

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Pemantapan Mutu

Pelayanan laboratorium klinik merupakan bagian integral dari pelayanan medis yang diperlukan untuk mendiagnosis, menentukan penyebab penyakit, mendukung sistem peringatan dini, memantau pengobatan dan memelihara kesehatan serta mencegah timbulnya penyakit. Pemantapan mutu (*quality assurance*) di laboratorium klinik mencakup serangkaian kegiatan yang bertujuan untuk memastikan kualitas, ketelitian dan akurasi hasil pemeriksaan laboratorium. Proses ini sangat penting tidak hanya bagi pelanggan tetapi juga bagi pemasok, karena rendahnya kualitas hasil pemeriksaan dapat menyebabkan biaya tambahan akibat pengerjaan ulang dan klaim dari pelanggan. Untuk mengatasi biaya kompensasi yang muncul dari hasil pemeriksaan yang tidak memadai, diperlukan upaya pemantapan mutu yang sistematis dan terencana (Siregar dkk, 2018). Pelayanan laboratorium klinik harus menerapkan program penjaminan mutu internal yang baik untuk menjamin hasil yang dapat diandalkan (Galindo-Méndez dan López, 2018).

2. Pemantapan Mutu Internal

Pemantapan Mutu Internal (PMI) adalah serangkaian kegiatan yang dilakukan oleh laboratorium untuk mencegah dan mengawasi dalam penilaian hasil pemeriksaan serta berupaya melakukan perbaikan, sehingga dapat diperoleh hasil yang akurat dan teliti. Tujuan dari pemantapan mutu internal adalah untuk mendeteksi dan mengidentifikasi kesalahan, baik yang bersifat sistematis maupun acak, yang mungkin terjadi di setiap tahap pemeriksaan, mulai dari persiapan, analisis, hingga pencatatan dan pelaporan hasil pemeriksaan (Permenkes, 2015).

Tujuan Pemantapan Mutu Internal:

- 1) Pemantapan dan penyempurnaan metode pemeriksaan dengan mempertimbangkan aspek analitik dan klinis.
- 2) Mempertinggi kesiagaan tenaga, sehingga pengeluaran hasil yang salah tidak terjadi dan perbaikan penyimpangan dapat dilakukan segera.
- 3) Memastikan bahwa semua proses mulai dari persiapan pasien, pengambilan, pengiriman, penyimpanan dan pengolahan spesimen sampai dengan pencatatan dan pelaporan telah dilakukan dengan benar.
- 4) Mendeteksi penyimpangan dan mengetahui sumbernya.
- 5) Membantu perbaikan pelayanan kepada pelanggan (*customer*) (Siregar dkk, 2018).

3. Pemantapan Mutu Eksternal

Pemantapan Mutu Eksternal (PME) adalah kegiatan rutin yang dilakukan untuk menjaga dan menilai mutu pemeriksaan laboratorium secara periodik oleh pihak eksternal. Tujuannya adalah memantau kinerja laboratorium dalam bidang pemeriksaan tertentu. Kegiatan ini diselenggarakan oleh pihak pemerintah, swasta atau internasional dan diikuti oleh seluruh laboratorium, baik yang dikelola pemerintah maupun swasta. PME juga berkaitan erat dengan proses akreditasi laboratorium kesehatan serta perizinan operasional laboratorium kesehatan swasta (Siregar dkk, 2018).

PME harus dilakukan dengan cara yang serupa dengan prosedur pemeriksaan rutin, menggunakan petugas, reagen, peralatan dan metode yang biasa digunakan. Hal ini bertujuan untuk mencerminkan kinerja laboratorium secara objektif. Hasil yang diperoleh dari penyelenggara PME harus dicatat dan dievaluasi untuk menjaga mutu pemeriksaan atau melakukan perbaikan yang diperlukan demi peningkatan kualitas. Evaluasi dapat dilakukan dengan menggunakan skor derajat penyimpangan, seperti Indeks Deviasi (ID), yang mengukur penyimpangan hasil pemeriksaan terhadap nilai target. Nilai ID diberikan dalam rentang 0 hingga 3. Selain itu, evaluasi juga dapat menggunakan skor OVIS (*Overall Variance Index Score*) untuk menggambarkan kinerja laboratorium secara keseluruhan (Siregar dkk, 2018).

Penilaian hasil pemeriksaan menggunakan Indeks Deviasi (ID) dipergunakan rentang 0 - 3. Nilai 0,00 - 0,50 baik sekali, 0,51 - 1,00 baik, 1,10 - 2,00 cukup, 2,1 - 3,00 perlu perbaikan, >3 buruk. Penilaian hasil pemeriksaan menggunakan skor OVIS (*Overall Variance Index Score*) dipergunakan rentang 0 - 400. Nilai 0 -50 berarti sangat baik, nilai 51-100 berarti baik sekali, nilai 101-200 berarti cukup, nilai 201-300 berarti kurang, nilai >301 berarti kurang sekali. Pelaksanaan program ini biasanya dilakukan oleh perhimpunan profesi atau perusahaan pembuat serum kontrol atau reagen. Jangkauan daerah umumnya tidak luas (dalam satu kota atau satu provinsi). Keikutsertaan dari peserta didasarkan atas sukarela. Pemantapan kualitas antar laboratorium juga dapat diadakan oleh pemerintah (*proficiency testing*). Jangkauan meliputi daerah yang lebih luas. Pada jenis *proficiency testing*, umumnya lebih bersifat pengawasan terhadap kualitas laboratorium peserta. Tujuan dari pemantapan kualitas antar laboratorium terutama ditekankan pada pemantapan akurasi (Siregar dkk, 2018).

4. Tahapan-tahapan

a. Pra-Analitik

Kegiatan pada tahap pra-analitik mencakup serangkaian aktivitas yang dilakukan oleh laboratorium sebelum pemeriksaan spesimen, meliputi:

1) Persiapan pasien

- 2) Pemberian identitas spesimen
- 3) Pengambilan dan penampungan spesimen
- 4) Penanganan spesimen
- 5) Pengiriman spesimen
- 6) Pengolahan dan penyiapan spesimen (Siregar dkk, 2018).

Kegiatan ini dilakukan untuk memastikan bahwa spesimen yang diambil benar-benar representatif sesuai dengan kondisi pasien, mencegah kesalahan dalam jenis spesimen, dan menghindari kemungkinan tertukarnya spesimen antar pasien. Tujuan dari pengendalian tahap pra-analitik adalah untuk menjamin bahwa spesimen yang diterima adalah benar dan berasal dari pasien yang tepat, serta memenuhi kriteria yang telah ditentukan. Kesalahan yang terjadi pada tahap pra-analitik merupakan yang paling signifikan, mencapai 60% hingga 70%. Hal ini sering disebabkan oleh spesimen yang tidak memenuhi syarat saat diterima di laboratorium. Spesimen dari pasien dapat diibaratkan sebagai bahan baku yang akan diproses, jika bahan baku tersebut tidak memenuhi standar, maka hasil pemeriksaan pun akan salah. Oleh karena itu, sangat penting untuk mempersiapkan pasien dengan baik sebelum pengambilan spesimen. Spesimen yang tidak memenuhi syarat sebaiknya ditolak, dan pengambilan ulang perlu dilakukan untuk menghindari kerugian bagi laboratorium (Siregar dkk, 2018).

b. Analitik

Kegiatan laboratorium yang dilakukan pada tahap analitik meliputi:

- 1) Pemeriksaan spesimen
- 2) Pemeliharaan dan Kalibrasi alat
- 3) Uji kualitas reagen
- 4) Uji Ketelitian – ketepatan (Siregar dkk, 2018).

Tujuan dari pengendalian tahap analitik adalah untuk memastikan bahwa hasil pemeriksaan spesimen pasien dapat dipercaya dan valid, sehingga klinisi dapat menggunakan hasil tersebut untuk menegakkan diagnosis. Meskipun tingkat kesalahan pada tahap analitik berkisar antara 10% hingga 15%, yang lebih rendah dibandingkan dengan tahap pra-analitik, laboratorium tetap perlu memperhatikan setiap kegiatan di tahap ini. Kegiatan pada tahap analitik lebih mudah untuk dikendalikan karena semuanya berlangsung di dalam laboratorium, sementara pada tahap pra-analitik, terdapat faktor-faktor yang berkaitan dengan pasien yang kadang sulit untuk dikontrol. Laboratorium harus melakukan pemeliharaan dan kalibrasi alat secara rutin atau sesuai kebutuhan agar pemeriksaan spesimen pasien berjalan lancar tanpa gangguan dari peralatan. Kerusakan alat dapat menghambat aktivitas laboratorium dan berdampak negatif pada performa laboratorium itu sendiri (Siregar dkk, 2018).

Untuk mencapai mutu yang diharapkan, laboratorium wajib melakukan uji ketelitian dan ketepatan. Uji ketelitian, yang juga dikenal sebagai pemantapan presisi, berfungsi sebagai indikator untuk mendeteksi adanya penyimpangan akibat kesalahan acak. Sementara itu, uji ketepatan atau pemantapan akurasi, digunakan untuk mengenali kesalahan sistemik. Pelaksanaan uji ini dilakukan dengan menguji bahan kontrol yang nilainya sudah diketahui (assayed control sera). Jika hasil pemeriksaan bahan kontrol berada dalam rentang nilai kontrol yang ditetapkan, maka hasil pemeriksaan spesimen pasien dianggap layak untuk dilaporkan (Siregar dkk, 2018).

c. Pasca Analitik

Kegiatan laboratorium yang dilakukan pada tahap pasca analitik yaitu sebelum hasil pemeriksaan diserahkan ke pasien, meliputi:

- 1) Penulisan hasil
- 2) Interpretasi hasil
- 3) Pelaporan Hasil (Siregar dkk, 2018).

Pada tahap pasca-analitik, tingkat kesalahan berkisar antara 15% hingga 20%. Meskipun angka ini lebih rendah dibandingkan dengan kesalahan yang terjadi pada tahap pra-analitik, tahap ini tetap memiliki peranan yang sangat penting. Kesalahan dalam penulisan hasil pemeriksaan pasien dapat menyebabkan klinisi memberikan

diagnosis yang keliru. Selain itu, kesalahan dalam menginterpretasikan dan melaporkan hasil pemeriksaan juga dapat berpotensi membahayakan pasien (Siregar dkk, 2018).

5. Validasi Metode

Validasi suatu prosedur analisis adalah proses yang dilakukan melalui kajian laboratorium untuk memastikan bahwa karakteristik kinerja prosedur tersebut telah memenuhi persyaratan sesuai dengan tujuan penggunaannya. Karakteristik kinerja analitik yang digunakan dalam validasi metode mencakup akurasi, presisi, spesifisitas, batas deteksi, batas kuantitasi, linearitas, rentang, dan ketegaran (Depkes RI, 2014).

Menurut ISO 17025, validasi adalah proses konfirmasi melalui pemeriksaan dan penyediaan bukti objektif bahwa persyaratan tertentu untuk tujuan spesifik telah terpenuhi. Di sisi lain, dalam pedoman *Quality Assurance Standards for Forensic DNA Testing Laboratories*, validasi didefinisikan sebagai proses evaluasi prosedur untuk menentukan efektivitas dan keandalannya dalam analisis, guna menunjukkan bahwa metode tersebut sesuai untuk tujuan yang dimaksudkan (Riyanto, 2014).

Sementara itu, Eurachem juga mendefinisikan validasi sebagai konfirmasi melalui pemeriksaan dan penyediaan bukti objektif bahwa persyaratan tertentu untuk penggunaan yang dimaksudkan telah dipenuhi. Proses validasi metode mencakup penetapan karakteristik

kinerja dan keterbatasan metode serta identifikasi faktor-faktor yang dapat mempengaruhi karakteristik ini, serta verifikasi sejauh mana metode tersebut cocok untuk menyelesaikan masalah analitis tertentu (Riyanto, 2014).

Beberapa tujuan validasi metode uji adalah :

- a. Untuk menerima sampel individu sebagai anggota dari populasi yang diteliti.
 - b. Untuk mengakui sampel pada proses pengukuran.
 - c. Untuk meminimalkan pertanyaan tentang keaslian sampel.
 - d. Untuk memberikan kesempatan bagi resampling bila diperlukan
- (Riyanto, 2014).

Validasi metode analisis bertujuan untuk memastikan dan mengkonfirmasi bahwa metode analisis tersebut sudah sesuai untuk peruntukannya. Validasi biasanya diperuntukkan untuk metode analisa yang baru dibuat dan dikembangkan. Sedangkan untuk metode yang memang telah tersedia dan baku (misal dari AOAC, ASTM dan lainnya), namun metode tersebut baru pertama kali akan digunakan di laboratorium tertentu, biasanya tidak perlu dilakukan validasi, namun hanya verifikasi. Tahapan verifikasi mirip dengan validasi hanya saja parameter yang dilakukan tidak selengkap validasi (Riyanto. 2014).

6. Parameter Validasi

a. Presisi

Presisi adalah ukuran seberapa dekat hasil analisis dari serangkaian pengukuran ulang terhadap ukuran yang sama. Presisi ini mencerminkan kesalahan acak dalam suatu metode pengujian. Secara umum, presisi diukur dalam dua kondisi yang diterima, yaitu kondisi pengulangan dan kondisi reproduksibilitas. Pada kondisi pengulangan, pengukuran dilakukan oleh analis yang sama, pada hari yang sama, menggunakan instrumen dan bahan yang sama di laboratorium yang sama. Sebaliknya, kondisi reproduksibilitas melibatkan variasi, seperti analis yang berbeda, hari yang berbeda, instrumen yang berbeda, atau bahkan laboratorium yang berbeda (Riyanto, 2014).

Presisi biasanya dinyatakan dalam bentuk koefisien variasi atau deviasi standar relatif yang dihitung dari hasil analisis pada standar kontrol kualitas yang disiapkan secara independen. Nilai presisi dipengaruhi oleh konsentrasi dan harus diuji pada berbagai konsentrasi dalam rentang kerja, termasuk konsentrasi rendah, sedang, dan tinggi. Untuk konsentrasi rendah, presisi yang dapat diterima umumnya berada di angka 20% (Riyanto, 2014).

b. Akurasi

Akurasi adalah ukuran yang menggambarkan perbedaan antara hasil tes yang diharapkan dan nilai referensi yang diterima,

yang disebabkan oleh kesalahan sistematis dalam metode atau laboratorium. Akurasi biasanya dinyatakan dalam bentuk persentase. Bersama dengan presisi, akurasi berkontribusi pada perhitungan total kesalahan analisis. Umumnya, akurasi diestimasi dengan menganalisis sampel pada konsentrasi yang berbeda (rendah, sedang, dan tinggi) dalam rentang kerja metode. Standar standar konsentrasi ini harus berbeda dari yang digunakan untuk membuat kurva kalibrasi dan berasal dari larutan yang disiapkan secara terpisah (Riyanto, 2014).

c. Linearitas

Linieritas merujuk pada kemampuan suatu metode analisis untuk menghasilkan hasil yang proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel pada rentang tertentu. Uji ini dilakukan untuk mengevaluasi kemampuan standar dalam mendeteksi analit dalam contoh. Linieritas biasanya dinyatakan dengan variansi di sekitar garis regresi, yang dihitung berdasarkan persamaan matematis dari data yang diperoleh melalui pengukuran analit dalam sampel dengan berbagai konsentrasi. Proses matematis dalam pengujian linieritas dilakukan melalui persamaan garis lurus menggunakan metode kuadrat terkecil (*least square method*) antara hasil analisis dan konsentrasi analit. Linieritas metode dapat menunjukkan ketelitian analisis suatu metode, yang ditandai dengan nilai koefisien determinasi $> 0,997$. Apabila nilai koefisien determinasi (R^2) pada

uji linearitas tidak mencapai $>0,997$, maka hubungan antara konsentrasi analit dan respon instrumen dianggap tidak cukup linear. Kondisi ini menunjukkan bahwa kenaikan konsentrasi tidak diikuti oleh kenaikan respon secara proporsional, sehingga dapat menyebabkan ketidakakuratan dalam pengukuran. Jika nilai ini tidak terpenuhi, maka metode dianggap tidak valid (Riyanto, 2014).

Uji linieritas dilakukan dengan menggunakan serangkaian larutan standar yang terdiri dari minimal empat konsentrasi berbeda, dengan rentang antara 50-150% dari kadar analit dalam sampel. Parameter yang digunakan untuk mengukur hubungan kelinieran adalah koefisien korelasi (r) dan koefisien determinasi (R) dalam analisis regresi linier $y = bx + a$ (di mana b adalah kemiringan, a adalah intersep, x adalah konsentrasi analit dan y adalah respon instrumen). Koefisien determinasi merupakan rasio variasi yang dijelaskan terhadap variasi total dan nilainya selalu non-negatif, sehingga ditandai dengan R^2 . Sementara itu, koefisien korelasi mengukur hubungan linier antara dua set data dan dilambangkan dengan r . Hubungan linier yang ideal tercapai jika nilai $a = 0$ dan $r = +1$ atau -1 , yang menunjukkan hubungan sempurna, yaitu tanda positif (+) menunjukkan korelasi positif dengan arah garis miring ke kanan, sedangkan tanda negatif (-) menunjukkan korelasi negatif dengan arah garis miring ke kiri (Riyanto, 2014). Menurut Westgard (2023), uji linearitas dilakukan dengan 5 seri konsentrasi sampel

yang berbeda, dalam rentang antara 0-100% (0%, 25%, 50%, 75%, 100%) kemudian masing-masing konsentrasi diukur sebanyak 3 replikasi dan dihitung rata-ratanya serta disajikan dalam kurva kalibrasi.

d. *Limit of Detection* (LoD)

Limit of Detection (LoD) merupakan konsentrasi analit terendah yang masih dapat dideteksi tetapi belum tentu dapat dikuantifikasi dengan presisi dan akurasi yang memadai. LoD juga diartikan sebagai konsentrasi terendah yang dapat dibedakan dari kebisingan latar belakang dengan tingkat kepercayaan tertentu (Riyanto, 2014). LoD dihitung dengan rumus berikut (Nurhayati dkk, 2019):

$$\text{Absorban LoD } (y) = (\bar{x}) \text{ blanko} + 3\text{SD blanko}$$

$$\text{Konsentrasi LoD } (x) = \frac{(y-a)}{b}$$

e. *Limit of Quantification* (LoQ)

Limit of Quantification (LoQ) adalah konsentrasi analit terendah yang tidak hanya dapat dideteksi tetapi juga dapat dikuantifikasi dengan tingkat presisi dan akurasi yang dapat diterima. LoQ biasanya lebih tinggi dari LoD (Riyanto, 2014). LoQ dihitung dengan rumus berikut (Nurhayati dkk, 2019):

$$\text{Absorban LoQ } (y) = 3\text{LoD}$$

$$\text{Konsentrasi LoQ } (x) = \frac{(y-a)}{b}$$

Pengujian LoD dan LoQ mengacu pada pedoman CLSI EP 17-A2 yang diuji dengan cara mengukur absorbansi blanko (reagen uji) sebanyak 20 replikasi dalam satu hari.

f. Analisis Kualitatif LoD dan LoQ

Analisis kualitatif adalah metode untuk mengidentifikasi atau mengklasifikasikan suatu zat, yang hasilnya berupa jawaban "ya" atau "tidak" berdasarkan konsentrasi batas tertentu. Dalam metode ini, presisi dan akurasi diukur dari tingkat kesalahan seperti positif palsu (*false positive*) dan negatif palsu (*false negative*). Pada proses validasi, konsentrasi batas ditentukan dengan melihat tingkat kesalahan di berbagai level, baik di atas maupun di bawah konsentrasi batas yang diharapkan. Konsentrasi batas dipilih pada level di mana tingkat negatif palsu untuk konsentrasi tersebut sangat rendah, yaitu $< 5\%$ (Eurachem, 2014).

g. *Reportable Range*

Reportable range adalah rentang nilai dari suatu besaran (misalnya konsentrasi, jumlah atau intensitas) yang dapat diukur secara akurat oleh suatu instrumen atau sistem pengukuran, dengan ketidakpastian yang telah ditentukan, di bawah kondisi tertentu. Rentang ini merupakan hasil validasi kinerja perangkat diagnostik medis in vitro, sehingga menjamin bahwa pengukuran dalam rentang tersebut dapat diandalkan dan digunakan untuk tujuan diagnostik atau pelaporan hasil (CLSI, 2012).

h. *Recovery*

Recovery dari suatu analit mengacu pada respons detektor yang diperoleh dari jumlah analit yang ditambahkan dan diekstrak dari matriks, yang kemudian dibandingkan dengan respons detektor untuk konsentrasi standar yang benar dan murni. Hal ini dapat dipahami sebagai persentase dari obat, metabolit atau standar internal yang awalnya ada dalam spesimen dan berhasil dipulihkan setelah prosedur. Pada kasus spesimen biologis, blanko dari matriks biologis yang telah selesai diekstrak dapat ditambahkan standar dengan konsentrasi yang diketahui dan murni otentik, kemudian dianalisis. Percobaan *recovery* dilakukan dengan membandingkan hasil analisis sampel yang diekstraksi pada tiga konsentrasi yang berbeda (biasanya menggunakan sampel kontrol untuk mengevaluasi presisi dan akurasi). Meskipun *recovery* tidak harus mencapai 100%, tingkat *recovery* analit dan standar internal harus konsisten di semua konsentrasi yang diuji (Riyanto, 2014).

i. Interferen (Spesifisitas)

Uji interferen dilakukan untuk mengidentifikasi adanya kesalahan sistematis yang disebabkan oleh bahan lain yang mungkin ada dalam sampel. Bahan-bahan ini sering disebut sebagai pengganggu, seperti hemoglobin, bilirubin dan lipid. Kesalahan yang timbul dianggap sebagai kesalahan sistematis yang konstan, karena penambahan konsentrasi tertentu biasanya menghasilkan

kesalahan yang tetap, terlepas dari konsentrasi analit yang diukur dalam spesimen (Bishop dkk, 2010).

Tes pertama, yang disebut *spike sample*, melibatkan penambahan sejumlah analit yang diduga dapat mengganggu ke dalam serum kontrol. Volume pengganggu yang ditambahkan tidak lebih dari 10% dari volume serum kontrol dan konsentrasi bahan pengganggu yang ditambahkan tidak lebih dari 10% dari konsentrasi stok bahan pengganggu. Tes kedua, yang disebut *baseline sample*, mengukur konsentrasi sampel yang sama yang telah diencerkan dengan aquabidest, dengan perbandingan volume pengenceran yang sama dengan *spike sample*. Selanjutnya, perbedaan nilai antara serum kontrol yang ditambahkan pengganggu dan yang tidak ditambahkan pengganggu dianalisis (Bishop dkk, 2010).

Kriteria penerimaan uji ditentukan dengan menghitung kesalahan sistematik atau nilai rata-rata selisih antara *baseline sample* dan *spike sample*, kemudian membandingkannya dengan batas kesalahan yang telah ditentukan. Batas kesalahan ini dihitung dengan mengalikan batas atas normal pemeriksaan dengan TEa (Bishop dkk, 2010).

7. Jenis-Jenis Kesalahan Analitik

Setiap tahap dalam proses pemeriksaan laboratorium memiliki potensi untuk terjadinya kesalahan, baik yang tidak dapat dihindari maupun yang sulit untuk diatasi. Kesalahan yang terjadi pada tahap pra-

analitik adalah yang paling signifikan, mencapai sekitar 68%, sedangkan kesalahan pada tahap analitik berkisar 13% dan pada tahap pasca-analitik sekitar 19% (Usman, 2015). Kesalahan yang terjadi selama proses pemeriksaan laboratorium dapat dibedakan menjadi dua kategori, yaitu kesalahan analitik teknik dan kesalahan non-teknik. Kesalahan teknis umumnya terjadi pada tahap analitik dan terkait dengan penggunaan reagen, peralatan, bahan kontrol, metode pemeriksaan, serta tenaga ahli teknologi laboratorium medis (ATLM). Kesalahan ini dapat berupa kesalahan acak maupun sistematis yang terjadi selama proses pemeriksaan (Siregar dkk, 2018).

Jenis kesalahan analitik meliputi:

a. Kesalahan acak (*random error*)

Kesalahan acak (*random error*) disebabkan oleh faktor-faktor yang memengaruhi proses pengukuran secara acak. Kesalahan ini muncul dari variasi yang bersifat acak dan berada di luar kendali personel yang melakukan pengukuran. Jenis kesalahan ini mencerminkan tingkat ketelitian pemeriksaan. Kesalahan acak akan terlihat ketika pemeriksaan dilakukan berulang kali pada sampel yang sama, dengan hasil yang bervariasi kadang lebih tinggi dan kadang lebih rendah dari nilai yang seharusnya. Hasil pengukuran yang dilakukan berulang kali akan terdistribusi di sekitar nilai sebenarnya (*true value*) dan mengikuti distribusi normal (Gaussian). Meskipun demikian, kesalahan acak ini dapat

diminimalkan dengan melakukan pengulangan pengukuran yang lebih banyak. Untuk menentukan besarnya kesalahan acak, metode statistik dapat digunakan. Kesalahan ini memiliki pola yang tidak tetap dan dapat disebabkan oleh ketidakstabilan, seperti pada alat penangas air, reagen, pipet dan lainnya. Kesalahan ini berkaitan erat dengan presisi atau ketelitian pengukuran.

b. Kesalahan sistmatik (*Systematic error*)

Kesalahan sistematik disebabkan oleh berbagai faktor yang secara konsisten mempengaruhi hasil pengukuran. Kesalahan jenis ini mencerminkan tingkat ketepatan (akurasi) dari pemeriksaan, dimana hasilnya cenderung mengarah ke satu arah, baik selalu lebih tinggi atau lebih rendah dari nilai yang seharusnya. Kesalahan sistematik bersifat berulang dengan pola yang sama dan sering kali disebabkan oleh standar kalibrasi atau peralatan yang tidak memadai. Kesalahan ini berhubungan erat dengan akurasi metode atau alat yang digunakan dan dapat menghasilkan nilai yang tetap atau jika berubah dapat diprediksi. Dengan demikian, kesalahan sistematik akan memberikan bias pada hasil pengukuran, yang bisa bersifat positif atau negatif. Sifat kesalahan ini menunjukkan kecenderungan ke satu arah, sehingga hasil pemeriksaan selalu lebih besar atau selalu lebih kecil dari nilai yang seharusnya. Kesalahan ini tidak dapat diminimalkan dengan melakukan pengulangan

pengukuran dan dalam praktiknya sangat sulit untuk diidentifikasi (Siregar dkk, 2018).

8. Bahan Kontrol

Bahan kontrol adalah bahan yang digunakan untuk mengawasi ketepatan pemeriksaan di laboratorium serta untuk memastikan kualitas hasil pemeriksaan yang dilakukan setiap hari (Siregar dkk, 2018).

Bahan kontrol dapat dibedakan berdasarkan:

a. Sumber bahan kontrol

Berdasarkan asalnya, bahan kontrol dapat berasal dari manusia, hewan atau bahan kimia murni. Untuk pemeriksaan spesimen manusia, disarankan untuk menggunakan bahan kontrol yang juga berasal dari manusia, karena bahan kontrol dari hewan mungkin mengandung zat-zat yang berbeda dengan spesimen manusia.

b. Bentuk bahan kontrol

Berdasarkan bentuknya, bahan kontrol tersedia dalam beberapa jenis, yaitu cair, padat bubuk (liofilisat) dan strip. Bahan kontrol dalam bentuk liofilisat lebih stabil dan memiliki daya tahan yang lebih lama dibandingkan dengan bentuk cair. Di bidang kimia klinik, hematologi, dan imunoserologi, umumnya digunakan bahan kontrol dalam bentuk cair dan liofilisat. Sementara itu, dalam analisis urine, semua tiga bentuk yaitu cair, liofilisat dan strip dapat digunakan.

b. Cara pembuatan bahan kontrol

Bahan kontrol dapat diproduksi secara mandiri atau dibeli dalam bentuk siap pakai. Bahan kontrol yang dibuat sendiri dapat menggunakan bahan dari manusia, seperti serum atau lisat atau dapat juga menggunakan bahan kimia murni. Penting untuk memastikan bahwa bahan kontrol yang diambil dari manusia bebas dari penyakit menular melalui darah, seperti HIV, hepatitis, HCV dan lainnya (Siregar dkk, 2018).

Adapun bermacam-macam bahan kontrol buatan sendiri, yaitu:

a. Pool sera

Bahan kontrol ini dibuat dari kumpulan sisa serum pasien yang dikumpulkan setiap hari. Bahan ini banyak digunakan dalam bidang kimia klinik. Keuntungan dari penggunaan pooled sera meliputi kemudahan dalam memperoleh bahan, berasal dari manusia (pasien), tidak memerlukan proses pelarutan (rekonstitusi) dan biaya yang rendah. Namun, ada beberapa kerugian, seperti merepotkannya tenaga teknis dalam proses pembuatannya, kebutuhan untuk membuat kumpulan serum khusus untuk enzim, serta analisis statistik yang harus dilakukan setiap 3-4 bulan. Selain itu, stabilitas beberapa komponen, seperti aktivitas enzim dan bilirubin, kurang terjamin dan risiko infeksi sangat tinggi.

b. Bahan kontrol kimia murni

Bahan kontrol ini dibuat dari bahan kimia murni (larutan spikes) dan banyak digunakan bidang kimia klinik, urinealisa serta kimia lingkungan.

c. Hemolizat

Bahan kontrol ini dibuat dari lisat, banyak digunakan bidang hematologi.

d. Bahan kontrol dari strain murni

Bahan kontrol ini digunakan untuk pemeriksaan bidang mikrobiologi (Siregar dkk, 2018).

Bahan kontrol yang sudah jadi (komersial), yaitu:

a. *Unassayed*

Bahan ini adalah bahan kontrol yang belum memiliki nilai referensi sebagai patokan. Nilai referensi dapat diperoleh setelah masa awal eksperimental selesai. Umumnya, bahan kontrol ini dibuat dalam kadar normal atau abnormal (tinggi atau rendah).

b. *Assayed*

Bahan ini adalah bahan kontrol yang memiliki nilai referensi serta batas toleransi yang ditentukan berdasarkan metode pemeriksaan yang digunakan. Meskipun lebih mahal, bahan kontrol ini dapat dimanfaatkan untuk mengontrol akurasi dan juga untuk mengevaluasi alat serta metode baru (Siregar dkk, 2018).

9. Dasar Statistik

a. *Mean* (Rerata)

Mean adalah hasil dari pembagian total nilai pemeriksaan dengan jumlah pemeriksaan yang dilakukan. Biasanya, mean digunakan sebagai nilai target dalam pengendalian kualitas (QC) (Siregar dkk, 2018). Rumus mean sebagai berikut.

$$\bar{X} = \frac{\sum(x)}{n}$$

Keterangan :

$\bar{X}$ = Mean

$\sum$ = jumlah hasil pemeriksaan

n = jumlah pemeriksaan

b. Simpangan Baku/ Standar Deviasi (SD)

Standar deviasi (SD) adalah ukuran variasi dalam serangkaian hasil pemeriksaan. SD sangat penting bagi laboratorium untuk menganalisis hasil pengendalian mutu. SD menggambarkan distribusi data, dengan nilai rerata sebagai target dan SD sebagai ukuran sebaran data. Ini memungkinkan penentuan rentang nilai yang dapat diterima dalam pengendalian kualitas (QC). Batas dari rentang nilai yang dapat diterima ditentukan berdasarkan jarak dari nilai mean. Nilai mean dan nilai $\pm 1, 2$, serta 3 SD diperlukan untuk grafik yang digunakan dalam kontrol harian. Untuk menghitung

2SD, SD dikalikan dengan 2 dan kemudian ditambahkan atau dikurangkan dari mean. Sedangkan untuk menghitung 3SD, SD dikalikan dengan 3, lalu ditambahkan atau dikurangkan dari mean. Berikut adalah rumus untuk menghitung standar deviasi. Rumus untuk menghitung standar deviasi sebagai berikut (Siregar dkk, 2018).

$$SD = \sqrt{\frac{(x - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

Keterangan :

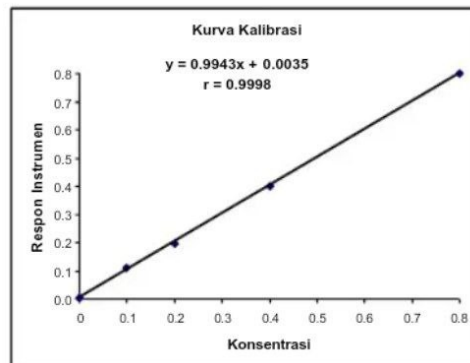
x = nilai hasil pemeriksaan

$(\bar{x})$ = mean

n = jumlah pemeriksaan

10. Kurva kalibrasi

Penentuan konsentrasi analit dalam sampel secara kuantitatif dengan menggunakan instrumen kimia umumnya dilakukan melalui kurva kalibrasi yang menunjukkan linearitas sesuai dengan batas keberterimaan. Kurva kalibrasi adalah grafik yang membentuk garis lurus (linear) yang menggambarkan hubungan antara konsentrasi larutan kerja, termasuk blanko, dengan respon proporsional dari instrumen yang digunakan (Hadi dan Asiah, 2014).



Gambar 1. Kurva kalibrasi

Sumber : Hadi dan Asiah, 2014.

Metode statistik yang umum digunakan untuk menganalisis hubungan antara konsentrasi analit dan respon instrumen adalah analisis regresi linear. Ketika konsentrasi analit meningkat, respon instrumen dapat naik, turun atau mungkin tidak mengalami perubahan pada tingkat konsentrasi tertentu. Analisis regresi linear diterapkan dalam pembuatan kurva kalibrasi. Deret larutan kerja dengan konsentrasi yang berbeda secara proporsional menghasilkan respon instrumen yang juga proporsional pada tingkat konsentrasi tertentu. Hubungan proporsional antara konsentrasi analit dan respon instrumen ini akan membentuk garis lurus. Garis lurus yang terbentuk tersebut mengikuti persamaan matematis tertentu (Hadi dan Asiah, 2014).

$$y = bx + a$$

Keterangan :

y = respon instrumen

x = konsentrasi analit

a = intersep (*intercept*)

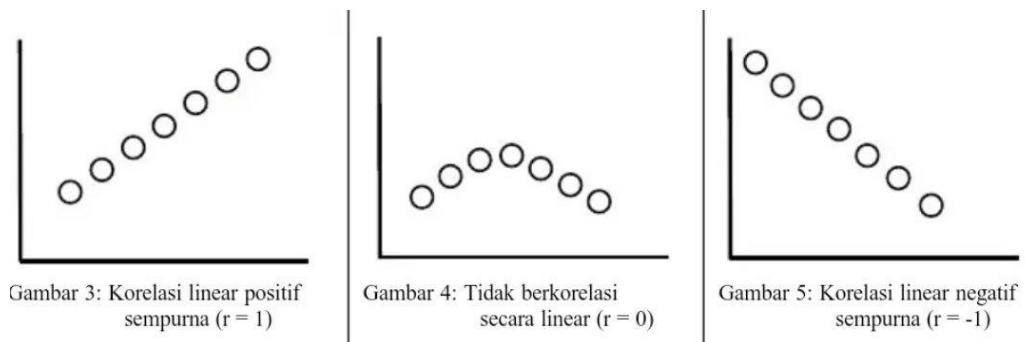
b =kemiringan (*slope*)

Koefisien korelasi (r) bervariasi dari -1 hingga 1 yang berarti bahwa (Hadi dan Asiah, 2014) :

$r = 1$: korelasi linear positif sempurna

$r = 0$ tidak berkorelasi secara linear

$r = -1$ korelasi linear negatif sempurna



Gambar 2. Koefisien korelasi (r)

Sumber : Hadi dan Asiah, 2014.

11. Parameter Pemeriksaan

a. Definisi Glukosa

Glukosa adalah karbohidrat yang paling penting dalam penyediaan energi bagi tubuh. Semua jenis karbohidrat yang dikonsumsi oleh manusia, baik itu monosakarida, disakarida, maupun polisakarida, akan diubah menjadi glukosa di dalam hati.

Glukosa berfungsi sebagai salah satu molekul utama dalam proses pembentukan energi di tubuh. Oleh karena itu, pemeriksaan kadar glukosa dalam tubuh sangatlah penting (Taurusita dkk, 2019).

Tujuan dari pemeriksaan glukosa darah antara lain :

- 1) Memeriksa apakah ada kondisi hiperglikemia atau hipoglikemia.
- 2) Membantu diagnosis diabetes.
- 3) Memantau kadar glukosa darah pada penderita diabetes (Taurusita dkk, 2019).

Pemeriksaan kadar glukosa darah dapat menggunakan darah lengkap seperti serum atau plasma. Serum lebih banyak mengandung air dari pada darah lengkap, sehingga serum berisi lebih banyak glukosa daripada darah lengkap. Serum adalah bagian dari darah yang tersisa setelah darah membeku (Subiyono dkk, 2016).

b. Nilai Rujukan Pemeriksaan Kadar Glukosa

Tabel 1. Nilai Rujukan Kadar Glukosa

Pemeriksaan	Nilai Rujukan
Gula darah sewaktu (GDS)	< 200 mg/dL
Gula darah puasa (GDP)	80 – 125 mg/dL
Gula darah 2 jam post-prandial (GDPP)	110 – 180 mg/dL

Sumber : PERKENI, 2011

c. Prinsip Pemeriksaan

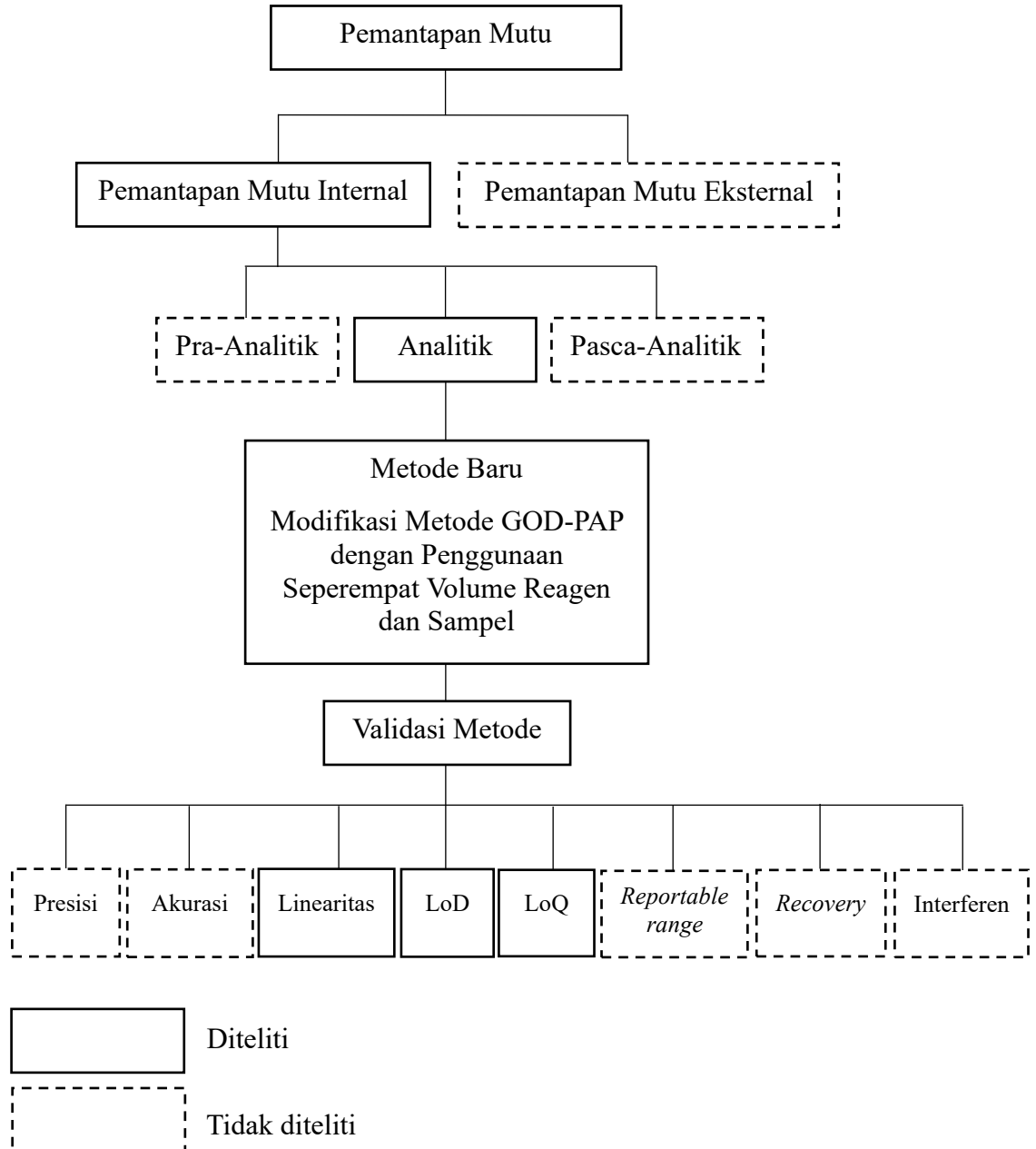
Salah satu metode yang umum digunakan untuk pemeriksaan glukosa darah adalah GOD-PAP (*Glucose Oxidase - Peroxidase Aminoantipirin*). Metode ini sangat spesifik dalam mengukur glukosa dalam serum atau plasma melalui reaksi dengan glukosa oksidase, menghasilkan asam glukonat dan hidrogen peroksida (Taurusita dkk, 2019). Pemeriksaan glukosa darah dengan metode GOD-PAP lebih banyak dilakukan di laboratorium karena dianggap memiliki ketelitian yang lebih tinggi, sehingga menghasilkan hasil yang lebih akurat. Alat yang digunakan dalam metode ini adalah fotometer (Subiyono dkk, 2016). Prinsip dari metode ini adalah mengukur kadar glukosa setelah proses oksidasi enzimatis yang dibantu oleh enzim glukosa oksidase (GOD). Hidrogen peroksida yang terbentuk kemudian bereaksi dengan fenol dan 4-aminofenazon (PAP) untuk membentuk senyawa quinoneimin berwarna merah-ungu, dengan bantuan peroksidase, di mana quinoneimin berfungsi sebagai indikator reaksi (Taurusita dkk, 2019).

d. Spektrofotometri

Spektrofotometri adalah metode analisis yang didasarkan pada pengukuran serapan sinar monokromatis oleh larutan berwarna pada panjang gelombang tertentu, menggunakan monokromator prisma atau kisi difraksi dan

detektor fototube. Seperti halnya spektrometri, spektrofotometri juga merupakan teknik untuk mengukur jumlah zat yang berlandaskan pada spektroskopi, tetapi lebih fokus pada panjang gelombang tertentu, seperti UV (ultraviolet), cahaya tampak, dan inframerah. Metode ini termasuk dalam kategori elektromagnetik spektroskopi. Alat yang digunakan dalam spektrofotometri disebut spektrofotometer, yang merupakan jenis fotometer yang berfungsi untuk mengukur intensitas cahaya. Spektrofotometer dapat mengukur intensitas sebagai fungsi dari warna atau, lebih spesifik lagi, sebagai fungsi panjang gelombang (Yudono, 2017).

B. Kerangka Teori



Gambar 3. Kerangka Teori

C. Pertanyaan Penelitian

1. Apakah penggunaan seperempat volume reagen dan sampel dalam pemeriksaan glukosa darah metode GOD-PAP (*Glucose Oxidase - Peroxidase Aminoantipirin*) menghasilkan hubungan linear?
2. Berapakah nilai *Limit of Detection* (LoD) pada penggunaan seperempat volume reagen dan sampel dalam pemeriksaan glukosa darah metode GOD-PAP (*Glucose Oxidase - Peroxidase Aminoantipirin*)?
3. Berapakah nilai *Limit of Quantitation* (LoQ) pada penggunaan seperempat volume reagen dan sampel dalam pemeriksaan glukosa darah metode GOD-PAP (*Glucose Oxidase - Peroxidase Aminoantipirin*)?