

**PERBEDAAN METODE DIREK (*PRESIPITASI*) DAN
METODE INDIREK (*FORMULA FRIDEWALD*)
TERHADAP PARAMETER
LDL KOLESTEROL**

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat menyelesaikan
Pendidikan Diploma IV Kesehatan
Program Studi Analis Kesehatan



**PROGRAM STUDI D IV ANALIS KESEHATAN
FAKULTAS ILMU KEPERAWATAN DAN KESEHATAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SEMARANG**

2016

HALAMAN PERSETUJUAN

Skripsi dengan judul “Perbedaan metode direk (*preipitasi*) dan indirek (*formula fridewald*) terhadap parameter LDL Kolesterol” oleh Ririn Damayanti (NIM : G01C02008)

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan DIV
Kesehatan Program Study Analis Kesehatan

Telah disetujui oleh :

Pembimbing I

Pembimbing II

Herlisa Anggraini, SKM, M.Si, Med

NIK. 28.6.1026.014

Andri Sukeksi, SKM, M.Si

NIK. 28.6.1026.024

Mengetahui,

Ketua Program Studi DIV Analis Kesehatan

Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan



Dra. Sri Sinto Dewi, M.Si, Med

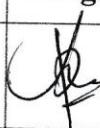
NIK. 28.6.1026.034

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini telah diajukan pada sidang Ujian Jenjang Pendidikan Tinggi Diploma IV Kesehatan Bidang Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang.

Semarang, September 2016

Susunan Tim Pengaji :

No	Nama	Nara Sumber	Tanda Tangan	Tanggal ttd
1.	Tulus Ariyadi, SKM, M.Si	Pengaji I		22/9/2016
2.	Herlisa Anggraini, SKM, M.Si. Med	Pengaji II		22/9/2016
3.	Andri Sukeksi, SKM, M.Si	Pengaji III		23/9/2016

**PERBEDAAN METODE DIREK (*PRESIPITASI*) DAN METODE INDIREK
(*FORMULA FRIDEWALD*) TERHADAP
PARAMETER LDL KOLESTEROL**

Ririn Damayanti¹, Herlisa Anggraini², Andri Sukeksi³

1. Program studi D IV Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang,
2. Laboratorium Patologi Klinik Universitas Muhammadiyah Semarang,
3. Balai Laboratorium Kesehatan Provinsi Jawa Tengah.

ABSTRAK

LDL merupakan pengangkut kolesterol terbesar dalam darah, kolesterol disebarluaskan keseluruh sel – sel jaringan tubuh dan pembuluh darah dalam bentuk LDL. Metode pemeriksaan LDL Kolesterol,dapat dibagi menjadi 2 yaitu Metode metode indirek (*Formula Fridewald*)pemeriksanya memerlukan parameter lain yaitu kolesterol, trigliserida dan HDL kolesterol, karena merupakan suatu perhitungan ketepatannya sangat tergantung pada pemeriksaan ketiga parameter tersebut, dan berkembangnya waktudiperkenalkan suatu metode baru dalam menentukan kadar LDL kolesterol metode direk (*presipitasi*) keuntungan metode direk (*presipitasi*) ini adalah kemampuan otomatis penuh dalam mengukur kadar LDL kolesterol secara langsung. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui bagaimana perbedaan metode indirek (*formula friedwald*) dan metode direk (*presipitasi*) terhadap parameter LDL Kolesterol. Metode penelitian yang di gunakan adalah analitik komperatif. 30 sampel yang di teliti didapatkan rata – rata kadar LDL kolesterol metode direk (*presipitasi*) 149 mg/dl dan metode indirek (*formula fridewald*) 142 mg/dl. Berdasarkan perhitungan statistik uji beda paired t-test didapatkan $t = 5,349$ dan $p = 0,000$ karena $p < 0,05$ maka dapat disimpulkan ada perbedaan kadar LDL kolesterol yang bermakna antara metode direk (*presipitasi*) dan indirek (*formula fridewald*).

Kata kunci : **LDL Kolesterol, metode direk (*presipitat*, metode indirek (*formula fridewald*)**

**DIFFERENCE METHOD DIREK (PRECIPITATION) AND METHOD
INDIRECT (FORMULA FRIDEWALD) ON PARAMETERS
LDL CHOLESTEROL**

Ririn Damayanti¹, Herlisa Anggraini², Andri Sukeksi³

1. Medical Laboratory Study Program of Health and Nursing Faculty Muhammadiyah University of Semarang
2. Clinics Pathology Laboratory at Health and Nursing Faculty Muhammadiyah University of Semarang
3. Health Laboratory of Central Java Province

ABSTRACT

LDL cholesterol is the largest carrier in the blood, cholesterol dispersed throughout the cell - tissue cells and blood vessels in the form of LDL .LDL Cholesterol inspection methods , can be divided into 2 of the method of indirect methods (Formula Fridewald) examination requires another parameter , namely cholesterol , triglycerides and HDL cholesterol , because it is a calculation accuracy is highly dependent on the examination of three parameters and the development time introduced a new method of determining the levels of LDL cholesterol direk method (precipitation) profit direk method (precipitation) are full automatic capability to measure the levels of LDL cholesterol directly. the purpose of this study is to see how changes to the indirect method (formula friedwald) and direk method (precipitation) of the parameters of LDL cholesterol .The research method used is a comparative analytic.30 samples obtained in meticulous average - average levels of LDL cholesterol direk method (precipitation) 149 mg / dl and indirect methods (formula fridewald) 142 mg / dl.Based on statistical calculations of different test paired t -test obtained $t = 5.349$ and $p = 0.000$ for $p < 0.05$, it can be concluded that there are differences in the levels of LDL cholesterol significantly between direk method (precipitation) and indirect (formula fridewald) .

Keywords :LDL Cholesterol , direk method (precipitates , the indirect method (formula fridewald)

HALAMAN PENYATAAN ORIGINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa :

1. Skripsi ini asli dan belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik (sarjana), baik di Universitas Muhammadiyah Semarang maupun di perguruan tinggi lain.
2. Skripsi ini murni gagasan, rumusan, dan penelitian saya sendiri, tanpa bantuan pihak lain, kecuali arahan Tim Pembimbing dan masukan Tim Pengaji.
3. Dalam skripsi ini tidak terdapat karya atau pendapat yang telah ditulis atau dipublikasikan orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai sumber acuan dengan disebutkan nama pengarang dan di cantumkan dalam daftar pustaka.
4. Penyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan apabila dikemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidakbenaran dalam penyataan ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar yang telah diperoleh, serta sanksi lainnya sesuai dengan norma yang berlaku di perguruan tinggi ini.

Semarang, September 2016



Ririn Damayanti
NIM. G1C012008

DAFTAR RIWAYAT HIDUP

Nama : Ririn Damayanti
Tempat, Tanggal Lahir : Wanakarta, 03 Januari 1994
Alamat : Desa Wanakarta kecamatan Waeapo
E-mail/Telp : ririn.damayanti30@gmail.com/08222596113
Agama : Islam
Nama ayah : Daeng Patang
Nama ibu : Muslimah
Saudara kandung : 2 (Siti Aisyah)
(Ricky Yanto)
Riwayat Pendidikan :
a. SD Inpres Unit V (2000 - 2006)
b. SMP Negeri 4 Mako (2006 - 2009)
c. SMA Negeri 3 Waeapo (2009 - 2012)

KATA PENGANTAR

Segala puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan segala rahmat, hidayah dan inayah-nya, sholawat dan salam kepada junjungan kita Baginda Rasulullah SAW beserta keluarga dan para sahabatnya, sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir yang berjudul **“Perbedaan Metode Direk (presipitasi) dan Metode Indirek (formula fridewald) terhadap parameter LDL Kolesterol”**.

Penyusunan skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan Diploma IV Analis Kesehatan di Universitas Muhammadiyah Semarang 2016.

Penulis menyadari bahwa terselesaiannya Tugas Akhir ini tidak lepas dari bimbingan, dukungan dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu pada kesempatan ini, penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Herlisa Anggraini, SKM, M.Si. Med selaku pembimbing I dan Andri Sukeksi, SKM, M.Si selaku pembimbing II yang telah meluangkan waktu, tenaga, pikiran untuk membimbing dan memberikan pengarahan serta saran dalam penulisan proposal skripsi ini,
2. Dra. Sri Sinto, M.Si, Med. Selaku Kepala program Studi DIV Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang,
3. Balai laboratorium kesehatan semarang dan assisten karyawan laboratorium kimia Klinik Universitas Muhammadiyah Semarang yang telah membantu dan memberikan dukungan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini,
4. Ibunda, ayahanda dan kakak - kakak tersayang, yang selalu mendoakan dan memberikan dukungan moral dan material sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini,
5. Indra Selamet Santoso dan Teman-teman seangkatan 2012 atas persahabatan, persaudaraan, motivasi, dan kerjasamanya.

Penulis menyadari masih banyak ketidak sempurnaan dan kekurangan dalam penulisan tugas akhir ini. Kritik dan saran yang membangun. Semoga tuga akhir ini dapat bermanfaat bagi para pembaca.

Semarang, September 2016

Ririn Damayanti



DAFTAR ISI

Nomor		Halaman
Halaman Judul		i
Halaman Persetujuan		ii
Halaman Pengesahan.....		iii
Abstrak.....		iv
Surat Pernyataan Originalitas		vi
Daftar Riwayat Hidup		vii
Kata Pengantar		viii
Daftar Isi.....		x
Daftar Tabel.....		xiii
Daftar Gambar		xiv
Daftar Lampiran		xv
BAB I. PENDAHULUAN		
1.1. Latar Belakang		1
1.2. Rumusan Masalah		3
1.3. Tujuan Penelitian.....		3
1.4. Manfaat Penelitian.....		4
1.5. Orisinitas Penelitian.....		5
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA		
2.1. lipid		6
2.2. Jenis – jenis Lipid		6
2.2.1. Kolesterol Total.....		6
2.2.2. Trigliserida		7
2.2.3. HDL		7
2.2.4. LDL		7
2.3. Pengertian LDL Kolesterol		8

2.3.1. Pemeriksaan LDL Kolesterol	8
2.3.1.1. Metode Indirek (secara tidak langsung)	9
2.3.1.2. Metode Direk (secara langsung)	11
2.4. Kerangka Teori.....	13
2.5. Kerangka Konsep	14
2.6. Hipotesis.....	14

BAB III. METODE PENELITIAN

3.1. Jenis Penelitian.....	15
3.2. Desain Penelitian.....	15
3.3. Variabel Penelitian	15
3.4. Definisi Operasional.....	15
3.5. Populasi dan sampel Penelitian	16
3.5.1. Populasi Penelitian	16
3.5.2. Besar Sampel	16
3.6. Alat dan bahan	16
3.6.1. Alat Pemeriksaan.....	16
3.6.2. Bahan Pemeriksaan	17
3.7. Prosedur Penelitian	17
3.7.1 Pengambilan Sampel Darah Vena.....	17
3.7.2. Pembuatan Serum.....	17
3.7.3. Pemeriksaan LDL Kolesterol Metode Indirek	18
3.7.3.1. Pemeriksaan Total Kolesterol	18
3.7.3.2. Pemeriksaan HDL Kolesterol	18
3.7.3.3. Pemeriksaan Trigliserida	18
3.7.4. Prosedur Pemeriksaan LDL Kolesterol Metode Direk	19
3.7.4.1. pembuatan Presipitasi.....	19
3.7.4.2. Pembuatan sampel	19

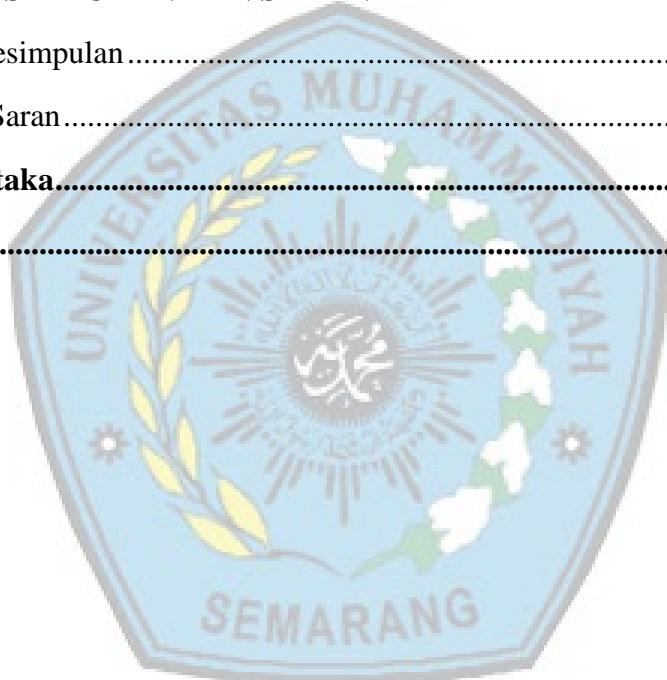
3.8. Alur Penelitian.....	20
3.9. Teknik Pengumpulan Data dan Analisis Data.....	20
3.10. Tempat dan Waktu	21

BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1.Hasil penelitian	22
4.2.Pembahasan	23

BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1.Kesimpulan.....	24
5.2.Saran.....	24
Daftar Pustaka.....	25
Lampiran	27



DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
Tabel 1. Orisinalitas	5
Tabel 2. Definisi Operasional	15



DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
Gambar 1.Diagram Hasil Pemeriksaan LDL Kolesterol.....	22



DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
Lampiran 1. Hasil Pemeriksaan LDL Kolesterol Metode Direk.....	27
Lampiran 2. Hasil Pemeriksaan LDL Kolesterol Metode Indirek	28
Lampiran 3. Perhitungan SPSS	36
Lampiran 4. Prosedur Pemeriksaan	38
Lampiran 5. Dokumentasi penelitian	43



BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Kolesterol adalah zat lemak yang beredar dalam darah, diproduksi oleh hati dan sangat diperlukan oleh tubuh, tetapi kolesterol berlebih akan menimbulkan masalah terutama pada pembuluh darah jantung dan otak. Kolesterol yang diproduksi terdiri atas 2 jenis yaitu kolesterol HDL (*high density lipoprotein*) dan kolesterol LDL (*low density lipoprotein*) bila jumlahnya berlebih, dalam darah akan diendapkan pada dinding pembuluh darah dan membentuk bekuan yang dapat menyumbat pembuluh darah, sedangkan HDL kolesterol, mempunyai fungsi membersihkan pembuluh darah dari LDL kolesterol yang berlebihan (Fikri, 2009).

LDL merupakan pengangkut kolesterol terbesar dalam darah, kolesterol disebarluaskan ke seluruh sel – sel jaringan tubuh dan pembuluh darah dalam bentuk LDL. LDL kolesterol juga merupakan lipoprotein berkepadatan rendah yang dapat menembus *tunica intima* serta mempunyai sifat melekat pada dinding pembuluh darah yang dapat menyebabkan timbulnya benjolan-benjolan yang berisikan LDL kolesterol (Tanno, dkk, 2010).

LDL mengandung paling banyak kolesterol dari semua lipoprotein, sel hati memproduksi kolesterol dalam tubuh, kemudian disebarluaskan oleh sistem tubuh, LDL kolesterol dalam darah ke jaringan-jaringan tubuh (Soeharto, 2004).

Metode yang banyak digunakan dalam pengukuran kadar LDL kolesterol yaitu metode indirek (*Formula Fridewald*) (Can, dkk, 2009), dengan berkembangnya waktu diperkenalkan suatu metode baru dalam menentukan kadar LDL kolesterol metode direk (*presipitasi*). Keuntungan metode direk (*presipitasi*) ini adalah kemampuan otomatis penuh dalam mengukur kadar LDL kolesterol secara langsung (Putra, 2012).

Metode formula fridewald memerlukan parameter lain yaitu kolesterol, triglycerida dan HDL kolesterol, karena merupakan suatu perhitungan ketepatannya sangat tergantung pada pemeriksaan ketiga parameter tersebut. Metode formula fridewald tidak dapat diukur bila kadar triglycerida >400 mg/dl, karena unsur lipid yang ada dapat mengganggu hasil kadar LDL kolesterol yang sesungguhnya. Metode formula fridewald masih banyak digunakan karena bila klinisi meminta kolesterol, triglycerida dan HDL kolesterol maka kadar LDL kolesterol cukup didapat dengan rumus fridewald (Williamson AM & Synder LM, 2011).

Selain metode indirek (*formula fridewald*) ada juga metode direk (*presipitasi*) yang digunakan untuk mengukur kadar LDL kolesterol. Metode direk dapat langsung mengukur kadar LDL kolesterol, tanpa perlu memeriksa kolesterol, triglycerida dan HDL kolesterol. Metode direk menguntungkan bagi permintaan LDL kolesterol secara tunggal (Tanno, dkk, 2010).

Pentingnya pemeriksaan kadar LDL kolesterol dengan menggunakan 2 metode direk (*presipitasi*) dan metode indirek (*formula fridewald*) dan adanya penelitian terdahulu yaitu Estiani Widiastuti dengan menggunakan metode indirek

(*fridewald*) dan metode direk (*homogenous assay*) dan hasil penelitian kadar LDL kolesterol metode direk lebih tinggi dibandingkan dengan kadar LDL kolesterol metode indirek.

Berdasarkan penelitian terdahulu mendorong peneliti ingin melanjutkan penelitian selanjutnya dengan menggunakan metode indirek (*fridewald*) dan direk (*presipitasi*).

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang ada, maka masalah yang akan di kaji pada penelitian ini adalah apakah ada perbedaan kadar LDL kolesterol dengan menggunakan metode indirek (*formula fridewald*) dan metode direk (*presipitasi*)?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui bagaimana perbedaan kadar LDL – Kolesterol dengan menggunakan metode indirek (*formula fridewald*) dan metode direk (*presipitasi*).

1.3.2. Tujuan Khusus

1. Mengukur kadar LDL kolesterol menggunakan metode direk (*presipitasi*).
2. Mengukur kadar LDL kolesterol menggunakan metode indirek (*formula fridewald*).
3. Menganalisa perbedaan kadar LDL Kolesterol metode direk (*presipitasi*) dan metode indirek *formula fridewald*.

1.4. Manfaat Penelitian

Diharapkan dari penelitian ini dapat memberikan informasi :

1.4.1. Bagi Peneliti

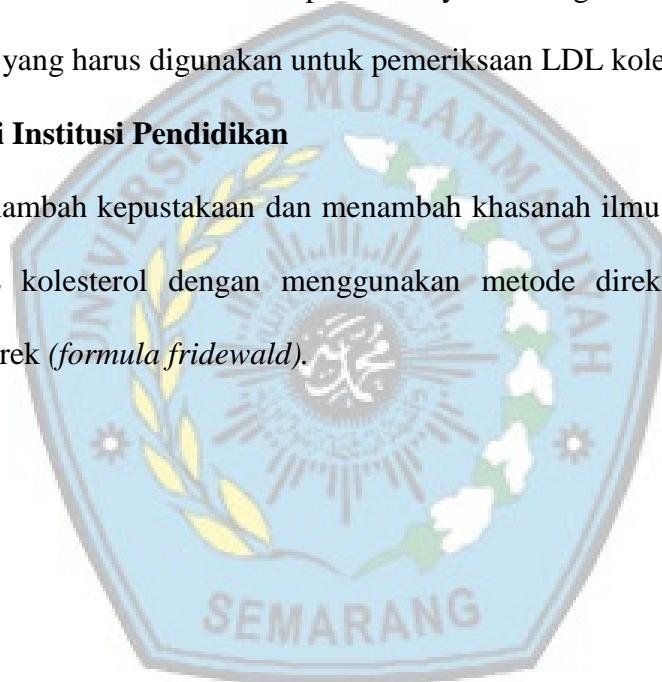
Menambah wawasan dan pengetahuan dalam penerapan ilmu, khususnya tentang metode yang digunakan pada pemeriksaan LDL kolesterol.

1.4.2. Bagi Masyarakat

Memberikan informasi kepada masyarakat agar mengetahui tentang metode apa yang harus digunakan untuk pemeriksaan LDL kolesterol.

1.4.3. Bagi Institusi Pendidikan

Menambah kepustakaan dan menambah khasanah ilmu tentang perbedaan kadar LDL kolesterol dengan menggunakan metode direk (*presipitasi*) dan metode indirek (*formula fridewald*).



1.5. Orisinilitas Penelitian

Penelitian – penelitian yang pernah dilakukan terkait dengan pemeriksaan LDL kolesterol dengan metode direk dan metode indirek.

Tabel 1. Keaslian Penelitian

No	Nama peneliti	Judul peneliti	Penerbit(tahun)	Hasil penelitian
1.	Estiani Widiastuti	Perbedaan kadar LDL kolesterol dengan metode direk(<i>homogeneous assay</i>) dan indirek (<i>fridewald</i>) pada penderita diabetes melitus	Program pendidikan spesialis (PPDS – 1) bagian patologi klinik.Fk Undip/Rs.Kariadi Semarang (2003)	Kadar serum LDL kolesterol metode direk lebih tinggi dibandingkan dengan metode indirek pada penderita diabetes melitus.
2.	Kevin Yonathan Widianto,dkk	Perbandingan nilai LDL kolesterol indirek dan direk pada kadar trigliserida <200 mg/dl dan antara 200 – 400 mg/dl.	Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha (2013)	Pada kadar trigliserida <200 mg/dl terdapat kesesuaian nilai LDL kolesterol indirek dan direk,pada kadar trigliserida antara 200 – 400 mg/dl terdapat ketidaksesuaian antar nilai LDL indirek dan direk.

Perbedaan yang terdapat antara penelitian sebelumnya dengan penelitian yang akan dilakukan ini yaitu pada peneliti sebelumnya menggunakan metode direk (*homogeneous assay*) sedangkan metode yang akan digunakan penlit yaitu direk (*presipitasi*).

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Lipid

Profil lipid adalah unsur – unsur lemak dalam plasma yang terdiri dari kolesterol, trigliserida, fosfolipid dan asam lemak bebas. Tiga unsur yang pertama berkaitan dengan protein tertentu (Apoprotein) membentuk lipoprotein yang kilomikron, VLDL (*very low density lipoprotein*), LDL (*low density lipoprotein*) dan HDL (*high desnsity lipoprotein*) masing-masing mempunyai unsur lemak dengan kandungan yang berbeda. Ikatan ini memungkinkan asam lemak dapat larut dalam darah dan kemudian dikirim keseluruh tubuh. Penetapan kadar lipid darah dalam plasma dilakukan dengan mengukur kadar total kolesterol, HDL kolesterol, LDL kolesterol dan trigliserida. Profil lipid pada umumnya diperiksa setelah subyek puasa 10-12 jam (Kee JL, 2008).

2.2. Jenis – jenis Lipid

Menurut Kee JL, 2008 jenis lipid yang penting dalam tubuh, terbagi sebagai berikut :

2.2.1. Kolesterol Total

Kolesterol adalah alkohol steroid, semacam lemak yang ditemukan dalam lemak hewani, minyak, empedu, susu, kuning telur, yang sebagian besar disintesis oleh hati dan sebagian kecil diserap oleh diet. Keberadaan dalam pembuluh darah pada kadar tinggi akan cenderung membuat endapan atau kristal / lempengan yang akan menyumbat darah(Kee JL, 2008).

2.2.2. Trigliserida

Trigliserida adalah salah satu lemak bukan kolesterol dalam darah dan berbagai organ tubuh. Trigliserida merupakan substansi yang terdiri dari gliserol yang mengikat gugus asam lemak. Makan-makanan yang mengandung lemak akan meningkatkan kadar trigliserida dalam darah dan cenderung meningkatkan kadar kolesterol. Lemak yang berasal dari buah-buahan seperti kelapa, durian, dan alpukat tidak mengandung kolesterol tetapi kadar trigliserida dalam darah tinggi. Sejumlah faktor mempengaruhi kadar trigliserida dalam darah seperti kegemukan, konsumsi lemak, konsumsi gula biasa dan konsumsi alkohol (Kee JL, 2008).

2.2.3. HDL

HDL merupakan salah satu dari tiga komponen lipoprotein yaitu kombinasi lemak dan protein, mengandung kadar protein tinggi, sedikit trigliserida dan fosfolipid, mempunyai sifat umum protein dan terdapat pada plasma darah, disebut juga lemak baik yang membantu membersihkan penimbunan plak pada pembuluh darah (Kee JL, 2008).

2.2.4. LDL

LDL adalah lipoprotein dalam plasma yang mengandung sedikit trigliserida, fosfolipid sedang dan kolesterol tinggi. LDL mengandung paling banyak kolesterol dari semua lipoprotein dan merupakan pengirim kolesterol utama dalam darah. Sel-sel tubuh memerlukan kolesterol untuk bisa tumbuh dan berkembang sebagaimana mestinya. Sel-sel tubuh memperoleh kolesterol dari LDL. Jumlah kolesterol yang bisa diserap oleh sebuah sel ada batasanya, Oleh

karena itu makan banyak lemak jenuh atau makanan yang mengandung kolesterol tinggi akan mengakibatkan kadar kolesterol dalam darah tinggi (Kee JL, 2008).

2.3. Pengertian LDL Kolesterol

LDL kolesterol merupakan lipoprotein berkepadatan rendah yang dapat menembus *tunica intima* serta mempunyai sifat melekat pada dinding pembuluh darah yang dapat menyebabkan timbulnya benjolan-benjolan yang berisikan LDL kolesterol (Tanno,dkk, 2010).

LDL berukuran kecil sehingga mudah masuk ke pembuluh darah, terutama jika dinding tersebut rusak karena ada beberapa faktor resiko seperti usia, merokok, hipertensi atau faktor keturunan. LDL yang menumpuk membentuk plak lemak sepanjang pembuluh darah bagian dalam, akan menyumbat pembuluh darah sehingga membuat lumennya semakin sempit, keadaan seperti ini sering disebut ateroklorosis, karena darah akan sulit mengalir melalui pembuluh darah sempit sehingga meningkatkan resiko penyakit jantung (Fikri,2009).

LDL mengandung paling banyak kolesterol dari semua lipoprotein, dan merupakan pengirim kolesterol utama dalam darah, sel hati memproduksi kolesterol dalam tubuh, kemudian disebarluaskan oleh sistem tubuh LDL, kolesterol dalam darah ke jaringan-jaringan tubuh (Soeharto, 2004).

2.3.1. Pemeriksaan LDL Kolesterol

Metode pemeriksaan LDL Kolesterol, dapat dibagi menjadi dua yaitu indirek dan direk sebagai berikut :

2.3.1.1. Metode indirek (Secara tidak langsung)

Metode indirek terdapat beberapa teknik pemeriksaan antara lain sebagai berikut:

1. Metode formula fridewald

Validasi suatu formula oleh fridewald dkk telah menghasilkan penggunaan suatu nilai LDL-Kolesterol yang telah dihitung. Prosedur ini konsentrasi total, trigliserida dan HDL-Kolesterol terlebih dahulu diukur dan kemudian konsentrasi LDL-Kolesterol dihitung. Formula tersebut tergantung kepada asumsi bahwa VLDL-C terdapat dalam konsentrasi yang sama dengan seperlima konsentrasi trigliserida. Asumsi ini valid untuk konsentrasi trigliserida > 400 mg/dl, Kemudian akan terjadi inkonsistensi dalam rasio VLDL trigliserida/kolesterol dan formula tersebut tidak dapat digunakan (Kozo dkk, 2010).

Kadar total kolesterol, HDL dan trigliserida dalam darah dapat diketahui dengan tes laboratorium setelah pasien puasa sekurang-kurangnya 10 jam dan sebaiknya 12 jam. Kadar total kolesterol, HDL dan trigliserida umumnya diukur secara fotometri, sedangkan metode yang digunakan untuk pemeriksaan total kolesterol adalah CHOD-PAP, HDL menggunakan metode presipitasi dan trigliserida metodenya GPO-PAP, adapun LDL ditentukan secara tak langsung yakni destinasi memakai rumus yang disusun oleh *Fridewald, Levy dan Fredrickson* (Soeharto,2004).

Pemeriksaan LDL dengan berkembangnya waktu diperkenalkan suatu metode baru dalam menentukan kadar LDL kolesterol yaitu metode direk

(*presipitasi*), yang dikembangkan dari pemeriksaan LDL indirek (*fridewald*) Kelemahan cara indirek (*fridewald*) yaitu, bila kilomikron meninggi, kesalahan menghitung menjadi besar. Pemeriksaan laboratorium, rumus fridewald tidak dapat digunakan bila kadar trigliserida > 400 mg/dl.

Metode formula fridewald banyak digunakan, dimana kolesterol trigliserida dan HDL Kolesterol diukur, kemudian LDL Kolesterol dihitung dengan menggunakan rumus fridewald (Murat, dkk, 2008).

$$\text{LDL kolesterol} = \text{kolesterol total} - \frac{(\text{HDL kolesterol} + \text{Trigliserida})}{5}$$

2. Metode Ultrasentrifugasi

Metode ini dapat memisahkan lipoprotein, pada densitas plasma 1,006 g/ml kilomikron dan VLDL, akan terapung sedangkan LDL dan HDL akan mengendap. Densitas 1,210 g/ml HDL akan mengapung protein plasma yang lain akan mengapung pada densitas diatas 1,3 g/ml, jadi lipoprotein dapat dipisahkan dari protein plasma yang lain dan dari masing-masing lipoprotein dengan ultrasentrifugasi pada densitas tertentu (Young & Bernes, 1996).

3. Metode Elektroforesis

Elektroforesis merupakan salah satu metode untuk memisahkan dan mengukur lipoprotein. Bahan yang digunakan adalah gel agarosa karena sensitif dan dapat memisahkan lipoprotein. lipoprotein yang berpindah berturut-turut HDL > VLDL > LDL. Lipoprotein secara elektroforesis dinamakan sesuai dengan mobilitasnya. LDL (α lipoprotein) bergerak pada daerah α globulin, LDL (β lipoprotein) migrasi pada daerah β globulin dan VLDL (pre- β globulin) pada pre- β globulin (Henry, 1996).

4. Metode Presipitasi Polianion

Metode ini menggunakan lipoprotein dipresipitasi dengan polianion seperti heparin sulfat dan dextran sulfat dengan adanya kation divalen. Presipitasi dipengaruhi oleh konsentrasi reagen, pH, kekuatan ion, adanya protein serum lain, antikoagulan, jumlah lipid dan protein yang ada dalam lipoprotein, kondisi serta lamanya penyimpanan sampel. Masing - masing lipoprotein dapat dipisahkan dengan metode presipitasi polianion (Rifai dkk, 1998).

5. Metode Kombinasi

Metode kombinasi menggunakan spesimen EDTA plasma yang diputar pada ultrasentrifus dengan kecepatan 105,000 G selama 18 jam pada 10°C pada kondisi ini, VLDL dan kilomikron akan terakumulasi sebagai lapisan yang melayang dengan $d < 1,006 \text{ g/ml}$ infranatan berisi LDL dan HDL. Lapisan yang melayang dipisahkan dan aliquot diputar kembali. Kadar kolesterol diukur, sedang HDL diukur tersendiri dari aliquot plasma. VLDL dan LDL kolesterol dihitung dengan formula :

$$[\text{VLDL - kol}] = [\text{total kolesterol}] - [d > 1,006 \text{ g/ml}]$$

$$[\text{LDL - kol}] = [d > 1,006 \text{ g/ml}] - [\text{HDL - Kolesterol}]$$

Kelemahan metode ini digunakan membutuhkan peralatan yang mahal dan memerlukan keterampilan khusus sehingga sukar dilakukan oleh kebanyakan laboratorium klinik (Gotto Am & Pownall, 1999).

2.3.1.2. Metode direk (Secara langsung)

Metode ini sedang berkembang dan mulai banyak digunakan, terdapat beberapa teknik pemeriksaan yaitu:

1. Metode Imunokimia

Metode imunokimia menggunakan poliklonal antibodi untuk mempresipitasi VLDL, IDL dan HDL sedangkan LDL kolesterol diukur dalam supernatan dengan metode enzimetik (Sun dkk, 2005).

2. Metode Presipitasi

Metode Presipitasi langsung dengan cara mempresipitasikan LDL-Kolesterol dengan polyvinil sulfat atau heparin pada pH rendah, kadar LDL-Kolesterol dihitung sebagai selisih dari total kolesterol dan kadar yang terdapat pada supernatan (Sun dkk, 2005). Pada penetapan kadar LDL- Kolesterol, digunakan metode presipitasi atau pengendapan. Prinsip metode ini adalah LDL diendapkan dan setelah disentrifugasi HDL dan VLDL ada di supernatant. LDL dapat dihitung dari perbedaan kolesterol supernatant dan serum total (Sun dkk, 2005).

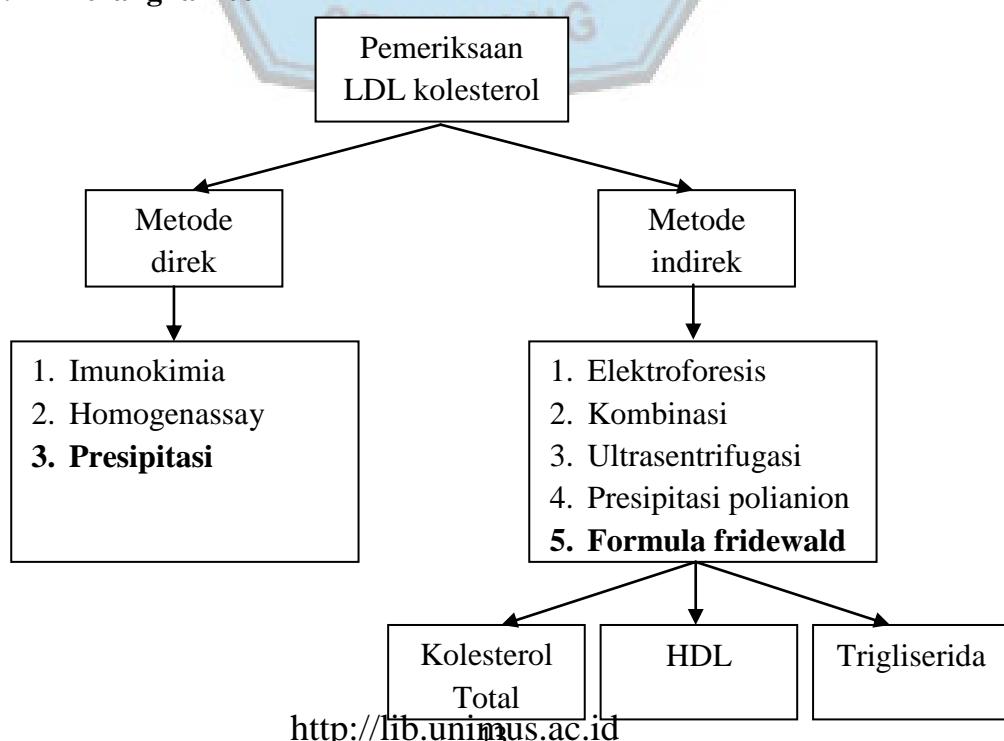
Metode presipitasi jauh lebih tidak terpengaruh oleh peningkatan kadar trigliserida bila dibandingkan dengan perhitungan fridewald, metode presipitasi tetap dapat melakukan pemeriksaan walaupun kadar trigliserida tinggi. Metode presipitasi juga dapat langsung memeriksa kadar LDL Kolesterol, tanpa memerlukan memeriksa kolesterol, trigliserida dan HDL Kolesterol. Metode presipitasi menguntungkan bagi permintaan LDL Kolesterol secara tunggal. (Kozo dkk, 2010).

Salah satu kelebihan metode presipitasi dibandingkan perhitungan fridewald adalah kemampuannya untuk memeriksa LDL Kolesterol dalam spesimen nonpuasa, karena kilomikron dapat dieliminasi oleh reagen. Harus dicatat bahwa semua perbandingan metode pemeriksaan LDL Kolesterol saat ini masih menggunakan spesimen puasa (Putra,2012).

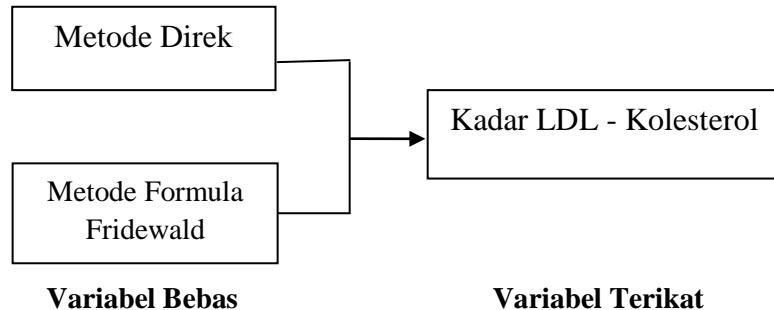
3. Metode Homogenassay

Metode baru dalam menentukan kadar LDL kolesterol diperkenalkan pada tahun 1998. Arti dari “Homogen” yaitu seperti yang digunakan dalam *immunoassay*, metode homogenassay tidak memerlukan pemisahan antar label yang bebas dan yang terikat, metode homogenassay juga memiliki kemampuan otomatis penuh dalam menentukan kadar LDL kolesterol secara langsung, selain itu juga memerlukan volume sampel yang kecil dan waktu pemeriksaan yang singkat. Keuntungan potensial lainnya yaitu menggunakan pipet otomatis serta kendali waktu dan suhu yang lebih akurat (Putra, 2012).

2.4. Kerangka Teori



2.5. Kerangka Konsep



2.6. Hipotesis

Berdasarkan rumusan masalah yang telah dipaparkan sebelumnya, hipotesis dalam penelitian ini adalah:

H_0 = Tidak ada perbedaan kadar LDL – C Metode direk (*presipitasi*) dan metode indirek (*formula Fridewald*).

H_a = Ada perbedaan kadar LDL – C Metode direk (*presipitasi*) dan Metode indirek (*formula Fridewald*).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah kuantitatif.

3.2. Desain Penelitian

Desain penelitian yang digunakan adalah analitik komperatif

3.3 Variabel Penelitian

Variabel Penelitian

Variabel yang akan diamati pada penelitian ini yaitu :

1. Variabel Bebas adalah metode direk (*presipitasi*) dan metode indirek (*formula fridewald*).
2. Variabel Terikat adalah Pemeriksaan LDL kolesterol

3.4 Definisi Operasional

No.	Variabel	Definisi
1.	LDL Kolesterol	lipoprotein berkepadatan rendah yang dapat menembus <i>tunica intima</i> serta mempunyai sifat melekat pada dinding pembuluh darah yang dapat menyebabkan timbulnya benjolan-benjolan yang berisikan LDL kolesterol. LDLKolesterol dapat dilakukan dengan 2 pemeriksaan yaitu metode direk dan metode indirek.
2.	LDL metode indirek (<i>formula fridewald</i>)	pengukuran kadar LDL Kolesterol dalam darah pasien diestimasi dengan rumus : $LDL \text{ Kolesterol} = Total \text{ Kolesterol} - (HDL + \frac{Trigliserida}{5})$
3.	LDL metode direk (<i>presipitasi</i>)	dilakukan dengan metode direk (<i>presipitasi</i>) secara langsung dengan mempresipitasikan LDL- Kolesterol dengan polyvinil sulfat atau heparin pada pH rendah, kadar LDL-Kolesterol dihitung sebagai selisih dari total kolesterol dan kadar yang terdapat pada supernatan.

3.5. Populasi dan Sampel Penelitian

3.5.1. Populasi Penelitian

Populasi dan sampel penelitian adalah mahasiswa dan mahasiswi DIV Analis Kesehatan angkatan 2012 program reguler Universitas Muhammadiyah Semarang.

3.5.2. Besar Sampel

Besar sampel minimal pada penelitian ini ditentukan dengan menggunakan rumus Slovin (Sugiyono, 2005) dengan diketahui jumlah populasi pada penelitian ini sebanyak 32 orang, maka perhitungan sampel minimal sebagai berikut :

$$n = \frac{n}{1+Ne^2} \quad (1)$$

Dimana :

n = Ukuran minimal sampel

N = Ukuran populasi

e = Toleransi tingkat kesalahan = 5%

$$n = \frac{32}{1 + 32 (5\%)^2}$$

$n = 29,6296296$ dibulatkan menjadi 30

Jumlah sampel minimal dibutuhkan sebanyak 30 orang.

3.6. Alat dan Bahan

3.6.1. Alat Pemeriksaan

Alat – alat yang digunakan antara lain yaitu spuit disposable, kapas alkohol, rak tabung reaksi, tabung *centrifuge*, mikropipet 100 μ l, 10 μ l, dan fotometer 4010.

3.6.2. Bahan Pemeriksaan

Bahan – bahan yang digunakan antara lain yaitu serum,reagen kit presipitant HDL, reagen kolesterol reagen trigliserida, reagen kit LDL Precipitant (Dsi).

3.7. Prosedur Penelitian

3.7.1. Pengambilan Sampel Darah Vena

Vena lengan yang ingin ditusuk dibersihkan dengan alkohol 70% dan dibiarkan sampai kering. Tourniquet dipasang pada lengan atas untuk memperlihatkan dan agak menonjolkan vena. Kulit ditegangkan diatas vena dengan jari – jari tangan kiri supaya vena tidak dapat bergerak. Kulit ditusuk dengan jarum dan sputit dengan tangan kanan sampai ujung jarum masuk ke dalam lumen vena. Tourniquet dilepas dan perlahan-lahan tarik penghisap sputit sampai jumlah darah yang dikehendaki didapat. Kapas alkohol 70% diletakkan diatas jarum lalu dicabut sputit dan jarumnya. Jarum dilepas dari sputit dan darah dialirkan ke dalam tabung vacutainer.

3.7.2. Pembuatan Serum

Darah yang sudah beku dimasukkan ke dalam *centrifuge* untuk dilakukan pemusingan. Posisi tabung diatur dalam *centrifuge* dengan posisi yang seimbang. Pemusingan dilakukan dengan kecepatan 3000 rpm dalam waktu 10 menit. Serum yang terbentuk dipisahkan untuk dilakukan pemeriksaan atau dapat disimpan di dalam *freezer* bersuhu -20°C.

3.7.3. Pemeriksaan LDL Kolesterol Metode Indirek

3.7.3.1. Pemeriksaan Total Kolesterol

Disiapkan 3 tabung reaksi masing – masing untuk standar, blanko, dan sampel, kemudian diipipet 100 μl , reagen kolesterol masukan kedalam masing – masing tabung reaksi yang telah diberi label. Dipipet 10 μl sampel campur dan inkubasi selama 10 menit pada suhu 37°C. Absorbansi dibaca dengan fotometer 4010 dengan panjang gelombang 546 nm dan program c/st dengan standar kolesterol 200 mg/dl.

3.7.3.2. Pemeriksaan HDL Kolesterol

Disiapkan reagen kerja 1 bagian aquabides + bagian reagen untuk presipitan. Dipipet 500 μl reagen kerja dan masukan kedalam tabung reaksi kemudian ditambah serum 200 μl didiamkan selama 10 menit. Dicentrifuge selama 10 menit dengan kecepatan 4000 rpm untuk membuat supernatanya. Disiapkan 2 tabung untuk blanko dan sampel masing – masing diisi 1000 μl reagen kolesterol. Dicampur inkubasi selama 10 menit pada suhu kamar. Absorbansi dibaca dengan fotometer 4010 dalam waktu \pm 45 menit dengan panjang gelombang 546 nm.

3.7.3.3. Pemeriksaan Trigliserida

Disiapkan 3 tabung reaksi masing – masing untuk standar, blanko dan sampel. Dipipet 1000 μl reagen trigliserida masukan kedalam masing – masing tabung reaksi. Dipipet 10 μl sampel campur inkubasi 10 menit pada suhu 37°C. Absorbansi dibaca dengan fotometer 4010 pada panjang gelombang 546 nm dengan program c/st. Standar trigliserida 200 mg/dl.

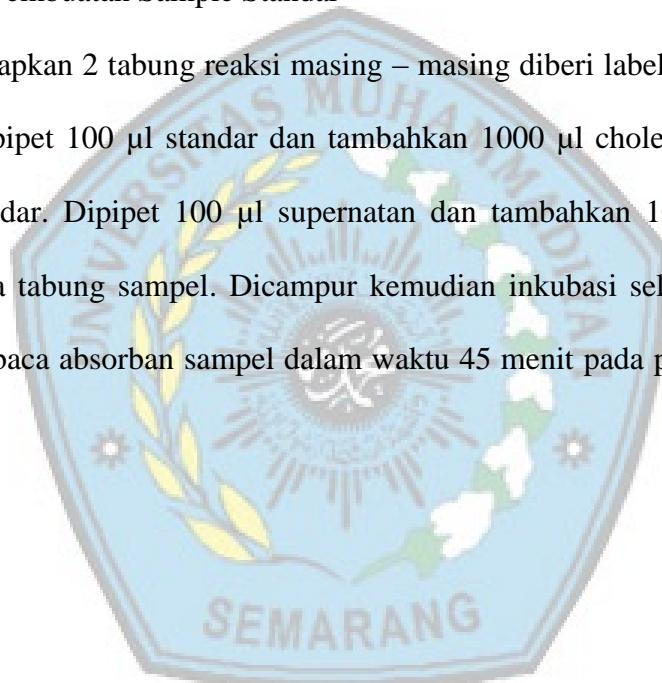
3.7.4. Prosedur Pemeriksaan LDL Kolesterol Metode Direk

3.7.4.1. Pembuatan Presipitat

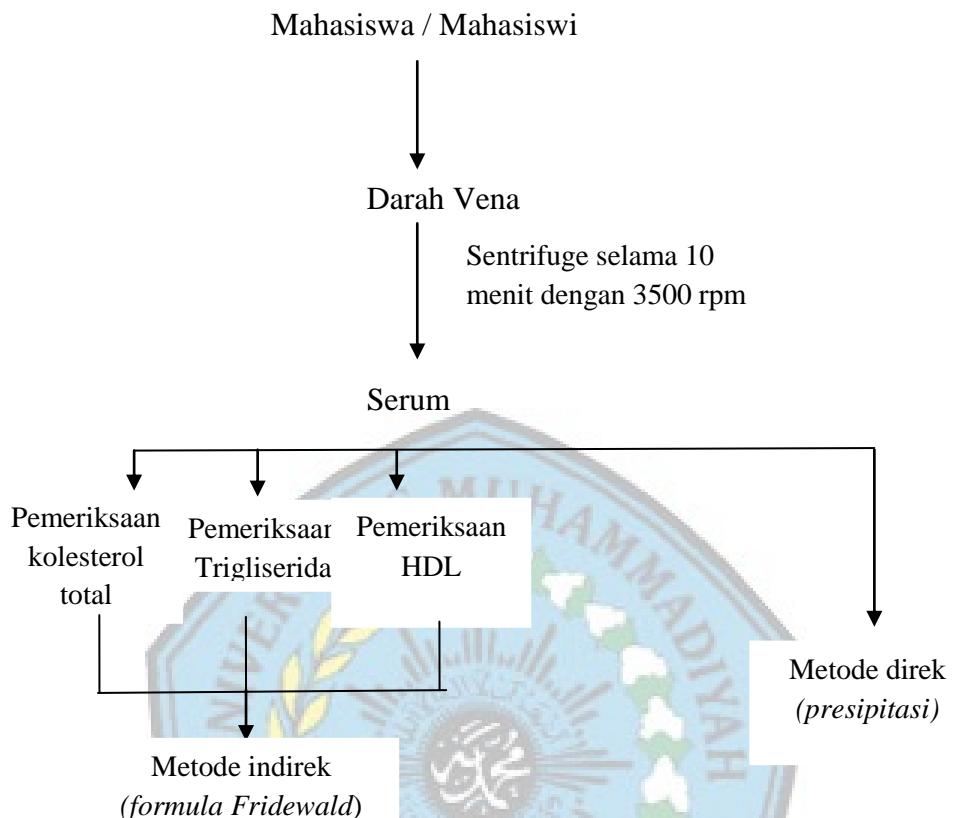
Disiapkan 1 tabung. Kemudian dipipet sampel sebanyak 100 µl tambahkan 1000 µl precipitating reagent. Dicampur dan inkubasi 15 menit pada suhu ruang. Dicentrifuge selama 20 menit 2500 rpm hingga 1 jam. Setelah centrifuge pindah 100 µl supernatan untuk reaksi perhitungan kolesterol.

3.7.4.2. Pembuatan Sample Standar

Disiapkan 2 tabung reaksi masing – masing diberi label untuk standar dan sampel. Dipipet 100 µl standar dan tambahkan 1000 µl cholesterol reagen pada tabung standar. Dipipet 100 µl supernatan dan tambahkan 1000 µl cholesterol reagen pada tabung sampel. Dicampur kemudian inkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C baca absorbansi sampel dalam waktu 45 menit pada panjang gelombang 546 nm.



3.8. Alur Pemeriksaan



3.9. Teknik Pengumpulan Data dan Analisis Data

Data yang dipakai adalah data primer yang diambil langsung dari hasil pemeriksaan kolesterol total, trigliserida, HDL Kolesterol, dan LDL Kolesterol pada mahasiswa dan mahasiswi DIV Analis Kesehatan semester 7 Universitas Muhammadiyah Semarang.

Data primer yang didapat ditabulasi dan dimasukan sebagai data kedalam komputer, kemudian dicari rata – rata dan simpang baku, kemudian dilakukan uji normalitas data dengan Kolmogorov – Sminov Test dan dianjurkan dengan uji beda Paired t-test menggunakan perangkat lunak SPSS PC Versi 17.0.

3.10 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan di laboratorium kimia klinik Universitas Muhammadiyah Semarang dan di Balai laboratorium Kesehatan Semarang mulai bulan maret 2016.

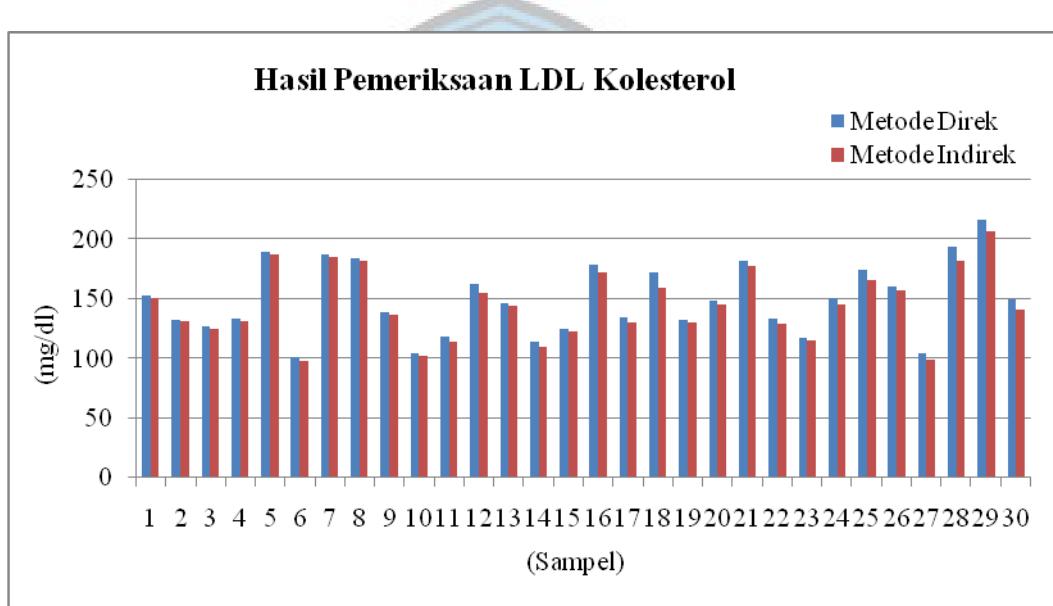


BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil Penelitian

Penelitian ini menggunakan sampel yang diambil dari mahasiswa D IV Analis Kesehatan semester tujuh yang berjumlah 30 orang. Pemeriksaan LDL Kolesterol dilakukan dengan metode direk dan indirek, hasil pemeriksaan tersebut dapat dilihat pada gambar 1



Gambar 1. Diagram hasil pemeriksaan LDL Kolesterol metode direk (*presipitat*) dan metode indirek (*formula fridewald*).

Berdasarkan Gambar 1 hasil pemeriksaan LDL Kolesterol metode direk (*presipitat*) kadar tertinggi pada sampel 29 yaitu 217 mg/dl dan kadar terendah pada sampel 6 yaitu 101 mg/dl, sedangkan metode indirek (*formula fridewald*) kadar tertinggi pada sampel 29 yaitu 207 mg/dl dan kadar terendah pada sampel 6 yaitu 98 mg/dl.

Uji beda paired t-test didapatkan $t = 8,352$ dan $p = 0,000$ karena $p < 0,05$ maka dapat disimpulkan ada perbedaan kadar LDL kolesterol yang bermakna antara metode direk (*presipitasi*) dan indirek (*formula fridewald*).

4.2. Pembahasan

Hasil penelitian menunjukkan kadar LDL Kolesterol metode indirek (*formula fridewald*) lebih rendah dibandingkan dengan kadar LDL Kolesterol metode direk (*presipitat*), karena hasil pengukuran LDL indirek (*formula fridewald*) dipengaruhi oleh adanya parameter lain yaitu kolesterol total, trigliserida dan HDL kolesterol (Murat dkk, 2008). Ketepatan hasil metode indirek (*formula fridewald*) sangat tergantung pada pemeriksaan ketiga parameter tersebut, Perkiraan perhitungan dan faktor pembagi yang digunakan pada metode indirek (*formula fridewald*) dapat menambah kesalahan dalam penetapan kadar LDL Kolesterol (Kozo dkk, 2010).

Pengukuran kadar LDL Kolesterol metode direk (*presipitat*) secara langsung dengan mempresipitasikan LDL Kolesterol dengan polyvinil sulfat atau heparin pada pH rendah, kadar LDL Kolesterol dihitung sebagai selisih dari total kolesterol dan kadar yang terdapat pada supernatan, oleh karena itu pengukuran kadar LDL Kolesterol metode direk (*presipitat*) dapat langsung diukur tanpa ada pengaruh dari kadar yang lain seperti metode indirek (*formula fridewald*) yang dapat mempengaruhi hasil (Sun dkk, 2005).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Kesimpulan yang diperoleh dari hasil penelitian ini yaitu :

1. Pemeriksaan kadar LDL Kolesterol menggunakan metode direk (*presipitasi*) didapatkan hasil tertinggi pada sampel 29 yaitu 217 mg/dl, terendah pada sampel 6 yaitu 101 mg/dl dan hasil rata-rata 149 mg/dl
2. Pemeriksaan kadar LDL Kolesterol metode indirek (*formula fridewald*) didapatkan hasil tertinggi pada sampel 29 yaitu 207 mg/dl, hasil terendah pada sampel 6 yaitu 98 mg/dl dan hasil rata-rata 142 mg/dl
3. Berdasarkan Uji beda paired t-test didapatkan $t = 8,352$ dan $p = 0,000$ karena $p < 0,05$ maka dapat disimpulkan ada perbedaan kadar LDL kolesterol yang bermakna antara metode direk (*presipitasi*) dan indirek (*formula fridewald*).
4. Kadar LDL Kolesterol metode direk (*presipitat*) lebih tinggi dibandingkan dengan kadar LDL Kolesterol metode indirek (*formula fridewald*).

5.2. Saran

1. Pemeriksaan kadar LDL Kolesterol sebaiknya menggunakan metode direk (*presipitat*) karena dapat langsung mengukur kadar LDL Kolesterol.
2. Peneliti lain disarankan untuk meneliti lebih lanjut mengenai perbedaan metode indirek (*fridewald*) dengan metode direk namun tidak menggunakan metode (*presipitasi*) bisa menggunakan metode direk (*imunokimia*).

DAFTAR PUSTAKA

- Can Murat., Serefden Acikgoz., Gorkem Mungan., Ebru Ugurbas., Handan Ankarali., Vildan Sumbuloglu., Selda Demirtas., Levent Karaca. 2008. *Is direct method of low density lipoprotein cholesterol measurement appropriate for targeting lipid lowering therapy.*
- Fikri, F. 2009. *Bahaya Kolesterol.* Jogjakarta : Kelompok Penerbit Ar-Ruzz Media, pp : 11; 16-18.
- Gotto AM , Pownall HJ. 1999. *Manual of lipide disorders.* 2nd ed. Williams & Wilkiins Co. Philadelphia. 67 – 97
- Henry JB. 1996. *Clinical diagnosis and management of laboratory methods.* 19th ed. WB Saunders. Co philadelphia. 208.
- Iman Soeharto, 2004, *Serangan Jantung dan Stoke Hubungannya Dengan Lemak dan Kolesterol.* Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Kee JL., 2008. *Pedoman Pemeriksaan Laboratorium & Diagnostik.* Buku Kedokteran EGC, Cetakan I Edisi 6, Jakarta.
- Tanno Kozo, Tomonori Okamura, Masaki Ohsawa, Toshiyuki Onoda, Kazuyoshi Itai, Kiyomi Sakata, Motoyuki Nakamura, Akira Ogawa, Kazuko Kawamura, Akira Okayama. 2010 *comparison of low density lipoprotein cholesterol measured by a direct homogeneous assay and by the fridewald formula in a large community population.*: 1774-1780
- Putra, Made Dwiambara. 2012. *Pemeriksaan Kolesterol LDL (LDL-C) Menggunakan Metode Homogen.* FK Universitas Udayana.
- Rifai N, Lanotti E, D.Anglis K. Law T. 1998. *Analytical and clinical performance of a homogenous enzymetic LDL Cholesterol assay compared with ultracentrifugation – denstran sulfate M_g²⁺ method.* chlinical chemistry boston: 1242 – 50
- Sugiyono. 2005. *Statistika Untuk Penelitian.* Bandung: Alfabeta.
- Soeharto, I., 2004. *Serangan Jantung dan Stroke Hubungannya dengan Lemak dan Kolesterol.* PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta. 42-43.
- Sun, P, Dwyer KM. Mers NB , Sun W, Johnson CA, Shircone AM. 2005. *Blood pressure LDL cholesterol and intima media thickness, a test of the response to injury hypothesis of atherosclerosis* in : Arteriscler Tromb vasc Biol. 20

Wiliamson AM & Synder LM. 2011. *Interpretation od diagnostic test*. Ninth edition.

Young DS, Bernes EW. 1996. *specimen collection and processing* : source of biological variaton. In : Tietz Fundentals of clinical chemistry, WB Saunders Co. Philadelphia : 33 – 51.



**Lampiran 1. Hasil Pemeriksaan LDL Kolesterol Metode Direk (*Presipitasi*)
dan Metode Indirek (*Formula Fridewald*)**

No.	Metode Pemeriksaan	
	Direk <i>presipitasi</i> (mg/dl)	Indirek <i>formula fridewald</i> (mg/dl)
1	153	151
2	133	131
3	127	125
4	134	131
5	190	187
6	101	98
7	187	185
8	184	182
9	139	137
10	105	102
11	118	114
12	163	155
13	147	144
14	114	110
15	125	123
16	179	172
17	135	130
18	172	159
19	133	130
20	149	145
21	182	178
22	134	129
23	117	115
24	151	146
25	175	166
26	161	157
27	105	99
28	194	182
29	217	207
30	150	141

Lampiran 2. Hasil Pemeriksaan LDL Kolesterol Metode Indirek (*Formula Fridewald*) dan Perhitungan.

No	Kadar Kolesterol (mg/dl)	Kadar HDL (mg/dl)	Kadar Trigliserida (mg/dl)	Kadar LDL Kolesterol (mg/dl)
1.	217	51	75	151
2.	184	39	70	131
3.	185	45	75	125
4.	191	47	65	131
5.	248	46	75	187
6.	148	38	63	98
7.	230	32	66	185
8.	230	30	91	182
9.	182	32	67	137
10.	153	30	106	102
11.	166	38	70	114
12.	211	44	60	155
13.	198	40	70	144
14.	175	50	76	110
15.	186	47	80	123
16.	230	44	70	172
17.	190	46	72	130
18.	217	43	76	159
19.	183	41	63	130
20.	215	55	78	145
21.	230	39	66	178
22.	190	48	68	129
23.	170	40	78	115
24.	207	48	68	146
25.	230	49	78	166
26.	217	39	108	157
27.	162	46	88	97
28.	250	48	101	182
29.	256	36	65	207
30.	198	45	64	141

Perhitungan LDL Kolesterol Metode Indirek (*formula fridewald*)

RUMUS :

$$LDL \text{ Kolesterol} = Total \text{ Kolesterol} - (HDL + \frac{Trigliserida}{5})$$

Sampel 1

$$\begin{aligned} LDL \text{ Kolesterol} &= 217 - \left(51 + \frac{75}{5} \right) \\ &= 217 - 66 \\ &= 151 \text{ mg/dl} \end{aligned}$$

Sampel 2

$$\begin{aligned} LDL \text{ Kolesterol} &= 184 - \left(39 + \frac{70}{5} \right) \\ &= 184 - 53 \\ &= 131 \text{ mg/dl} \end{aligned}$$

Sampel 3

$$\begin{aligned} LDL \text{ Kolesterol} &= 185 - \left(45 + \frac{70}{5} \right) \\ &= 184 - 60 \\ &= 125 \text{ mg/dl} \end{aligned}$$

Sampel 4

$$\begin{aligned} LDL \text{ Kolesterol} &= 191 - \left(47 + \frac{65}{5} \right) \\ &= 191 - 60 \\ &= 131 \text{ mg/dl} \end{aligned}$$

Sampel 5

$$\begin{aligned}
 LDL \text{ Kolesterol} &= 248 - \left(46 + \frac{75}{5} \right) \\
 &= 248 - 61 \\
 &= 187 \text{ mg/dl}
 \end{aligned}$$

Sampel 6

$$\begin{aligned}
 LDL \text{ Kolesterol} &= 148 - \left(38 + \frac{63}{5} \right) \\
 &= 148 - 50 \\
 &= 98 \text{ mg/dl}
 \end{aligned}$$

Sampel 7

$$\begin{aligned}
 LDL \text{ Kolesterol} &= 230 - \left(32 + \frac{66}{5} \right) \\
 &= 230 - 45 \\
 &= 185 \text{ mg/dl}
 \end{aligned}$$

Sampel 8

$$\begin{aligned}
 LDL \text{ Kolesterol} &= 230 - \left(30 + \frac{91}{5} \right) \\
 &= 230 - 48 \\
 &= 182 \text{ mg/dl}
 \end{aligned}$$

Sampel 9

$$\begin{aligned}
 LDL \text{ Kolesterol} &= 182 - \left(32 + \frac{67}{5} \right) \\
 &= 182 - 45 \\
 &= 137 \text{ mg/dl}
 \end{aligned}$$

Sampel 10

$$\begin{aligned}
 LDL \text{ Kolesterol} &= 153 - \left(30 + \frac{106}{5} \right) \\
 &= 153 - 51 \\
 &= 102 \text{ mg/dl}
 \end{aligned}$$

Sampel 11

$$\begin{aligned}
 LDL \text{ Kolesterol} &= 166 - \left(38 + \frac{70}{5} \right) \\
 &= 166 - 52 \\
 &= 114 \text{ mg/dl}
 \end{aligned}$$

Sampel 12

$$\begin{aligned}
 LDL \text{ Kolesterol} &= 211 - \left(44 + \frac{60}{5} \right) \\
 &= 211 - 56 \\
 &= 155 \text{ mg/dl}
 \end{aligned}$$

Sampel 13

$$\begin{aligned}
 LDL \text{ Kolesterol} &= 198 - \left(40 + \frac{70}{5} \right) \\
 &= 198 - 54 \\
 &= 144 \text{ mg/dl}
 \end{aligned}$$

Sampel 14

$$\begin{aligned}
 LDL \text{ Kolesterol} &= 175 - \left(50 + \frac{76}{5} \right) \\
 &= 175 - 65 \\
 &= 110 \text{ mg/dl}
 \end{aligned}$$

Sampel 15

$$\begin{aligned} LDL \text{ Kolesterol} &= 186 - \left(47 + \frac{80}{5} \right) \\ &= 186 - 63 \\ &= 123 \text{ mg/dl} \end{aligned}$$

Sampel 16

$$\begin{aligned} LDL \text{ Kolesterol} &= 230 - \left(44 + \frac{70}{5} \right) \\ &= 230 - 58 \\ &= 172 \text{ mg/dl} \end{aligned}$$

Sampel 17

$$\begin{aligned} LDL \text{ Kolesterol} &= 190 - \left(46 + \frac{72}{5} \right) \\ &= 190 - 60 \\ &= 130 \text{ mg/dl} \end{aligned}$$

Sampel 18

$$\begin{aligned} LDL \text{ Kolesterol} &= 217 - \left(43 + \frac{76}{5} \right) \\ &= 217 - 58 \\ &= 159 \text{ mg/dl} \end{aligned}$$

Sampel 19

$$\begin{aligned} LDL \text{ Kolesterol} &= 183 - \left(41 + \frac{63}{5} \right) \\ &= 183 - 53 \\ &= 130 \text{ mg/dl} \end{aligned}$$

Sampel 20

$$\begin{aligned}
 LDL \text{ Kolesterol} &= 215 - \left(55 + \frac{78}{5} \right) \\
 &= 215 - 70 \\
 &= 145 \text{ mg/dl}
 \end{aligned}$$

Sampel 21

$$\begin{aligned}
 LDL \text{ Kolesterol} &= 230 - \left(39 + \frac{66}{5} \right) \\
 &= 230 - 52 \\
 &= 178 \text{ mg/dl}
 \end{aligned}$$

Sampel 22

$$\begin{aligned}
 LDL \text{ Kolesterol} &= 190 - \left(48 + \frac{68}{5} \right) \\
 &= 190 - 61 \\
 &= 129 \text{ mg/dl}
 \end{aligned}$$

Sampel 23

$$\begin{aligned}
 LDL \text{ Kolesterol} &= 170 - \left(40 + \frac{78}{5} \right) \\
 &= 170 - 55 \\
 &= 115 \text{ mg/dl}
 \end{aligned}$$

Sampel 24

$$\begin{aligned}
 LDL \text{ Kolesterol} &= 207 - \left(48 + \frac{68}{5} \right) \\
 &= 207 - 61 \\
 &= 146 \text{ mg/dl}
 \end{aligned}$$

Sampel 25

$$\begin{aligned}
 LDL \text{ Kolesterol} &= 230 - \left(49 + \frac{78}{5} \right) \\
 &= 230 - 64 \\
 &= 166 \text{ mg/dl}
 \end{aligned}$$

Sampel 26

$$\begin{aligned}
 LDL \text{ Kolesterol} &= 217 - \left(39 + \frac{108}{5} \right) \\
 &= 217 - 60 \\
 &= 157 \text{ mg/dl}
 \end{aligned}$$

Sampel 27

$$\begin{aligned}
 LDL \text{ Kolesterol} &= 162 - \left(46 + \frac{88}{5} \right) \\
 &= 162 - 63 \\
 &= 99 \text{ mg/dl}
 \end{aligned}$$

Sampel 28

$$\begin{aligned}
 LDL \text{ Kolesterol} &= 250 - \left(48 + \frac{101}{5} \right) \\
 &= 250 - 68 \\
 &= 182 \text{ mg/dl}
 \end{aligned}$$

Sampel 29

$$\begin{aligned}
 LDL \text{ Kolesterol} &= 256 - \left(36 + \frac{65}{5} \right) \\
 &= 256 - 49 \\
 &= 207 \text{ mg/dl}
 \end{aligned}$$

Sampel 30

$$\begin{aligned}LDL \text{ Kolesterol} &= 198 - \left(45 + \frac{64}{5} \right) \\&= 198 - 57 \\&= 141 \text{ mg/dl}\end{aligned}$$



Lampiran 3. Perhitungan Spss

a. Uji Normalitas

		One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test	
		Direk	Indirek
N		30	30
Normal Parameters ^a	Mean	149.13	144.37
	Std. Deviation	30.093	28.764
Most Extreme Differences	Absolute	.114	.112
	Positive	.114	.112
	Negative	-.076	-.079
Kolmogorov-Smirnov Z		.625	.615
Asymp. Sig. (2-tailed)		.830	.844
a. Test distribution is Normal.			

b. Hasil Uji Paired Sampel T Test

Paired Samples Statistics					
		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	Direk	149.13	30	30.093	5.494
	Indirek	144.37	30	28.764	5.251

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	Direk & Indirek	30	.995	.000

Paired Samples Test

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)			
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference							
				Lower	Upper						
F Direk - Indirek ε i r 1	4.767	3.126	.571	3.599	5.934	8.352	29	.000			



Lampiran 4. Prosedur Pemeriksaan

cholesterol FS*

CE

Diagnostic reagent for quantitative in vitro determination of cholesterol in serum or plasma on photometric systems

Information

Kit size	R	5 x 25 mL + 1 x 3 mL Standard
99 83 021	R	5 x 25 mL + 1 x 3 mL Standard
99 83 026	R	6 x 100 mL
99 83 023	R	1 x 1000 mL
99 83 704	R	8 x 50 mL
99 83 517	R	10 x 60 mL Photometric systems line
99 83 192	R	4 x 60 mL Photometric quality
99 83 211	R	12 x 25 mL
99 83 030	R	6 x 3 mL Standard

Summary

Cholesterol is a component of cell membranes and a precursor for steroid hormones and bile acids synthesized by body cells and absorbed with food [1]. Cholesterol is secreted in plasma via lipoproteins, namely complexes between lipids and apolipoproteins [1]. There are four classes of lipoproteins: high density lipoproteins (HDL), low density lipoproteins (LDL), very low density lipoproteins (VLDL) and chylomicrons. While LDL is involved in the cholesterol transport to the peripheral cells, HDL is responsible for the cholesterol uptake from the cells. The different lipoprotein classes show distinct relationship to coronary atherosclerosis [1]. LDL-cholesterol (LDL-C) contributes to atherosclerotic plaque formation within the arterial intima and is strongly associated with coronary heart disease (CHD) and related mortality. Even with total cholesterol within the normal range an increased concentration of LDL-C indicates high risk. HDL-C has a protective effect against plaque formation and shows an inverse relationship to CHD prevalence. In fact, low HDL-C can constitute an independent risk factor. The determination of the individual total cholesterol (TC) level used for screening purposes while for a better risk assessment it is necessary to measure additionally HDL-C and LDL-C.

In the last few years several controlled clinical trials using life style changes and / or different drugs (especially HMG-CoA reductase inhibitors (statins)) have demonstrated that lowering total cholesterol and LDL-C can reduce drastically CHD risk [2].

Method

CD-PAP™: enzymatic photometric test

Principle

Determination of cholesterol after enzymatic hydrolysis and oxidation [3,4]. The colorimetric indicator is quinonoidimine which is generated from 4-aminoantipyrine and phenol by oxygen peroxide under the catalytic action of peroxidase (enzymatic reaction) [3].

$$\text{Cholesterol} + \text{H}_2\text{O} \xrightarrow{\text{CH-E}} \text{Cholesterol} + \text{Fatty acid}$$

$$\text{Cholesterol} + \text{O}_2 \xrightarrow{\text{CHO}} \text{Cholesterol-3-one} + \text{H}_2\text{O}$$

$$+ 4\text{-Aminooantipyrine} + \text{Phenol} \xrightarrow{\text{POD}} \text{Quinonoidimine} + 4\text{H}_2\text{O}$$

Assay Procedure

Application sheets for automated systems are available on request.

Wavelength	500 nm, Hg 546 nm
Optical path	1 cm
Temperature	20 - 25 °C / 37 °C
Measurement	Against reagent blank
Sample or standard	Blank
Dist. water	10 µL
Reagent	1000 µL
Mix, incubate for 20 min. at 20 - 25 °C or for 10 min. at 37 °C. Read absorbance within 60 min against reagent blank.	
Sample or standard	10 µL
Reagent	1000 µL

* fluid stable

CHOLESTEROL

Reagent and Standard, for Use with
HUMAN CHOLESTEROL liquicolor Test Kit

10018 4 x 80 ml Precipitant
 1 x 3 ml Standard

Components: VLDL (very low density lipoproteins) and LDL (low density lipoproteins) are precipitated by addition of phospho- and magnesium chloride. After centrifugation the fluid contains the HDL (high density lipoproteins) fraction which is assayed for HDL-Cholesterol with the HUMAN CHOLESTEROL liquicolor test kit.

Reagent Composition:

- 4 x 80 ml Precipitant: Ascorbic acid 0.55 mmol/l; Magnesium chloride 25.00 mmol/l
- 1 x 3 ml Standard: Cholesterol 50 mg/dl or 1.29 mmol/l

Preparation:

Use for Macro Assays [PRECa] at 4°C.

Use for Semi-micro Assays [SU-HDL]:

contents of one bottle [SU-HDL] with 20 ml distilled water, or wash of the bottle with 1 part distilled water (1+1).

Use directly for use and can directly be employed in the test. No dilution is required! The factor in the calculation formula is the dilution ratio.

Stability:

stable, even after opening, up to the stated expiry date at 2...25°C. Contamination must be avoided.

Use immediately after opening. Do not use if the reagent is discolored or EDTA-plasma.

Storage:

Keep in a dry place, protected from light, at 2...25°C.

Cholesterol liquicolor Test Kit

Reaction:

no centrifuge tubes	Macro	Semi-micro
500 µl	200 µl	
1000 µl	...	
...	500 µl	

Centrifuge for 10 minutes at room temperature. Centrifuge again 2 minutes at 10000 g, alternatively for 10 minutes at 20000 g.

Decant the clear supernatant from the pre-treatment 1 hour and determine the cholesterol concentration with the HUMAN CHOLESTEROL liquicolor reagent.

Cholesterol Determination:

no cuvettes	Reagent blank	[STD]	Sample
1	100 µl
2	...	100 µl	...
3	100 µl
4	1000 µl	1000 µl	1000 µl

Incubate for 5 minutes at 37°C or 10 minutes at 20...25°C. Measure the absorbance of the sample and the [STD], respectively. Subtract the reagent blank within 60 minutes (ΔA).

Calculation of the HDL Cholesterol Concentration with Factor

Wavelength	Macro		Semi-micro	
	C [mg/dl] = $\Delta A \times$	C [mmol/l] = $\Delta A \times$	C [mg/dl] = $\Delta A \times$	C [mmol/l] = $\Delta A \times$
Hg 546 nm	274	7.09	320	8.2
500 nm	180	4.65	210	5.43

Calculation of the HDL Cholesterol Concentration with [STD]

1. Macro Method

$$C = 150 \times \frac{\Delta A_{\text{Sample}}}{\Delta A_{[\text{STD}]}} \text{ mg/dl} ; C = 3.87 \times \frac{\Delta A_{\text{Sample}}}{\Delta A_{[\text{STD}]}} \text{ mmol/l}$$

2. Semi-micro Method

$$C = 175 \times \frac{\Delta A_{\text{Sample}}}{\Delta A_{[\text{STD}]}} \text{ mg/dl} ; C = 4.52 \times \frac{\Delta A_{\text{Sample}}}{\Delta A_{[\text{STD}]}} \text{ mmol/l}$$

Calculation of the LDL Cholesterol Concentration^{1,2}:

The LDL-Cholesterol concentration (LDL-C) is calculated from the total Cholesterol concentration (TC), the HDL-Cholesterol concentration (HDL-C) and the triglycerides concentration (TG) according to Friedewald et al.¹

$$\text{LDL-C} = \frac{\text{TC} - \text{HDL-C} - \frac{\text{TG}}{5}}{2.2} \text{ mg/dl}$$

$$\text{LDL-C} = \frac{\text{TC} - \text{HDL-C} - \frac{\text{TG}}{2.2}}{2.2} \text{ mmol/l}$$

Clinical Interpretation¹:

1. HDL Cholesterol

	Men	Women		
	[mg/dl]	[mmol/l]	[mg/dl]	[mmol/l]
Prognostically favourable	> 55	> 1.42	> 65	> 1.68
Standard risk level	35-65	0.9-1.42	46-65	1.16-1.69
Risk indicator	< 35	< 0.9	< 45	< 1.16

2. LDL Cholesterol

Suspicious: 150 mg/dl or 3.9 mmol/l
Elevated: 190 mg/dl or 4.9 mmol/l

Performance Characteristics:

Typical performance data can be found in the Verification Report, accessible via www.human.de/daten/gv/vr/su-hdl.pdf or www.human-de.com/daten/gv/vr/su-hdl.pdf.

Quality Control:

All control sera with values for HDL-Cholesterol determined by this method can be employed.

We recommend the use of our animal based HUMATROL quality control serum or our human serum based SERODOS.

Notes:

- If the supernatant is not clear (high triglycerides level), dilute the sample before the precipitation 1:1 with 0.9% saline (multiply result by 2).
- High concentrations of ascorbic acid (> 2.5 mg/dl) will give lower values.
- Hemoglobin levels higher than 100 mg/dl and bilirubin levels higher than 10 mg/dl interfere with the test.

References:

- Gordon, T. et al., Amer. J. Med. 62, 707 (1977)
- Friedewald, W.T. et al., Clin. Chem. 18, 499 (1972)

SU-HDL
INF 1001001 GB
09-2005-14

CE

Human
Human Gesellschaft für Biochemie und Diagnostica mbH
Max-Planck-Strasse 21 - D-69120 Wiesbaden - Germany
Telefon +49 6122 9000 0 - Telefax +49 6122 9000 609 - www.human.de

Triglycerides FS*

Diagnostic reagent for quantitative in vitro determination of triglycerides in serum or plasma on photometric systems
Pax

Order Information

Cat. No.	Kit size
1 5710 99 83 021	R 5 x 25 mL + 1 x 3 mL Standard
1 5710 99 83 026	R 6 x 100 mL
1 5710 99 83 623	R 1 x 1000 mL
1 5710 99 83 704	R 8 x 50 mL
1 5710 99 83 917	R 10 x 60 mL
1 5710 99 83 192	R 4 x 60 mL
1 5700 99 83 030	R 6 x 3 mL Standard

Summary [1,2]
Triglycerides are esters of glycerol with three fatty acids and are the most abundant naturally occurring lipids. They are transported in plasma bound to apolipoproteins forming very low density lipoproteins (VLDL) and chylomicrons. Measurement of triglycerides is used in screening of the lipid status to detect atherosclerotic risks and in monitoring of lipid lowering measures. Recent studies have shown that elevated triglyceride concentrations combined with increased low density lipoprotein (LDL) concentrations constitute an especially high risk for coronary heart disease (CHD). High triglyceride levels also occur in various diseases of liver, kidneys and pancreas.

Method
Colorimetric enzymatic test using glycerol-3-phosphate oxidase (GPO).

Principle
Determination of triglycerides after enzymatic splitting with lipoprotein lipase. Indicator is quinazoline which is generated from 4-aminopyrine and 4-chlorophenol by hydrogen peroxide under the catalytic action of peroxidase.

Chemical reaction:

$$\text{Triglycerides} \xrightarrow{\text{LPL}} \text{Glycerol} + \text{Fatty acids}$$

$$\text{Glycerol} + \text{ATP} \xrightarrow{\text{GK}} \text{Glycerol-3-phosphate} + \text{ADP}$$

$$\text{Glycerol-3-phosphate} + \text{O}_2 \xrightarrow{\text{GPO}} \text{Dihydroxyacetone phosphate} + \text{H}_2\text{O}_2$$

$$2\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Aminopyrine} + 4\text{-Chlorophenol} \xrightarrow{\text{POD}} \text{Quinazoline} + \text{HCl} + 4\text{H}_2\text{O}$$

Reagents

Components and Concentrations

Reagent	Concentration
Good's buffer	pH 7.2
4-Chlorophenol	4 mmol/L
ATP	2 mmol/L
Mg ²⁺	15 mmol/L
Glycerokinase (GK)	≥ 0.4 kU/L
Peroxidase (POD)	≥ 2 kU/L
Lipoprotein lipase (LPL)	≥ 2 kU/L
4-Aminopyrine	0.5 mmol/L
Glycerol-3-phosphate-oxidase (GPO)	≥ 0.5 kU/L
Standard:	200 mg/dL (2.3 mmol/L)

Storage Instructions and Reagent Stability
Reagent and standard are stable up to the end of the indicated month of expiry. If stored at 1-8 °C, protected from light and contamination is avoided. Do not freeze the reagent!
Note: It has to be mentioned, that the measurement is not influenced by occasionally occurring color changes, as long as the absorbance of the reagent is < 0.3 at 546 nm.

Warnings and Precautions

- The reagent contains sodium azide (0.95 g/L) as preservative. Do not swallow! Avoid contact with skin and mucous membranes.
- Please refer to the safety data sheets and take the necessary precautions for the use of laboratory reagents.

Waste Management
Please refer to local legal requirements.

Reagent Preparation
The reagent and the standard are ready-to-use.

Materials required but not provided
NaCl solution 9 g/L.
General laboratory equipment.

Specimen
Serum, heparin plasma or EDTA plasma.

Stability [4]:

2 days	at 20 - 25 °C
7 days	at 4 - 9 °C
at least one year	at - 20 °C

Discard contaminated specimens

Assay Procedure

Application sheets for automated systems are available on request.

Wavelength 500 nm, Hg 543 nm
Optical path 1 cm
Temperature 20-25 °C / 37 °C
Measurement Against reagent blank

Sample or standard	Blank	Sample or standard
Dist. water	10 µL	10 µL
Reagent	1000 µL	1000 µL

Mix, incubate 20 min. at 20-25 °C or 10 min. at 37 °C.
Read absorbance against the blank within 60 min.

Calculation
With standard or calibrator

$$\text{Triglycerides [mg/dL]} = \frac{\Delta \text{Sample}}{\Delta \text{Std/Cal}} \times \text{Conc Std/Cal [mg/dL]}$$

To correct for free glycerol, subtract 10 mg/dL (0.1 mmol/L) from the triglycerides value calculated above.

Conversion factor
 $\text{Triglycerides [mg/dL]} \times 0.01126 = \text{Triglycerides [mmol/L]}$

* fluid stable

Performance characteristics

Measuring range
The test has been developed to determine LDL-Cholesterol concentration until 400 mg/dL. When values exceed this range samples should be diluted 1+4 with NaCl-Solution (9 g/L) and the result multiplied by 5.

Specificity/Interferences
No interference was observed by bilirubin up to 30 mg/dL and hemoglobin up to 800 mg/dL.

Limit of detection
The lower limit of detection is 2 mg/dL.

Precision

Intra-assay n = 20	Mean [mg/dL]	SD [mg/dL]	CV [%]
Sample 1	20	0.81	4.1
Sample 2	57	2.47	4.3
Sample 3	141	1.39	1.0

Inter-assay n = 10	Mean [mg/dL]	SD [mg/dL]	VK [%]
Sample 1	62	1.90	3.0
Sample 2	131	2.80	2.1
Sample 3	283	2.09	0.7

Method comparison
A comparison of LDL-Cholesterol values obtained with the DiaSys LDL precipitant (y) with the Friedewald calculation (x) using 49 samples gave following results:
 $y = 1.121x - 9.62 \text{ mg/dL}$; $r = 0.947$.

Reference range [4]

LDL cholesterol

Desirable	$\leq 130 \text{ mg/dL}$ (3.4 mmol/L)
Borderline high risk	$130 - 160 \text{ mg/dL}$ (3.4 - 4.1 mmol/L)
High risk	$> 160 \text{ mg/dL}$ ($> 4.1 \text{ mmol/L}$)

Each laboratory should check if the reference ranges are transferable to its own patient population and determine own reference ranges if necessary.

Clinical Interpretation [2]
Epidemiological studies have observed that low HDL-cholesterol concentrations $< 39 \text{ mg/dL}$ (0.9 mmol/L) in men and $< 43 \text{ mg/dL}$ (1.0 mmol/L) in women especially if associated with fasting triglycerides $> 180 \text{ mg/dL}$ (2 mmol/L), predict a high risk of coronary heart disease. The European Task Force on Coronary Prevention recommends to lower TC concentration to less than 190 mg/dL (5.0 mmol/L) and LDL-cholesterol to less than 115 mg/dL (3.0 mmol/L).

Literature

- Rifai N, Bachorik PS, Albers JJ. Lipids, lipoproteins and apolipoproteins. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W.B Saunders Company; 1999. p. 809-61.
- Recommendation of the Second Joint Task Force of European and other Societies on Coronary Prevention. Prevention of coronary heart disease in clinical practice. Eur Heart J 1998;19: 1434-503.
- Lopes-Virella MF, Stone P, Ellis S, Colwell JA. Cholesterol determination in high-density lipoproteins separated by three different methods. Clin Chem 1977;23:882-4.
- Schaefer EJ, McNamara J. Overview of the diagnosis and treatment of lipid disorders. In: Rifai N, Warnick GR, Dominicak MH, eds. Handbook of lipoprotein testing. Washington: AACC Press;1997.p.25-48.
- Guder WG, Zawta B et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001. p. 22-3.

Manufacturer
DiaSys Diagnostic Systems GmbH
Alte Strasse 9 65558 Holzheim Germany



LDL Precipitant

Precipitation reagent for in vitro determination of LDL-Cholesterol with the CHOD-PAP method by photometric systems

Order Information

Cat. No.	Kit size
1 4330 99 90 885	250 mL Precipitation reagent
1 1350 99 10 021	R 5 x 25 mL + 1 x 3 mL Standard
1 1350 99 10 026	R 6 x 100 mL
1 1350 99 10 023	R 1 x 1000 mL
1 1300 99 10 030	6 x 3 mL Standard

Principle

Low density lipoproteins (LDL) are precipitated by addition of heparin. High density lipoprotein (HDL) and very low density lipoproteins (VLDL) remain in the supernatant after centrifugation and are measured enzymatically by the CHOD-PAP method. The concentration of LDL cholesterol is calculated as the difference of total cholesterol and cholesterol in the supernatant.

Reagents

Concentrations of the reagents

Heparin	100 000 U/L
Sodium citrate	64 mmol/L

Storage instructions and reagent stability

The precipitant is stable up to the end of the indicated month of expiry, if stored at 2 - 8 °C and contamination is avoided. The standard is stable up to the end of the indicated month of expiry, if stored at 2 - 25 °C.

Warnings and precautions

Please refer to the safety data sheets and take the necessary precautions for the use of laboratory reagents.

Waste management

Please refer to local legal requirements.

Reagent Preparation

The precipitant is ready to use.

Material required but not provided

NaCl-Solution 9 g/L

General laboratory equipment

Specimen

Serum

Stability [5]:	7 days	at	20 - 25 °C
	7 days	at	4 - 8 °C
	3 months	at	-20 °C

Discard contaminated specimens!

Assay procedure

Precipitation

Sample	100 µL
Precipitating reagent	1000 µL
Mix and incubate for 15 min. at room temperature, then centrifuge for 20 min. at 2500 g. Within one hour after centrifugation transfer of 100 µL of the clear supernatant to the reaction solution for the determination of cholesterol.	

The cholesterol standard has to be diluted 1 + 10 with NaCl (9 g/L). After dilution the standard is treated like the supernatant.

Cholesterol determination

Wavelength	500 nm, Hg 546 nm
Optical path	1 cm
Temperature	20 - 25 °C, 37 °C
Measurement	Against reagent blank

Program ? 95-?

	Standard	Sample
Supernatant	-	100 µL
Standard	100 µL	-
Cholesterol reagent 1000 µL 1000 µL Mix and incubate 10 min. at room temperature or 5 min at 37 °C, read absorbance of the sample for the standard within 45 min. against reagent blank.		

Calculation

Cholesterol in supernatant

$$\text{Cholesterol in supernatant [mg/dL]} = \frac{\Delta E \text{ Sample}}{\Delta E \text{ Standard}} \times \text{Conc. Standard [mg/dL]}$$

100

0.113

The standard concentration is the concentration of the total cholesterol in the cholesterol standard solution.

LDL Cholesterol

$$\text{LDL Cholesterol [mg/dL]} = \text{total cholesterol [mg/dL]} - \text{Cholesterol in the supernatant [mg/dL]}$$

Controls

For internal quality control DiaSys TruLab N and F or TruLab L controls should be assayed with each batch of samples.

	Cat. No.	Kit size
TruLab N	5 9000 99 10 062	20 x 5 mL
	5 9000 99 10 061	6 x 5 mL
TruLab P	5 9050 99 10 062	20 x 5 mL
	5 9050 99 10 061	6 x 5 mL
TruLab L	5 9020 99 10 065	3 x 3 mL

Cal = HDL - $\frac{1}{5}$ mg = UP

Cal - CP =

Lampiran 5. Dokumentasi

Gambar pengambilan sampel (sampling)



Gambar Pemipetan Sampel



Gambar sentrifuge sampel



Gambar pembacaan Photometer 4010