

PENGARUH WAKTU PENYIMPANAN SAMPEL DARAH DI DALAM KOTAK PENDINGIN TERHADAP KADAR KOLESTROL TOTAL YANG DIUKUR DENGAN METODE CHOD PAP

Dinar Rahayu, Asep Rahmat, Tuti Rustiana, Diat Rukhiat, Rina Rahmawati

Program Studi D-III Analis Kesehatan, Sekolah Tinggi Analis Bakti Asih Bandung, Jalan Padasuka Atas No. 233
Bandung, 40192, Indonesia

ABSTRAK

Efek transportasi dan keterlambatan dalam pemrosesan darah terhadap kadar parameter klinik sangat penting diketahui karena kadar parameter klinik dipengaruhi waktu tunda dan suhu. Beberapa pasien, terutama individu yang lebih tua dan lebih sakit, mungkin meminta pengambilan darah dilakukan di rumah. Jika transportasi atau keterlambatan dalam pemrosesan sampel mempengaruhi kadar parameter klinik yang diperiksa, mungkin ada kekhawatiran terjadi perbedaan kadar parameter klinik antara yang awal dengan saat diperiksa. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui berapa lama sampel bisa disimpan di dalam kotak pendingin tanpa mempengaruhi nilai kolesterol total dari plasma EDTA yg disimpan di kotak pendingin dengan ukuran lebar 280 x 180 mm dan tinggi 200 mm dengan daya tampung 5,5 liter. Suhu yang diatur 2-10 °C dengan menggunakan pendingin berupa blue ice yang disimpan di sekeliling box agar suhu box tetap terjaga. Pemeriksaan ini dilakukan selama 1, 2, 3, 4, 5 jam dengan indikator bahwa jika sudah terjadi perubahan signifikan pada salah satu rentang waktu tersebut, maka sampel tidak bisa dipakai. Data dianalisis dengan menggunakan ANOVA dua arah. Didapatkan kadar kolesterol pada plasma EDTA yang disimpan pada boks pendingin pada satu, dua, tiga, empat, dan lima jam penyimpanan berturut-turut adalah 142 mg/dL, 138 mg/dL, 130 mg/dL, 106 mg/dL, dan 93 mg/dL. Waktu penyimpanan sampel darah pada kotak pendingin mempengaruhi kadar kolesterol total, berdasarkan uji ANOVA didapatkan hasil bahwa terdapat perbedaan yang signifikan Waktu penyimpanan sampel darah pada kotak pendingin yang optimum adalah pada rentang waktu 1 sampai 3 jam dimana kadar kolesterol yang turun tidak signifikan

Kata kunci: kolesterol total, penundaan, transportasi, plasma EDTA

ABSTRACT

It is very important to know the effect of transport and delay in blood processing on clinical parameter levels because clinical parameter levels are affected by delay time and temperature. Some patients, especially older and sicker individuals, may request that the blood be drawn at home. If transportation or delays in sample processing affect the levels of the clinical parameters examined, there may be concern that there may be differences in the levels of the clinical parameters at the time of examination. This study aims to determine how long the sample can be stored in the cooler without affecting the total cholesterol value. from EDTA plasma stored in a cooler box with a width of 280 x 180 mm and a height of 200 mm with a capacity of 5.5 liters. The temperature is set at 2-10 °C by using a cooler in the form of blue ice which is stored around the box so that the box temperature is maintained. This examination is carried out for 1, 2, 3, 4, 5 hours with the indicator that if there has been a significant change in one of these time ranges, the sample cannot be used. Data were analyzed using two-way ANOVA. Cholesterol levels in EDTA plasma stored in a cooler box at one, two, three, four, and five hours of storage were 142 mg/dL, 138 mg/dL, 130 mg/dL, 106 mg/dL, and 93 mg/dL. The time of storing blood samples in the cooler affects total cholesterol levels. Based on the ANOVA test, the results show that there is a significant difference.

Keywords: total cholesterol, transportation, delay time, EDTA-plasma

1. Pendahuluan

Efek transportasi dan keterlambatan dalam pemrosesan darah terhadap kadar parameter klinik sangat penting diketahui karena kadar parameter klinik dipengaruhi waktu tunda dan suhu. Beberapa pasien, terutama individu yang lebih tua dan lebih sakit, mungkin meminta pengambilan darah dilakukan di rumah. Jika transportasi atau keterlambatan dalam pemrosesan sampel mempengaruhi kadar parameter klinik yang diperiksa, mungkin ada kekhawatiran terjadi perbedaan kadar parameter klinik antara yang awal dengan saat diperiksa.(Murphy et al., 2000), (Gniadecki et al., 2013)

Cara pengambilan dan transportasi sampel yang benar akan memberikan hasil yang baik pula. Dengan mempelajari pengaruh fluktuasi dalam transportasi dan penyimpanan, waktu, dan suhu terhadap ketahanan kualitas specimen akan menghasilkan cara-cara pengoptimalan parameter transport dan penyimpanan (Nybo et al., 2019), (Hardwick, 2020), (Wu et al., 2017)

Sangatlah penting untuk membawa specimen darah ke laboratorium secepat mungkin sehingga parameter klinik bisa diukur saat masih dalam kondisi stabil. Proses transportasi sendiri harus dikontrol seksama untuk menjamin analisis yang diperlukan tidak berubah karena suhu, agitasi, atau pengaruh biologi dan fisik lainnya.(Nybo et al., 2019), (França et al., 2018), (Oddeze et al., 2012)

Idealnya, transportasi sampel harus dilakukan pada kondisi suhu yang sama sebelum dan sesudah analisis. Waktu dan suhu kotak tempat sampel dicatat (Nybo et al., 2019), (Arts et al., 2014)

Karena jarak antara laboratorium pusat dengan titik pengumpulan sampel pada layanan 'home care' bisa sangat jauh dan situasi lalu lintas yang macet bisa meningkatkan waktu transportasi, maka sangatlah perlu untuk mengatur tempat penyimpanan berpendingin. Wadah tempat transportasi sampel materi biologis haruslah memiliki sistem berpendingin.

Penelitian Fujita menunjukkan bahwa suhu yang diperlukan untuk menyimpan dan pemindahan sel darah merah adalah 2 sampai 6°C. Penelitian Fujita juga membandingkan kualitas parameter laktat dehidrogenase, aspartat aminotransferase (AST), kalium, gula darah, laktat, amonia, dan hematokrit pada berbagai tempat dan cara transportasi. Penelitian ini juga menunjukkan adanya hemolisis karena terdapat efek getaran/guncangan kendaraan terhadap parameter-parameter diatas. Dengan pengaturan suhu yang tidak memadai dan guncangan, efek hemolisis terjadi pada sel darah merah. Nilai laktat dehidrogenase berbeda signifikan pada suhu yang tidak terkontrol dengan baik.

Murphy dkk menemukan bahwa kadar vitamin, enzim-enzim hati, dan elektrolit tidak berubah setelah transportasi dengan mobil selama satu jam. Tetapi ada penurunan kadar sel darah merah dan darah putih, HDL-kolesterol, glukosa, dan kreatinin setelah transportasi. Sementara kolesterol total, testosterone, alkaline

fosfatase, bilirubin total dan asam tiobarbiturat. mengalami kenaikan kadar.(Murphy et al., 2000), (Zwart et al., 2009).

Karena itulah penelitian ini bertujuan mengetahui ketahanan nilai parameter kolesterol total dari plasma EDTA yg disimpan di kotak pendingin dengan ukuran lebar 280 x 180 mm dan tinggi 200 mm dengan daya tampung 5,5 liter. Suhu yang diatur 2-10 °C dengan menggunakan pendingin berupa *blue ice* yang disimpan di sekeliling box agar suhu box tetap terjaga. Pemeriksaan ini dilakukan selama 1, 2, 3, 4 jam dengan indikator bahwa jika sudah terjadi perubahan signifikan pada salah satu rentang waktu tersebut, maka sampel tidak bisa dipakai.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui berapa lama sampel bisa disimpan di dalam kotak pendingin tanpa mempengaruhi nilai kolesterol total.

2. Metode Penelitian

Desain ini digunakan karena menyesuaikan dengan tujuan yang hendak dicapai, yaitu untuk mengetahui perbandingan hasil pemeriksaan kolesterol total menggunakan dan plasma yang disimpan pada kotak pendingin dengan variasi waktu.

A. Persiapan Pasien

Pasien diwajibkan untuk puasa selama 10 – 12 jam dan menghindari makanan yang mengandung banyak kolesterol

B. Pengambilan Sampel

Sampel diambil sebanyak 6 cc pada darah vena dan dimasukkan kedalam tabung vakum EDTA.

C. Penyimpanan Sampel

Sampel yang sudah diambil disimpan didalam kotak pendingin dengan masing masing label penyimpanan yang akan disimpan selama 1,2,3,4,5 jam untuk kemudian dilakukan pemeriksaan kembali setelah disimpan selama rentang waktu tersebut.

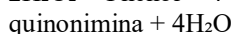
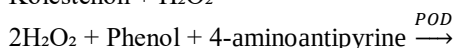
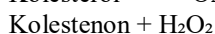
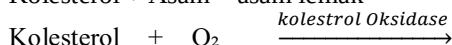
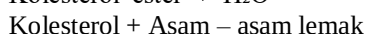
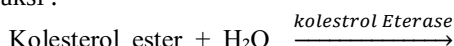
D. Kriteria Sampel

Sampel yang digunakan merupakan dan plasma yang tidak hemolisis, lipemik dan ikterik.

a. Metode : CHOD-PAP (Cholesterol Oxidase-Peroxidase Aminoantipyrin Phenol).

b. Prinsip : Pengukuran kolesterol total setelah hidrolisa enzimatis dan oksidasi indikator kolorimetri adalah chinonimine yang dihasilkan dan 4-aminoantipyrine dan phenol dengan hydrogen peroksida dengan bantuan katalis derivat.(Journal et al., 2008), (Hopkins, 2003)

c. Reaksi :



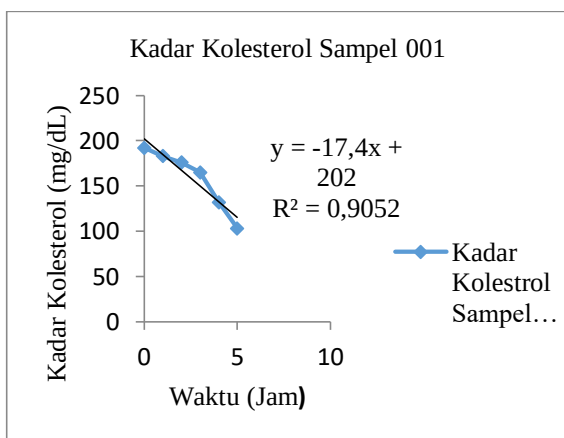
3. Hasil

Sampel	Replikasi	Waktu dan Suhu Penyimpanan					
		Kontrol	1 3,8 °C	2 4,7 °C	3 5,9 °C	4 7,1 °C	5 8,3 °C
001	1	192	180	178	166	134	110
	2	190	184	174	162	132	98
	3	194	186	176	168	130	100
002	1	158	152	148	134	116	100
	2	156	146	142	138	112	94
	3	154	150	150	136	110	104
003	1	138	122	118	114	90	94
	2	136	126	116	112	88	92
	3	132	118	112	110	92	96
004	1	140	138	136	124	102	96
	2	144	132	134	128	100	98
	3	146	130	138	120	96	90
005	1	134	122	116	112	92	80
	2	130	118	118	116	102	78
	3	138	126	112	110	96	74

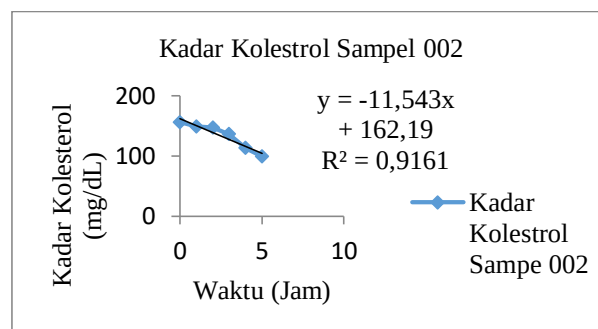
Tabel 3.1. Hasil Pengukuran Kadar Kolesterol dalam plasma EDTA yang ditunda beberapa jam dan disimpan dalam boks pendingin

Penelitian ini menggunakan uji statistik yaitu uji ANOVA. Digunakan untuk membandingkan dan mengetahui perbedaan signifikan dari beberapa kelompok data. Namun, terdapat beberapa uji prasyarat sebelum uji anova dilakukan, diantaranya :

Pada Grafik 3.1. koefisien regresi (R^2) yaitu 0,9052 dengan koefisien korelasi (R) adalah 0,9514. Hal ini menunjukkan bahwa kadar kolesterol total menurun secara signifikan berdasarkan lamanya penyimpanan sel darah yang disimpan didalam kotak pendingin yang berarti bahwa lama kadar kolesterol total lurus dengan lama penyimpanan. Jika nilai R mendekati 1 maka disimpulkan bahwa terdapat hubungan yang signifikan antara kadar kolesterol total dan lama waktu penyimpanan pada kotak pendingin.

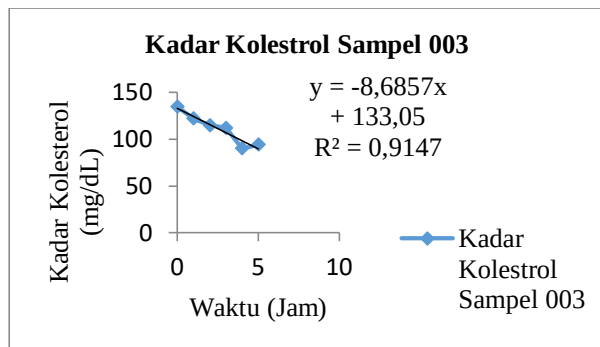


3.1 Grafik Korelasi dan Regresi Sampel 001



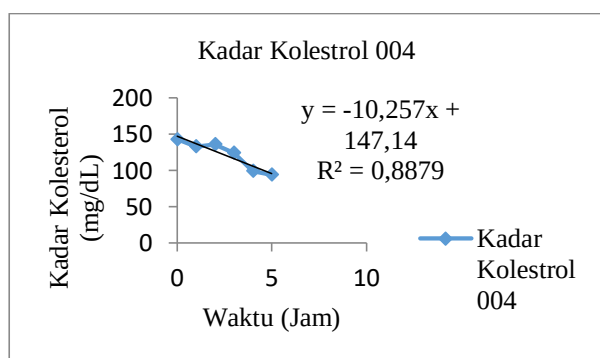
3.2 Grafik Korelasi dan Regresi Sampel 002

Grafik 3.2 memiliki koefisien regresi (R^2) 0,9161 dan koefisien korelasi (R) 0,9571. hal ini menunjukkan bahwa kadar kolestrol total menurun secara signifikan berdasarkan lamanya penyimpanan sel darah yang disimpan didalam kotak pendingin yang berarti bahwa lama kadar kolestrol total lurus dengan lama penyimpanan. Jika nilai R mendekati 1 maka disimpulkan bahwa terdapat hubungan yang signifikan antara kadar kolestrol total dan lama waktu penyimpanan pada kotak pendingin.



3.3 Grafik Korelasi dan Regresi Sampel 003

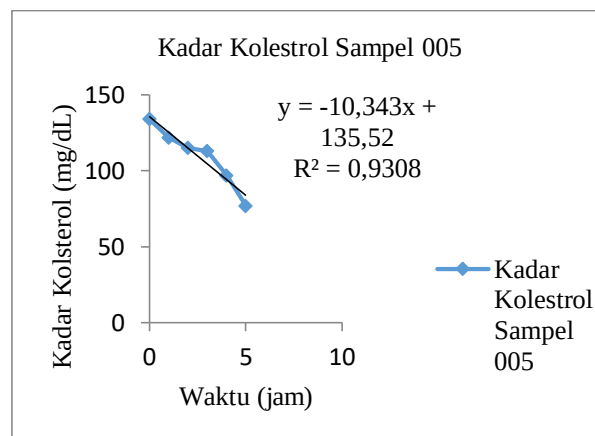
Pada grafik 3.3 koefisien regresi (R^2) 0,9147 dengan koefisien korelasi (R) 0,9564 hal ini menunjukkan bahwa kadar kolestrol total menurun secara signifikan berdasarkan lamanya penyimpanan sel darah yang disimpan didalam kotak pendingin yang berarti bahwa lama kadar kolestrol total lurus dengan lama penyimpanan. Jika nilai R mendekati 1 maka disimpulkan bahwa terdapat hubungan yang signifikan antara kadar kolestrol total dan lama waktu penyimpanan pada kotak pendingin.



3.4 Grafik Korelasi dan Regresi Sampel 004

Pada Koefisien regresi (R^2) adalah 0,8879 Koefisien korelasi (R) adalah 0,9423. Hal ini menunjukkan bahwa kadar kolestrol total menurun secara signifikan berdasarkan lamanya penyimpanan sel darah yang disimpan didalam kotak pendingin yang berarti bahwa lama kadar kolestrol total lurus dengan lama penyimpanan. Jika nilai R mendekati 1 maka

disimpulkan bahwa terdapat hubungan yang signifikan antara kadar kolestrol total dan lama waktu penyimpanan pada kotak pendingin.



3.5 Grafik Korelasi dan Regresi Sampel 005

Pada grafik 3.5 didapat koefisien regresi (R^2) adalah 0,9308 dengan koefisien korelasi (R) 0,9648, hal ini menunjukkan bahwa kadar kolestrol total menurun secara signifikan berdasarkan lamanya penyimpanan sel darah yang disimpan didalam kotak pendingin yang berarti bahwa lama kadar kolestrol total lurus dengan lama penyimpanan. Jika nilai R mendekati 1 maka disimpulkan bahwa terdapat hubungan yang signifikan antara kadar kolestrol total dan lama waktu penyimpanan pada kotak pendingin.

Uji homogenitas dan uji normalitas menunjukkan bahwa tiap kelompok data adalah homogen dan normal sehingga bisa dilanjutkan ke uji ANOVA satu arah.

Tabel 3.5 Uji Anova

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	38021.022	5	7604.204	19.103	<,001
Within Groups	33436.800	84	398.057		
Total	71457.822	89			

Pengujian hipotesa uji beda nyata atau uji signifikansi anova adalah sebagai berikut:

- Jika nilai $\text{sig} > 0.05$ maka H_0 diterima dan H_1 ditolak artinya tidak ada perbedaan yang signifikan.
- Jika nilai $\text{sig} < 0.05$ maka H_1 diterima dan H_0 ditolak artinya terdapat perbedaan yang signifikan.

Jika hasil uji anova menunjukkan perbedaan yang signifikan, maka analisis data dilanjutkan dengan uji lanjut post hoc tukey. Berdasarkan tabel diatas

didapatkan hasil uji anova nilai sig < 0.05 yang artinya terdapat perbedaan yang signifikan atau rata-rata kadar kolesterol total setiap perlakuan berbeda. Dikarenakan uji anova memberikan hasil H1 diterima maka analisis data dilanjutkan dengan uji post hoc atau uji lanjut tukey.

Berdasarkan uji post hoc, maka didapatkan hasil sebagai berikut :

1. Pada perlakuan variasi waktu mulai dari penyimpanan 3 jam hingga 5 jam memberikan penurunan rata-rata kadar kolesterol total yang signifikan.
2. Rata-rata kadar kolesterol total pada penyimpanan selama 1 jam hingga 3 jam memberikan rata-rata kadar kolesterol total yang tidak berbeda signifikan.

4. Pembahasan

Terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi stabilitas sampel yaitu pengaruh suhu yang tidak stabil, lama waktu penyimpanan sampel, kontaminasi oleh kuman, penyimpanan plasma EDTA dan waktu inkubasi yang kurang baik, dan terdapat beberapa plasma EDTA yang mengalami lisis. Penyimpanan sampel plasma EDTA yang disimpan didalam kotak pendingin dimana suhu pada kotak pendingin tidak stabil dan setiap jam nya pasti mengalami kenaikan suhu walaupun suhu tetap dijaga dan diusahakan tidak melebihi 8 °C supaya stabilitas plasma EDTA tetap terjaga. Dilakukan juga pemeriksaan langsung kadar kolesterol total karena sebagai acuan untuk mengetahui kadar kolesterol yang sebenarnya didalam tubuh.

Penggunaan blue ice gell untuk mendinginkan kotak pendingin dipilih karena blue ice gell lebih lama mencair dibandingkan dengan es batu biasa, karena blue ice mengandung Faktor yang berpengaruh terhadap penurunan hasil kadar kolesterol saat dilakukan pemeriksaan yaitu ketidak seimbangan komposisi enzim – enzim yang terdapat didalam plasma pada saat sampel diteliti, karena plasma harus segera dipisahkan dari sel – sel darah supaya struktur lipoprotein dan revolusi lipoprotein tidak terjadi penurunan. salah satu enzim dalam plasma adalah enzim lipase yang merupakan enzim hidrolase yang menguraikan ikatan ester dan lemak berbentuk air menjadi gliserol dan asam lemak rantai panjang. Air yang berkurang dalam plasma akan menghambat enzim lipase untuk memecahkan lemak. (Lamik I, 2018).

Adapun faktor faktor lain yang mempengaruhi hasil pemeriksaan kolesterol secara teknis, yaitu kebersihan alat yang digunakan, pemipetan yang kurang tepat, keterampilan petugas, gelembung udara pada spektrofotometer, homogenitas yang kurang sempurna, waktu dan suhu inkubasi yang kurang tepat (Hartini, 2016).

Pemakaian antiakogran yang tepat dan benar merupakan hal yang sangat penting untuk diperhatikan. Pemilihan antikoagulan EDTA juga harus mempertimbangkan pemeriksaan yang akan dilakukan sehingga bahan tersebut tidak akan mempengaruhi hasil analisa.

Pengaruh yang ditimbulkan terhadap penyimpanan sampel darah yaitu sampel darah yang membeku dan siklus beku cair dan penyimpanan sampel pada kotak pendingin dapat merusak lipoprotein dan terkadang menyebabkan hemolisis.

5. Simpulan

1. Waktu penyimpanan sampel darah pada kotak pendingin mempengaruhi kadar kolesterol total, berdasarkan uji ANOVA didapatkan hasil bahwa terdapat perbedaan yang signifikan
2. Waktu penyimpanan sampel darah pada kotak pendingin yang optimum adalah pada rentang waktu 1 sampai 3 jam dimana kadar kolesterol yang turun tidak begitu signifikan.

Daftar Pustaka

1. Arts, E. E. A., Popa, C. D., Smith, J. P., Arntz, O. J., Van De Loo, F. A., Donders, R., Semb, A. G. P., Kitas, G. D., Van Riel, P. L. C. M., & Fransen, J. (2014). *Serum Samples That Have Been Stored Long-Term (>10 Years) Can Be Used as a Suitable Data Source for Developing Cardiovascular Risk Prediction Models in Large Observational Rheumatoid Arthritis Cohorts*. *BioMed Research International*, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/930925>
2. Damiani, L., Revetria, R., Morra, E., & Giribone, P. (2020). *A smart box for blood bags transport: Simulation model of the cooling autonomy control system*. *Advances in Science, Technology and Engineering Systems*, 5(1), 249–255. <https://doi.org/10.25046/aj050131>
3. França, C. N., Mendes, C. C., & Ferreira, C. E. S. (2018). *Time collection and storage conditions of lipid profile*. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 51(3), 1–4. <https://doi.org/10.1590/1414-431X20176955>
4. Fujita, H., Tojo, Y., Mine, T., & Tanaka, A. (2020). *Temperature Management of Red Blood Cell Solution Transported by Car for Transfusion at Home*. *Open Journal of Blood Diseases*, 10(02), 37–40. <https://doi.org/10.4236/ojbd.2020.102004>
6. Gniadecki, R., Assaf, C., Bagot, M., Dummer, R., Duvic, M., Knobler, R., Ranki, A., Whittaker, S., Hoffjan, S., Stemmler, S., Wilson, A. S., Dodson, H. I., Janaway, R. C., Pollard, A. M., & Tobin, D. J. (2013). *Original articles Original articles*. *Pediatric Oncall January*, 157(3), 441–449.

7. Hardwick, J. (2020). Blood storage and transportation. *ISBT Science Series*, 15(S1), 232–254. <https://doi.org/10.1111/voxs.12599>
8. Hopkins, J. (2003). NHANES Laboratory procedure manual, Total Cholesterol, Direct HDL, Precipitated HDL, Triglycerides, and LDL.
9. Journal, A., Sciences, A., & Publications, S. (2008). Effect of Storage Time and Temperature on Serum Analytes Abdoljalal Marjani Department of Biochemistry and Biophysics , Faculty of Meicine , Biochemical and Nutritional Research Center , Golestan University of Medical sciences , Gorgan , Golestan Province. *American Journal of Applied Sciences*, 5(8), 1047–1051.
10. Murphy, J. M., Browne, R. W., Hill, L., Bolelli, G. F., Abagnato, C., Berrino, F., Freudenheim, J., Trevisan, M., & Muti, P. (2000). Effects of transportation and delay in processing on the stability of nutritional and metabolic biomarkers. *Nutrition and Cancer*, 37(2), 155–160. https://doi.org/10.1207/S15327914NC372_6
11. Nybo, M., Cadamuro, J., Cornes, M. P., Gómez Rioja, R., & Grankvist, K. (2019). Sample transportation - An overview. *Diagnosis*, 6(1), 39–43. <https://doi.org/10.1515/dx-2018-0051>
12. Oddoze, C., Lombard, E., & Portugal, H. (2012). Stability study of 81 analytes in human whole blood, in serum and in plasma. *Clinical Biochemistry*, 45(6), 464–469. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2012.01.012>
13. Wu, D. wen, Li, Y. meng, & Wang, F. (2017). How Long can we Store Blood Samples: A Systematic Review and Meta-Analysis. *EBioMedicine*, 24, 277–285. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2017.09.024>
14. Zwart, S. R., Wolf, M., Rogers, A., Rodgers, S., Gillman, P. L., Hitchcox, K., Ericson, K. L., & Smith, S. M. (2009). Stability of analytes related to clinical chemistry and bone metabolism in blood specimens after delayed processing. *Clinical Biochemistry*, 42(9), 907–910. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2009.02.01>