

## VARIASI WAKTU PEMBUATAN SERUM TERHADAP KADAR HDL KOLESTEROL

ETIKAH MASITOH<sup>1</sup>, FREDDY AGAMONANZA\*<sup>2</sup>

Program Studi Sarjana Terapan Analisis Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang<sup>1</sup>,  
Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Kesehatan,  
Universitas Pelita Harapan<sup>2</sup>  
email: agamonanzapanjaitan@gmail.com\*<sup>2</sup>

**Abstract:** High density lipoprotein (HDL) cholesterol is one of the lipoprotein components that plays an important role in transporting cholesterol from tissues to the liver. HDL cholesterol levels are measured using serum obtained from blood after the clotting process. Clotting times that do not follow the procedure can affect serum quality and the accuracy of test results. This study aims to determine the differences in HDL cholesterol levels based on variations in blood clotting time before centrifugation. This study is an experimental study with three treatments, namely blood clotting for 5 minutes, 10 minutes, and 15 minutes before centrifugation. Normality was tested using Shapiro-Wilk, while differences between groups were tested using the paired sample t-test with the help of SPSS software. The average HDL cholesterol level in blood frozen for 15 minutes was 35.88 mg/dL, for 10 minutes was 31.00 mg/dL, and for 5 minutes was 29.00 mg/dL. The statistical test results showed a significant difference between 15 minutes and 10 minutes of freezing ( $p = 0.000$ ) and between 15 minutes and 5 minutes of freezing ( $p = 0.000$ ). Variations in blood clotting time significantly affect HDL cholesterol levels. A clotting time of 15 minutes before centrifugation produces more optimal HDL levels and is in line with standard procedures.

**Keywords :** HDL cholesterol, clotting time, blood serum

**Abstrak:** High Density Lipoprotein (HDL) kolesterol merupakan salah satu komponen lipoprotein yang berperan penting dalam transportasi kolesterol dari jaringan menuju hati. Pemeriksaan kadar HDL kolesterol menggunakan serum, yang diperoleh dari darah setelah proses pembekuan. Waktu pembekuan yang tidak sesuai prosedur dapat memengaruhi kualitas serum dan akurasi hasil pemeriksaan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan kadar HDL kolesterol berdasarkan variasi waktu pembekuan darah sebelum disentrifus. Jenis penelitian ini adalah eksperimental dengan tiga perlakuan, yaitu darah dibekukan selama 5 menit, 10 menit, dan 15 menit sebelum disentrifus. Uji normalitas menggunakan Shapiro-Wilk, sedangkan perbedaan antar kelompok diuji menggunakan Paired Sample T-Test dengan bantuan perangkat lunak SPSS. Rata-rata kadar HDL kolesterol pada darah yang dibekukan 15 menit adalah 35,88 mg/dL, pada 10 menit sebesar 31,00 mg/dL, dan pada 5 menit sebesar 29,00 mg/dL. Hasil uji statistik menunjukkan adanya perbedaan bermakna antara pembekuan 15 menit dengan 10 menit ( $p = 0,000$ ) serta antara pembekuan 15 menit dengan 5 menit ( $p = 0,000$ ). Variasi waktu pembekuan darah berpengaruh signifikan terhadap kadar HDL kolesterol. Waktu pembekuan 15 menit sebelum sentrifugasi menghasilkan kadar HDL yang lebih optimal dan sesuai dengan standar prosedur.

**Kata kunci :** HDL kolesterol, waktu pembekuan, serum darah

### A. Pendahuluan

Lipoprotein merupakan kompleks makromolekul yang berukuran sangat besar dari lipid dan protein khusus (*apolipoprotein*) yang membantu enkapsulasi lemak, pelarutan, dan metabolisme. Lipoprotein terdiri dari beberapa jenis antara lain kilomikron, VLDL (*very low density lipoprotein*), LDL (*low density lipoprotein*), dan HDL (*high density lipoprotein*)

(Gigante *et al.*, 2025). HDL memiliki ukuran paling kecil dibandingkan dengan lipoprotein lainnya, dengan rentang diameter 5 sampai 12 nm. Partikel HDL memiliki komposisi yang terdiri dari 6% trigliserida, 40% ester kolesterol, 46 % fosfolipid dan 7% kolesterol bebas (Nugraha, 2017). High density lipoprotein (HDL) merupakan salah satu fraksi lipoprotein yang berperan penting dalam transportasi kolesterol dari jaringan perifer kembali ke hati (*reverse cholesterol transport*). Kadar HDL kolesterol (HDL-C) tradisionalanya dikaitkan dengan risiko penyakit kardiovaskular secara epidemiologis kadar HDL rendah berkaitan dengan peningkatan risiko aterosklerotik, sementara kadar HDL lebih tinggi umumnya dikaitkan dengan risiko lebih rendah. Fungsi HDL juga makin mendapat perhatian sebagai penentu risiko penyakit kardiovaskular. Karena perannya dalam penilaian risiko kardiometabolik dan keputusan klinis, pengukuran HDL-C harus akurat (Kjeldsen *et al.*, 2021).

Pengukuran HDL-C biasanya dilakukan menggunakan serum sebagai bahan uji dengan metode enzimatik atau kolorimetrik (Nugraha, 2017). Serum merupakan cairan darah yang diperoleh setelah darah mengalami proses pembekuan dan dipisahkan dari bekuan melalui sentrifugasi, sehingga tidak lagi mengandung fibrinogen maupun faktor koagulasi lainnya. Pembekuan darah yang sempurna merupakan langkah penting sebelum dilakukan sentrifugasi untuk mendapatkan serum berkualitas baik. Standar waktu yang dianjurkan agar darah membeku sempurna adalah sekitar 15-30 menit pada suhu ruang (Reichstein, 2003). Kualitas serum sangat dipengaruhi oleh faktor praanalitik antara lain waktu pembekuan yang cukup, kondisi penyimpanan, lama penundaan sebelum sentrifugasi, cara pengambilan darah, jenis tabung, serta penanganan mekanis. Kesalahan pra analitik di laboratorium yaitu sebesar 60–70%, sehingga sangat penting untuk diperhatikan. Faktor ini sangat menentukan kualitas hasil pemeriksaan, karena ketidaksesuaian pada tahap praanalitik dapat memunculkan fibrin, hemolisis, ataupun kontaminasi yang akan mengganggu proses analitik (Najat, 2017).

Praktik di laboratorium masih sering dijumpai kebiasaan laboratorium yang melakukan sentrifugasi sebelum darah benar-benar membeku sempurna. Kondisi ini berpotensi menimbulkan pembentukan fibrin atau microclot yang tidak hanya menyumbat aspirator pada alat analiser, tetapi juga menimbulkan hasil pemeriksaan yang bias. Penelitian Yavuz (2021) gumpalan fibrin dapat terjadi jika waktu menggumpal sampel belum cukup secara adekuat sebelum sentrifugasi. Bekuan fibrin dapat menyebabkan hasil yang salah pada sampel yang tidak cukup atau akibat gangguan uji. Darah yang belum membeku sempurna lebih rentan mengalami hemolisis akibat guncangan mekanis saat disentrifugasi, sehingga hemoglobin bebas dari eritrosit yang pecah dapat masuk ke serum dan menyebabkan interferensi spektral pada metode kolorimetrik serta dapat menyebabkan kandungan lemak belum terlepas sepenuhnya sehingga dapat berpengaruh terhadap kadar lemak (Yavuz, 2021). Hemolisis yang terjadi menyebabkan hemoglobin dilepas ke dalam serum dapat mempengaruhi kadar lemak menjadi tinggi palsu (Nugraha, 2017). Menurut Matthew (2019) dampak utama hemolisis pada uji laboratorium adalah peningkatan analit yang ditemukan dalam konsentrasi tinggi dalam eritrosit seperti *aspartat aminotransferase*, *laktat dehidrogenase*, kalium, penurunan peptida misalnya insulin, karena aksi protease eritrosit, atau gangguan pada pembacaan spektrofotometr (Krasowski, 2019). Penelitian Claire Konsekuensi utama hemolisis adalah konsentrasi intraseluler yang tinggi seperti *aspartat aminotransferase* (AST), *laktat dehidrogenase* (LDH), dan kalium, dapat meningkat secara palsu dengan adanya hemolisis (Knezevic *et al.*, 2020).

Berdasarkan uraian tersebut, jelas bahwa kualitas serum sangat menentukan keberhasilan pemeriksaan dan kesalahan praanalitik berupa pemrosesan darah yang belum membeku sempurna berpotensi menghasilkan hasil yang keliru. Oleh karena itu, peneliti ingin

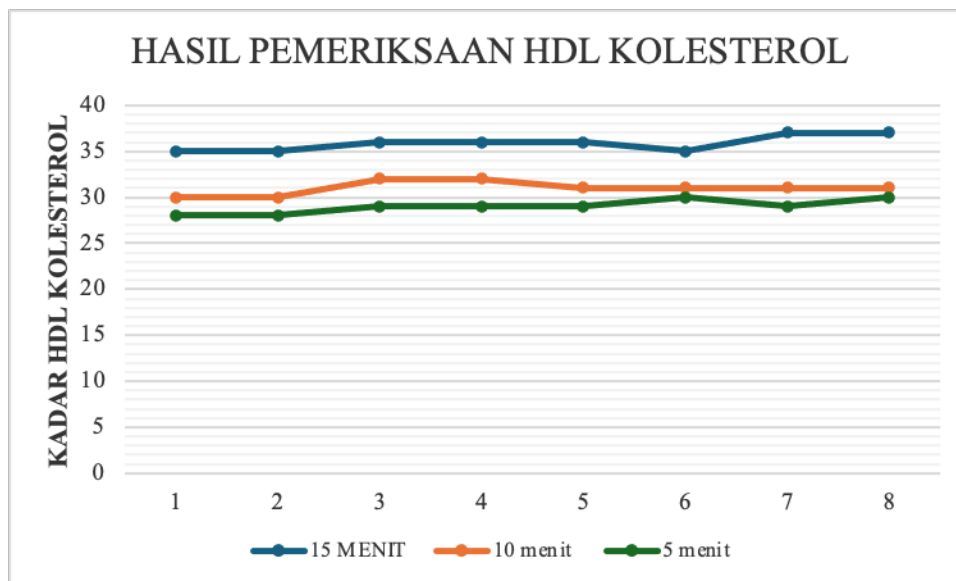
menilai pengaruh darah yang belum membeku sempurna terhadap kadar HDL-C menjadi sangat relevan untuk dilakukan. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan bukti empiris mengenai sejauh mana praktik praanalitik tersebut memengaruhi hasil pemeriksaan HDL-C, sekaligus menjadi dasar bagi laboratorium untuk memperketat prosedur penanganan sampel sesuai standar yang berlaku.

### **B. Metodologi Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian kuantitatif dengan metode eksperimental dan pendekatan cross sectional. Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui perbedaan variasi waktu pembuatan serum terhadap kadar HDL kolesterol. Penelitian dilaksanakan di Universitas Pelita Harapan pada bulan Juli tahun 2025. Jumlah sampel minimum yang digunakan dengan tiga kali pengulangan adalah 24 sampel, yang dihitung berdasarkan rumus Federer:  $(t-1)(n-1) \geq 15$ , di mana  $t$  merupakan jumlah perlakuan (dalam penelitian ini terdapat tiga perlakuan, yaitu waktu pembuatan serum selama 5 menit, 10 menit, dan 15 menit), dan  $n$  adalah jumlah pengulangan. Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi photometer 401, spuit, tourniquet, kapas alkohol 70%, tisu, tabung vakum merah, mikropipet, tip kuning, dan tip biru. Bahan yang digunakan berupa darah vena yang diambil dari responden penelitian. Prosedur pembuatan serum dilakukan dengan cara memasukkan sampel darah vena ke dalam tiga tabung berbeda. Tabung pertama didiamkan selama 5 menit, tabung kedua selama 10 menit, dan tabung ketiga selama 15 menit. Setelah waktu inkubasi selesai, seluruh tabung disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 15 menit. Lapisan cairan bening di bagian atas (serum) kemudian diambil dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi bersih untuk dijadikan spesimen pemeriksaan kadar HDL kolesterol. Data hasil pemeriksaan dianalisis menggunakan program *Statistical Product and Service Solutions* (SPSS). Analisis dilakukan melalui dua tahap, yaitu uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk* karena jumlah sampel kurang dari 50. Apabila data berdistribusi normal, analisis dilanjutkan menggunakan uji *Paired t-test* (parametrik), sedangkan jika data tidak berdistribusi normal, digunakan uji *Wilcoxon Signed Rank* test (non-parametrik) sebagai alternatif.

### **C. Pembahasan dan Analisa**

Data yang digunakan dalam penelitian ini adalah data primer dari hasil pemeriksaan kadar HDL kolesterol dengan melakukan tiga perlakuan yaitu darah dibekukan 15 menit, darah dibekukan 10 menit, dan darah dibekukan 5 menit sebelum disentrifuse. Berikut hasil penelitian akan dijelaskan dalam bentuk analisis univariat dan bivariat.



Gambar 1. Grafik kadar HDL kolesterol pada variasi waktu (5 menit, 10 menit, dan 15 menit).

Berdasarkan hasil uji statistik pada tabel 4 diperoleh hasil rata-rata kadar HDL Kolesterol darah yang dibekukan 15 menit sebelum disentrifus sebesar 35,88 mg/dL. Kadar HDL Kolesterol serum darah yang dibekukan 10 menit sebelum disentrifus diperoleh hasil rata-rata sebesar 31,00 mg/dL. Kadar HDL Kolesterol serum darah yang dibekukan 5 menit sebelum disentrifus diperoleh hasil rata-rata sebesar 29,00 mg/dL.

Tabel 1. Hasil Uji Paired Samples Test Perbedaan Kadar HDL Kolestrol

Pasangan Variabel	Mean Difference ± SD	p-value
Pembekuan 15 menit – pembekuan 10 menit	4.875 ± 0.835	0.000*
Pembekuan 15 menit – pembekuan 5 menit	6.875 ± 0.835	0.000*

Ket. \*terdapat perbedaan yang signifikan

Analisis ini digunakan untuk mengetahui perbedaan kadar HDL Kolesterol berdasarkan variasi waktu pembuatan serum menggunakan uji statistik *Paired T Test*. Syarat uji statistik *Paired T Test* data harus terdistribusi normal. Hasil uji normalitas kadar HDL Kolesterol pada darah yang dibekukan 15 menit, 10 menit, dan 5 menit sebelum disentrifus menggunakan *Shapiro-wilk*. Data yang diperoleh terdistribusi normal, diperoleh *p*-value sebesar 0,067 pada darah yang dibekukan selama 15 menit sebelum disentrifus. *p*-value sebesar 0,093 pada darah yang dibekukan selama 10 menit sebelum disentrifus. *p*-value 0,093 pada darah yang dibekukan selama 5 menit sebelum disentrifus. Data tersebut terdistribusi normal, dengan nilai  $p > 0,05$ . Data yang diperoleh dilanjutkan dengan uji *Paired T-Test* diperoleh *p*-value sebesar  $0,000 < 0,05$  pada kadar HDL Kolesterol dengan sampel darah yang dibekukan 15 menit dan 10 menit sebelum disentrifus. *p*-value  $0,000 < 0,05$  pada kadar HDL Kolesterol dengan sampel darah yang dibekukan 15 menit dan 5 menit sebelum disentrifus, sehingga terdapat perbedaan kadar HDL Kolesterol berdasarkan variasi waktu pembuatan serum.

Laboratorium klinik memiliki peranan yang sangat penting dalam mendukung pengambilan keputusan medis. Sekitar 60–70% keputusan klinis penting, seperti penentuan terapi, pemulangan pasien, maupun penerimaan pasien baru, didasarkan pada hasil

pemeriksaan laboratorium (Najat, 2017). Dengan kontribusi sebesar ini keakuratan hasil pemeriksaan laboratorium menjadi faktor yang sangat krusial dalam menunjang kualitas pelayanan kesehatan (Zhang *et al.*, 2014). Salah satu sumber kesalahan yang cukup sering terjadi dalam proses pemeriksaan laboratorium adalah kesalahan pra-analitik yang berkaitan dengan kondisi spesimen. Koagulasi yang tidak sempurna dilaporkan sebagai penyebab keempat paling umum dari kesalahan berbasis spesimen di laboratorium klinik, setelah hemolisis, volume sampel yang tidak sesuai, dan penggunaan wadah pengumpulan yang tidak tepat, dengan prevalensi sekitar 5–10% dari seluruh kesalahan spesimen (Mehvish Sana *et al.*, 2022).

Beberapa penelitian sebelumnya telah meneliti pengaruh keberadaan fibrin dalam serum terhadap hasil pengukuran parameter biokimia tertentu, terutama yang menggunakan metode immunoassay, seperti pemeriksaan troponin dan hCG. Adanya gumpalan fibrin dapat menyebabkan hasil pengukuran yang tidak akurat karena berbagai mekanisme, seperti berkurangnya volume sampel efektif, tersumbatnya probe pengambilan sampel, serta gangguan pada proses reaksi analitik (Knezevic *et al.*, 2020). Selain itu, fibrin juga dapat mengikat enzim indikator atau berinteraksi secara nonspesifik dengan antibodi reagen, yang akhirnya menurunkan sensitivitas dan akurasi hasil pemeriksaan (Lippi *et al.*, 2006). Beberapa laporan juga menyebutkan bahwa fibrin dapat berikatan silang dengan antibodi uji, sehingga memengaruhi hasil pengukuran troponin. Upaya untuk mengurangi efek tersebut dapat dilakukan melalui sentrifugasi ulang sampel, yang terbukti mampu menurunkan pengaruh fibrin terhadap hasil uji. Jumlah fibrin yang berbeda pada tiap sampel dapat menyebabkan variasi tingkat penurunan sinyal luminesensi dan pada akhirnya memengaruhi nilai hasil pemeriksaan (Gigante *et al.*, 2025).

Pada penelitian ini, diperoleh hasil bahwa pemeriksaan kadar HDL kolesterol pada serum darah yang dibekukan selama 10 menit dan 5 menit sebelum disentrifugasi menunjukkan nilai yang lebih rendah dibandingkan dengan serum yang dibekukan selama 15 menit. Perbedaan ini diduga berkaitan erat dengan proses pembekuan yang belum sempurna pada sampel yang hanya dibekukan selama 5–10 menit. Lestari (2017) menyatakan bahwa darah yang langsung disentrifugasi tanpa melalui proses pembekuan yang memadai akan menghasilkan lebih sedikit serum daripada darah yang telah dibekukan sebelumnya. Ini terjadi karena proses koagulasi yang tidak sempurna. Karena fibrinogen belum berubah sepenuhnya menjadi fibrin, sebagian protein dan lipid tetap terperangkap dalam matriks fibrin. Akibatnya, lemak yang seharusnya terlepas dari serum tetap terikat di dalam bekuan darah, yang mengakibatkan penurunan kadar lipid, termasuk kolesterol HDL (Lestari *et al.*, 2107).

Proses pra-analitik memiliki pengaruh yang sangat besar terhadap hasil pemeriksaan kimia darah, terutama pada parameter lipid seperti HDL kolesterol. Sampel yang tidak menjalani proses pembekuan sesuai Standar Operasional Prosedur (SOP) berpotensi menghasilkan serum dengan volume dan komposisi kimia yang tidak optimal (Mowendu *et al.*, 2025). Kondisi tersebut berdampak pada ketidakakuratan hasil pengukuran, terutama jika masih terdapat sisa fibrin dalam serum yang dapat mengikat atau menghambat pelepasan komponen lemak. Waktu pembekuan selama 15 menit sebelum proses sentrifugasi terbukti memberikan hasil yang lebih optimal dibandingkan dengan waktu pembekuan yang lebih singkat. Hal ini sejalan dengan pendapat Nugraha (2015) yang menyatakan bahwa pembekuan darah sebelum sentrifugasi bertujuan untuk memastikan semua cairan serum dapat terpisah sempurna dari bekuan dan kandungan lemak dapat terurai dengan baik bersama serum. Nugraha (2017) juga menegaskan bahwa serum diperoleh dari spesimen darah tanpa antikoagulan, yang akan membeku secara alami dalam waktu 15–30 menit sebelum disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit untuk memisahkan komponen seluler dari cairan serum (Nugraha, 2017). Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa

ketidaktepatan proses pembekuan darah sebelum sentrifugasi berpotensi menimbulkan adanya fibrin residu dalam serum, yang selanjutnya dapat menyebabkan hasil pengukuran kadar HDL kolesterol menjadi lebih rendah. Oleh karena itu, kepatuhan terhadap prosedur pra-analitik, khususnya dalam hal waktu pembekuan dan penanganan sampel, menjadi faktor penting dalam menjamin keandalan hasil pemeriksaan kimia klinik

#### D. Penutup

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis menggunakan uji *Paired Sample T-Test* dengan SPSS, kadar HDL kolesterol menunjukkan perbedaan bermakna antara sampel yang dibekukan 15 menit dibandingkan dengan 10 menit dan 5 menit sebelum disentrifus ( $p$ -value  $0,000 < 0,05$ ). Hasil ini menegaskan bahwa waktu pendiaman sampel darah berpengaruh signifikan terhadap kadar HDL kolesterol yang diperoleh.

#### Daftar Pustaka

- Gigante, B., Chen, Q., Björkbacka, H., Björnson, E., Brinck, J., Chorell, E., Djekic, D., Edsfieldt, A., Engström, G., Eriksson, J.W., Gottsäter, A., Gummesson, A., Hagström, E., Hedin, U., Jernberg, T., Johnston, N., Nilsson, L., Nyström, F., Otten, J., Rosengren, A., Söderberg, S., Haglöw, J.T., Östgren, C.J., 2025. Lipoproteins and lipoprotein lipid composition are associated with stages of dysglycemia and subclinical coronary atherosclerosis. *Int. J. Cardiol.* 419. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2024.132698>
- Kjeldsen, E.W., Nordestgaard, L.T., Frikke-Schmidt, R., 2021. Hdl cholesterol and non-cardiovascular disease: A narrative review. *Int. J. Mol. Sci.* 22. <https://doi.org/10.3390/ijms22094547>
- Knezevic, C.E., Ness, M.A., Hoi, P., Tsang, T., Tenney, B.J., Marzinke, M.A., 2020. Clinica Chimica Acta Establishing hemolysis and lipemia acceptance thresholds for clinical chemistry tests. *Clin. Chim. Acta* 510, 459–465. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2020.08.004>
- Krasowski, M.D., 2019. Educational Case: Hemolysis and Lipemia Interference With Laboratory Testing. *Acad. Pathol.* 6. <https://doi.org/10.1177/2374289519888754>
- Lestari, E. tri, Santosa, B., Sukeksi, A., 2107. Perbedaan kadar trigliserida serum dari darah yang di bekukkan sebelum dicentrifuge dan langsung dicentrifuge. Universitas Muhammadiyah Semarang.
- Lippi, G., Salvagno, G.L., Montagnana, M., Brocco, G., Guidi, G.C., 2006. Influence of hemolysis on routine clinical chemistry testing. *Clin. Chem. Lab. Med.* 44, 311–316. <https://doi.org/10.1515/CCLM.2006.054>
- Mehvish Sana, Shoaib Liaquat, Syeda Sabahat Haidar, Muhammad Tariq Ghafoor, 2022. Effect of delayed serum separation on various chemistry analytes. *Prof. Med. J.* 29, 1789–1792. <https://doi.org/10.29309/tpmj/2022.29.12.7178>
- Mowendu, H.E., Parwati, P.A., Ketut, N., Mirayanti, A., 2025. Perbedaan Kadar Kolesterol Serum Darah yang Dibekukan Sebelum Dicentrifuge dan Langsung Dicentrifuge meneliti “ Perbedaan Kadar Kolesterol Serum Darah yang Dibekukan dan Langsung Disentrifugasi ” guna memahami pengaruh perlakuan pra -analitik terhadap aku.
- Najat, D., 2017. Prevalence of pre-analytical errors in clinical chemistry diagnostic labs in Sulaimani City of Iraqi Kurdistan. *PLoS One* 12, 1–13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170211>
- Nugraha, G., 2017. Panduan Pemeriksaan Laboratorium Hematologi Dasar, 2nd ed. CV.Trans Info Media, Jakarta.

- Reichstein, E., 2003. The Importance of Preanalytical Factors in Immunodiagnostic Testing by. *J. Int. Fed. Clin. Chem. Lab. Med.* 14, 124–127.
- Yavuz, H.B., 2021. Case Report Erroneously high troponin measurement caused by fibrin clot : Two cases 4, 208–210. <https://doi.org/10.14744/ijmb.2021.64872>
- Zhang, D.J., Elswick, R.K., Miller, W.G., Bailey, J.L., 2014. Effect of serum-clot contact time on clinical chemistry laboratory results. <https://doi.org/10.1093/clinchem/44.6.1325>