak 2 tabung, tabung pertama diambil sebanyak 1,5 ml lalu tabung pertama segera disentrifus, dan tabung kedua ditampung sebanyak 1,5 ml lalu tabung kedua didiamkan selama 30 menit menggunakan timer, lalu disentrifus. Proses sentrifugasi dilakukan dengan kecepatan 3000 rpm selama 5 menit, lalu pisahkan serumnya.

Pemeriksaan menggunakan alat Kenza 450 TX dengan metode GPO (*Glycerol phosphatase oxidase*). Pada penelitian ini, alat yang digunakan telah dikalibrasi dan metode yang digunakan telah diverifikasi terlebih dahulu menggunakan bahan kontrol. Selain itu, telah dilakukan pemantapan mutu internal dengan memeriksa bahan kontrol sebelum dilakukannya pemeriksaan sampel. Hasil penelitian dianalisis menggunakan uji Paired t test dengan tingkat kepercayaan 95%.



HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Hasil Penelitian



Gambar 1 Karakteristik Sampel

Berdasarkan Gambar 1 diperoleh karakteristik sampel yang digunakan pada tingkat II sebanyak 13 orang yaitu laki-laki berumur 19 tahun dan perempuan berumur 20 tahun. Pada tingkat IV sebanyak 17 orang perempuan yang berumur 22 tahun.

Tabel 1 Data Hasil Penelitian

Didiamkan 30 menit	Hasil	Segera disentrifus	Hasil
D1	32.77	C1	35.43
D2	92.23	C2	93.00
D3	63.77	C3	63.77
D4	23.03	C4	26.57
D5	61.12	C5	70.86
D6	78.83	C6	81.49
D7	61.12	C7	64.66
D8	44.29	C8	48.72
D9	44.29	C9	44.29
D10	102.75	C10	110.72
D11	57.57	C11	59.34
D12	45.17	C12	41.63
D13	39.86	C13	43.04
D14	33.66	C14	36.32



D15	46.06	C15	46.06
D16	48.72	C16	52.26
D17	56.26	C17	56.69
D18	87.69	C18	89.46
D19	44.29	C19	44.29
D20	77.06	C20	77.95
D21	36.32	C21	38.97
D22	131.09	C22	140.83
D23	37.02	C23	36.32
D24	54.92	C24	51.37
D25	25.69	C25	27.46
D26	72.63	C26	72.63
D27	60.23	C27	65.54
D28	38.09	C28	38.97
D29	64.66	C29	65.54
D30	53.14	C30	53.14
Mean	57.15		59.26

Berdasarkan Tabel 1 diperoleh nilai rata-rata trigliserida pada darah yang didiamkan 30 menit 57.15 mg/dl dan nilai rata-rata trigliserida pada darah yang segera disentrifus 59.26 mg/dl.

2. Analisis Data

Kelompok data segera disentrifugasi dan didiamkan 30 menit menggunakan *uji Paired t test* didapatkan hasil sebagai berikut:

Tabel 2 Uji Paired t test

Perlakuan	Sig (2-tailed)	Batas Keberterimaan	Kesimpulan
Didiamkan 30 menit – segera disentrifugasi	0.001	< 0,05	Terdapat perbedaan

Berdasarkan Tabel 2.1 Hasil pemeriksaan trigliserida pada sampel darah segera disentrifugasi dan didiamkan 30 menit sebelum disentrifugasi terdapat perbedaan bermakna p 0,001 (<0,05).

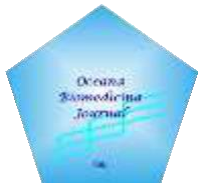


PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui apakah ada perbedaan kadar trigliserida pada sampel darah segera disentrifugasi dan didiamkan 30 menit sebelum disentrifugasi. Subjek penelitian yang digunakan sebanyak 30 subjek yang telah disaring menggunakan kriteria inklusi dan eksklusi. Sebelum dilakukan pemeriksaan sampel sudah terlebih dahulu dilakukan verifikasi metode dan pemantapan mutu internal untuk memastikan bahwa metode dan prosedur yang akan dilakukan benar. Pada penelitian ini pemeriksaan kadar trigliserida dilakukan menggunakan alat Kenza 450 TX. Verifikasi metode adalah konfirmasi ulang dengan cara menguji suatu metode sehingga metode tersebut memenuhi persyaratan yang ditetapkan. Verifikasi metode meliputi presisi (ketelitian) dan akurasi (ketepatan) (Siregar *et al.*, 2018). Hasil verifikasi metode pada penelitian ini menunjukkan bahwa metode GPO-PAP dapat diterima dikarenakan nilai presisi yang didapat yaitu 0.95%, dimana batas CV (presisi) maksimum yang diperbolehkan dalam *Kit Insert Triglycerides GPO* adalah sebesar 1%, yang berarti nilai presisi yang didapat tidak melebihi batas maksimum. Nilai akurasi (bias) yang didapat yaitu 0%, dimana batas bias maksimum yang diperbolehkan menurut *Chemical Analyzer Kenza 450 TX* yaitu sebesar 25%, yang berarti hasil bias yang didapat tidak melebihi batas maksimum, dan nilai TEa yang didapat yaitu 1.9%, dimana batas TEa maksimum yang diperbolehkan yaitu sebesar 25%, yang berarti hasil



TEa yang didapat tidak melebihi batas maksimum. Dari uji verifikasi metode yang dilakukan, semua hasil verifikasi masuk dalam rentang nilai yang diperbolehkan, yang berarti bahwa metode, alat, bahan kontrol, dan prosedur pada penelitian ini layak dan dapat digunakan untuk pemeriksaan sampel trigliserida. Menurut PerMenKes (2013) pemantapan mutu internal merupakan kegiatan untuk pencegahan dan pengawasan yang dilakukan oleh masing-masing laboratorium secara terus menerus agar tidak terjadi atau mengurangi kejadian *error* atau penyimpangan sehingga diperoleh hasil pemeriksaan yang tepat. Pada penelitian ini, pemantapan mutu internal dilakukan dengan mengukur bahan kontrol *Biolabo Exatrol-N* (No. Batch 062138A1, exp : Mei 2023). Hasil Pemantapan Mutu Internal (PMI) pada bahan kontrol *Biolabo Exatrol-N* (normal) setelah dihitung nilai SDi dan hasilnya di plotkan pada *Levey Jenning Control Chart* dan dibaca menggunakan aturan *Westgard Multirules* dapat disimpulkan nilai SDi pada tanggal tersebut tidak berada di luar ± 2 SD, yang berarti hasil PMI diterima dan dapat melakukan pemeriksaan. Selain metode, yang dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan pada tahapan pra-analitik adalah tahap saat pengolahan sampel yaitu sentrifugasi. Pada penelitian ini, ada dua macam pengolahan sampel yang digunakan, yaitu sampel darah segera disentrifugasi dan sampel darah didiamkan 30 menit sebelum disentrifugasi yang sesuai dengan aturan Permenkes No 43 (2013). Pada penelitian ini sampel darah tanpa antikoagulan disentrifugasi



dengan kecepatan 3000 rpm selama 5 menit, lalu serum yang didapat langsung dipisahkan. Data pemeriksaan yang telah didapat dan diolah kemudian diuji secara statistik, yaitu melakukan uji normalitas dan diperoleh data terdistribusi normal, selanjutnya dilakukan uji hipotesis menggunakan *Paired t test* dengan tingkat kepercayaan sebesar 95%. Hasil uji diperoleh nilai probabilitas (sig) dari sampel darah yang segera disentrifugasi dan didiamkan 30 menit sebelum disentrifugasi yaitu $0.001 < 0.05$ yang berarti terdapat perbedaan. Pada penelitian ini, nilai mean kadar trigliserida dari darah yang segera disentrifugasi sebesar 59.26 mg/dl, sedangkan nilai mean kadar trigliserida dari darah yang didiamkan 30 menit sebelum disentrifugasi sebesar 57.15 mg/dl, yang berarti nilai mean dari darah yang segera disentrifugasi lebih tinggi daripada darah yang didiamkan 30 menit sebelum disentrifugasi. Cara pengolahan darah untuk mendapatkan serum yang baik, menurut CLSI (2004) spesimen darah harus dibekukan dahulu sebelum disentrifugasi. Darah membeku secara spontan dan lengkap biasanya terjadi dalam waktu 30 – 60 menit pada suhu kamar. Tujuan darah dibekukan sebelum disentrifugasi yaitu untuk menghindari terjadinya serum hemolisis. Darah yang segera disentrifugasi dapat mengganggu proses koagulasi yang tidak sempurna yaitu tidak mengubah fibrinogen menjadi fibrin. Hal inilah yang menyebabkan serum menjadi lisis (Wahyuni. Arti, 2021). Menurut Adi *et al* (2019) serum yang hemolisis dapat mempengaruhi kadar lemak sehingga kadar trigliserida menjadi



tinggi palsu (*false high*). Pemeriksaan trigliserida diperiksa menggunakan metode GPO-PAP dan metode standar WHO/IFCC yaitu kolorimetrik enzimatis, trigliserida dihidrolisis menjadi gliserol dan asam lemak lalu gliserol akan dikonversikan menjadi gliserol-3-fosfat yang selanjutnya akan terbentuk kompleks warna yang dapat diukur kadarnya menggunakan spektrofotometer (Hardisari & Koiriyah, 2016). Penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Adi *et al* (2019), yang membandingkan antara kadar trigliserida pada sampel darah segera disentrifugasi dan didiamkan 30 menit lalu disentrifugasi, dengan menggunakan alat Horiba ABX, pengambilan sampelnya menggunakan spuit 5 ml dan subjek yang digunakan sebanyak 20. Tetapi pada penelitian tersebut tidak disebutkan metode yang digunakan. Hasil yang didapat pada penelitian tersebut menyatakan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada kadar trigliserida dari darah yang ditunda sebelum di sentrifugasi dan yang langsung di sentrifugasi, karena nilai t hitung $>$ t tabel. Hal tersebut dapat terjadi karena kandungan lemak yang berada di dalam serum belum terlepas secara sempurna, selain itu darah yang langsung disentrifugasi tanpa didiamkan terlebih dahulu akan menghasilkan serum yang lebih sedikit. Jadi berdasarkan penelitian terhadap perbedaan kadar trigliserida pada sampel darah segera disentrifugasi dan didiamkan 30 menit sebelum disentrifugasi, terdapat perbedaan yang signifikan. Sampel darah yang didiamkan sangat direkomendasikan, menurut PerMenKes (2013)



syarat serum yang baik yaitu darah yang diperoleh dibiarkan membeku dengan sendirinya pada suhu kamar selama 20 – 30 menit. Setelah darah membeku bisa langsung disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 5 – 15 menit. Setelah disentrifus serum harus segera dipisahkan dari sel darah, paling lambat pemisahan dalam waktu 2 jam setelah pengambilan darah. Menurut CLSI (2004) spesimen darah harus dibekukan dahulu sebelum disentrifugasi. Darah membeku secara spontan dan lengkap biasanya terjadi dalam waktu 30 – 60 menit pada suhu kamar.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan dalam penelitian mengenai perbedaan kadar trigliserida pada sampel darah segera disentrifugasi dan didiamkan 30 menit sebelum disentrifugasi dapat disimpulkan terdapat perbedaan bermakna hasil pemeriksaan trigliserida dengan *p-value* 0,001 (<0,05).

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami mengucapkan terima kasih kepada BBLK Palembang yang telah membantu dalam penelitian ini, serta Meri Putri Utami, Ester Thalia, Lince Lestari Siagian, Yeni Debora Sitinjak yang telah membantu dalam pengumpulan sampel penelitian.



DAFTAR PUSTAKA

1. Adi, N., Jangga, & Isma, F. (2019). Perbedaan Kadar Kolesterol dan Trigliserida Serum dari Darah Yang Dibekukan Sebelum Disentrifus dan Yang Langsung Disentrifus. *Jurnal Media Analis Kesehatan*, 10(2), 152. <https://doi.org/10.32382/mak.v10i2.1316>
2. Chaudhry, N., Hayat, A., Ahmad, T. M., Majeed, N., Israr, S., & Saddique, A. (2019). Pengaruh sentrifugasi tertunda terhadap kimia serum. *Departemen Patologi, Institut Patologi Angkatan Bersenjata*, 69(3), 595–599.
3. CLSI. (2004). Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline - Third Edition. *NCCLS H18-A3*, 24. <https://doi.org/02733-099>
4. Fadhilah, F., Riyani, A., & Nopiani, A. (2019). Efektifitas Suhu Dan Lama Penyimpanan Pada Preparasi Sampel Darah Terhadap Volume Serum Pada Pemeriksaan Kadar Glukosa Puasa, Kolesterol Total Dan Trigliserida. *Journal of Health Technology*, 15(2), 71–80.
5. Familianti, reni junika, Sari, I., & Bastian. (2021). Perbedaan Kadar Trigliserida Pada Sampel Darah Segera Disentrifugasi Dan Sampel Darah Dibekukan Selama 20 Menit Sebelum Disentrifugasi. *Surabaya : The Journal of Muhamadiyah Medical Laboratory Technologist*, 2(4), 120–126.
6. Hardisari, R., & Koiriyah, B. (2016). Gambaran Kadar Trigliserida (Metode Gpo-Pap) Pada Sampel Serum dan Plasma EDTA. *Jurnal Teknologi Laboratorium*, 5, 27–31. <https://doi.org/2338-5634>
7. Kemenkes.RI. (2017). Profil Penyakit Tidak Menular Tahun 2016. In *Journal of Chemical Information and Modeling* (Vol. 53, Issue 9). Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
8. Kemenkes R.I. (2010). *Kepmenkes Nomor 1792/MENKERS/SKXII/2010 Tentang Pedoman Pemeriksaan Kimia Klinik* (pp. 61–62).
9. Maryam, S. (2016). *Gizi Dalam Kesehatan Reproduksi*. Salemba Medika.
10. PerMenKes. (2013). *Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 43*.
11. Prameswari, N. P. (2019). Pemanfaatan Senyawa Antiaterogenik Jamur Tiram Putih (*Pleurotus Spp.*) Dalam Pencegahan Aterosklerosis. *JIMKI: Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kedokteran Indonesia*, 7(2), 60–66. <https://doi.org/10.53366/jimki.v7i2.65>
12. Rachmawati, C., Martini, S., & Artanti, K. D. (2021). Analisis Faktor Risiko Modifikasi Penyakit Jantung Koroner Di Rsu Haji Surabaya Tahun 2019. *Media Gizi Kesmas*, 10(1), 47. <https://doi.org/10.20473/mgk.v10i1.2021.47-55>
13. Siregar, M. T., Wulan, W. S., Setiawan, D., & Nuryati, A. (2018). *Kendali Mutu*. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
14. Wahyuni. Arti, N. F. (2021). *Perbedaan Kadar Asam Urat Darah Yang*



Dibekukan Sebelum Dicentrifuge dan Langsung Dicentrifuge. 4, 1564–1569.

15. Yaqin, M. A., & Arista, D. (2015). Analisis Tahap Pemeriksaan Pra Analitik Sebagai Upaya Peningkatan Mutu Hasil Laboratorium di RS. Muji Rahayu Surabaya. *Jurnal Sains*, 5(10), 1–7.