

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Pemantapan Mutu

Pemantapan mutu (*quality assurance*) laboratorium klinik merupakan serangkaian kegiatan yang dilakukan secara sistematis untuk menjamin ketelitian, ketepatan, dan ketepatan hasil pemeriksaan laboratorium. Pemantapan mutu berperan untuk memastikan bahwa semua proses dalam laboratorium berjalan sesuai dengan standar untuk menghasilkan data yang valid (ISO 17025, 2017).

Pelaksanaan pemantapan mutu memberikan berbagai manfaat penting, di antaranya meningkatkan kualitas layanan laboratorium, menumbuhkan rasa percaya diri dan profesionalisme tenaga Ahli Teknologi Laboratorium Medis (ATLM), serta menjadi alat pengawasan manajerial yang efektif dalam menjamin mutu pelayanan. Selain itu, pemantapan mutu juga berperan dalam membuktikan ketepatan hasil pemeriksaan apabila terdapat keraguan dari pengguna jasa laboratorium, serta membantu menghemat biaya pasien karena mengurangi kemungkinan kesalahan hasil pemeriksaan yang dapat menyebabkan pemeriksaan ulang (*duplo*) (Apriliana, 2019).

Semua kegiatan pemantapan mutu di laboratorium bertujuan untuk menghasilkan pemeriksaan laboratorium yang memiliki mutu

dan terjamin ketepatan serta ketelitiannya dalam menegakkan diagnosa pasien. Melaksanakan kegiatan pemantapan mutu laboratorium juga memiliki manfaat antara lain membuat mutu hasil di laboratorium akan meningkat dan kepercayaan dokter terhadap hasil laboratorium juga akan meningkat. Manfaat lain dari kegiatan pemantapan mutu yaitu pimpinan laboratorium akan mudah dalam melakukan pengawasan terhadap hasil laboratorium (Setiawan, 2016).

2. Laboratorium Klinik

Laboratorium klinik merupakan fasilitas kesehatan yang menyediakan layanan pemeriksaan spesimen klinik yang sangat penting dalam mendukung diagnosis penyakit dan melakukan skrining kondisi kesehatan tubuh. Laboratorium klinik adalah laboratorium kesehatan yang melaksanakan pelayanan pemeriksaan spesimen klinik untuk mendapatkan informasi tentang kesehatan perorangan terutama untuk menunjang upaya diagnosis penyakit, penyembuhan penyakit, dan pemulihan Kesehatan (Permenkes, 2013). Oleh karena itu mutu hasil pemeriksaan laboratorium klinik yang valid sangat penting karena hasil ini digunakan untuk menegakkan diagnosa seorang pasien.

Dalam laboratorium klinik pemeriksaan kimia klinik berfungsi untuk menganalisis kondisi patologi dan fisiologi tubuh secara kualitatif maupun kuantitatif. Selain berperan dalam diagnosis, tatalaksana, serta pemantauan dan kontrol, pemeriksaan ini juga berkontribusi dalam pencegahan penyakit (Liana dkk., 2022).

3. Parameter

a. Definisi Albumin

Albumin merupakan protein paling banyak dalam serum berkisar hingga 60%, dengan kadar 3,5-5,1 g/dL. Secara fisiologis, albumin berkontribusi sekitar 80% terhadap tekanan osmosis koloidal (onkotik) dalam plasma darah (Kee, 2013). Albumin merupakan protein larut air yang diproduksi di hati melalui dua jalur sintesis yang berbeda di polisom bebas dan piliribosom. Albumin yang diproduksi di polisom bebas digunakan untuk keperluan intravaskuler, sementara albumin yang dihasilkan di piliribosom didistribusikan ke seluruh tubuh. Setelah disintesis, albumin didistribusikan secara intravaskuler dalam plasma dan ekstrasvaskuler di berbagai jaringan tubuh, seperti otot, kulit, dan jaringan lainnya (Murray dkk., 2009).

Mekanisme kerja albumin dalam tubuh untuk mengikat secara lemah dan dinamis, yaitu berinteraksi dengan partikel bermuatan negatif dan positif, serta berperan sebagai pembawa molekul metabolit dan obat-obatan (Indrawati dkk., 2017). Albumin berperan penting dalam tubuh, di antaranya membentuk jaringan sel baru, mempercepat pemulihan apabila jaringan sel tubuh rusak dan menjaga keseimbangan cairan antara pembuluh darah dan cairan di rongga interstitial. Selain itu, albumin berperan sebagai antioksidan bagi pasien hipoalbuminemia, terutama setelah

menjalani prosedur bedah atau mengalami cedera akibat kecelakaan atau luka bakar. Hal ini dikarenakan pada struktur albumin mengandung beberapa gugus sulfhidril (-SH) yang berfungsi untuk mengikat radikal bebas dalam darah, dan gugus tiol ini memiliki peran penting dalam penanganan sepsis (Fuadi dkk., 2017).

Albumin merupakan protein yang penting yang terdapat dalam darah. Albumin dihasilkan oleh organ hati kemudian beredar kealiran darah untuk membantu tubuh menjaga keseimbangan cairan dan juga berfungsi membawa nutrisi yang dibutuhkan oleh tubuh untuk mempertahankan dan perbaikan jaringan (Rochmaningsih, 2018).

b. Nilai Rujukan Albumin

Nilai rujukan pada usia dewasa, kadar albumin berada dalam kisaran 3,5–5,2 g/dL atau 35–52 g/L, yang setara dengan 507–756 $\mu\text{mol/L}$ setelah dikonversi menggunakan faktor konversi yang sesuai (Diasys, 2014). Rentang nilai albumin untuk kategori lainnya dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Nilai Normal Kadar Albumin

Usia	Kadar Albumin
Dewasa	3,5 – 5,0 g/dl
Anak	4,0 – 5,8 g/dl
Bayi	4,4 – 5,4 g/dl
Bayi baru lahir	2,9 – 5,4 g/dl

Sumber: Kee, 2013.

4. Metode Pemeriksaan

a. Definisi

Pada pemeriksaan albumin salah satu metode yang digunakan adalah metode BCG (*Bromocresol Green*), yaitu pemeriksaan albumin dalam larutan sitrat membentuk kompleks warna. Absorbansi dari kompleks warna ini proporsional dengan konsentrasi albumin dalam sampel. Intensitas warna hijau menunjukkan kadar albumin dalam serum. (Budiyanto dkk., 2024).

Pengukuran albumin dengan metode BCG tidak dipengaruhi senyawa pengganggu seperti bilirubin dan salisilat. Namun, hemoglobin dapat berikatan dengan zat warna yang di setiap 100 mg/ dL Hb, albumin meningkat 0,1 g/dL. Pada keadaan hipalbuminemia pengukurannya dengan BCG menghasilkan yang lebih tinggi dari sebenarnya. Hal ini terutama didapat di penderita dengan kadar albumin yang rendah bersamaan dengan fraksi σ globulin yang meningkat (Iwasaki dkk., 2023).

Penelitian ini akan menggunakan metode BCG (*Bromocresol Green*) karena reagen pada metode BCG merupakan reagen komersial. Reagen komersial yaitu reagen yang sudah terstandar oleh pabrik. Reagen ini direkomendasikan sebagai pilihan utama dalam pemeriksaan di laboratorium. Metode BCG direkomendasikan sebagai pemeriksaan kadar albumin karena reagen yang digunakan dalam analisis laboratorium ialah reagen

komersial yang sudah diatur komposisinya sehingga metode BCG mempunyai beberapa kelebihan seperti tingkat ketelitian yang tinggi, lebih akurat, lebih spesifik dan memiliki tingkat sensitifitas yang lebih baik karena tidak dipengaruhi oleh senyawa pengganggu seperti salisilat dan bilirubin, selain itu metode BCG relatif sederhana (Siregar dkk., 2018).

b. Prinsip

Prinsip kerja dari metode BCG (*Bromcresol Green*) ialah dengan adanya *bromcresol green* pada pH sedikit asam (larutan sitrat), albumin serum menghasilkan perubahan warna indikator dari kuning kehijauan menjadi hijau kebiruan kemudian diperiksa menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm. Intensitas warna hijau ini menunjukkan kadar albumin yang terdapat dalam serum (Diasys, 2019).

5. Modifikasi Setengah Resep

Modifikasi metode setengah resep atau volume merupakan teknik yang memodifikasi penggunaan volume reagen dan sampel hingga setengah dari volume standar dalam prosedur analisis laboratorium. Penggunaan metode setengah resep memiliki keuntungan dalam hal efisiensi sumber daya dan dapat menekan biaya operasional laboratorium tanpa mengurangi kualitas hasil pemeriksaan (Marini, 2016). Meski demikian, modifikasi ini perlu divalidasi sebelum dijadikan prosedur baku guna memastikan konsistensi hasil dan

mengantisipasi potensi perbedaan yang mungkin timbul akibat perubahan volume reagen dan sampel (Nikolac dkk., 2021)

6. Validasi Metode Uji

a. Definisi

Validasi metode uji adalah suatu tindakan penilaian terhadap parameter tertentu, berdasarkan percobaan laboratorium, untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan untuk penggunaannya (Harmita, 2024). Validasi harus dilakukan terhadap metode non-standar dan metode yang dikembangkan laboratorium. Validasi adalah konfirmasi melalui pengujian dan pengadaan bukti yang objektif bahwa persyaratan tertentu untuk suatu maksud khusus dipenuhi. Laboratorium harus memvalidasi:

- 1) Metode tidak baku
- 2) Metode Metode yang didesain/dikembangkan laboratorium
- 3) Metode baku yang digunakan diluar lingkup yang dimaksud
- 4) Metode baku yang dimodifikasi baku untuk menegaskan dan mengkonfirmasi bahwa metode itu sesuai untuk penggunaan yang dimaksudkan (ISO/IEC 17025, 2017).

Validasi metode merupakan suatu tindakan penilaian terhadap parameter tertentu, berdasarkan percobaan laboratorium, untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan untuk penggunaannya. Suatu metode analisis baru dapat digunakan bila telah dilakukan validasi dan kondisinya

disesuaikan dengan laboratorium dan peralatan yang tersedia (Harmita, 2024). Validasi metode analisis merupakan suatu tindakan penilaian terhadap parameter tertentu, berdasarkan percobaan laboratorium, untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan untuk penggunaannya. Tujuan validasi metode analisis adalah untuk membuktikan bahwa semua cara atau prosedur pengujian yang digunakan mencapai hasil yang diinginkan secara konsisten atau terus menerus (Uno dkk., 2015).

7. Parameter Validasi Metode Uji

a. Akurasi

1) Definisi

Akurasi (ketepatan) adalah ukuran perbedaan antara harapan hasil tes dan nilai referensi yang diterima karena metode sistematis dan kesalahan laboratorium. Akurasi merupakan kemampuan dalam mengukur dengan tepat yang sesuai dengan nilai benar (*true value*) setelah dilakukan secara berulang kali. Akurasi biasanya dinyatakan sebagai persentase. Akurasi dan presisi bersama sama menentukan total kesalahan analisis. Akurasi adalah ukuran yang menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya. Akurasi dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (*recovery*) analit yang ditambahkan (CLSI, 2014).

2) Prosedur

Pelaksanaan uji akurasi menggunakan data dari hasil pengukuran yang sama dengan uji presisi, yaitu sebanyak 25 hasil pengujian untuk setiap tingkat konsentrasi serum kontrol. Uji akurasi dilakukan dengan menggunakan serum kontrol yang memiliki *Target Value* (TV) pada minimal dua level konsentrasi (level rendah dan level tinggi). Setiap konsentrasi serum kontrol dilakukan pengukuran berulang selama lima hari berturut-turut dengan lima replikasi setiap hari (desain 5×5), sehingga diperoleh 25 hasil pengukuran per level (CLSI, 2014).

Selanjutnya dihitung nilai rata-rata hasil pengukuran untuk setiap level, kemudian bandingkan nilai tersebut dengan nilai target bahan kontrol. Bahan kontrol yang menggunakan nilai target dari program uji profisiensi atau *peer-group*, penetapan nilai target mengikuti panduan dalam dokumen EP15-A3, di mana tabel derajat kebebasan gabungan (dfC) disediakan mulai 10 laboratorium sebagai jumlah peserta minimum yang dapat digunakan. Setelah itu, tentukan rentang verifikasi (*verification interval*) berdasarkan nilai target dan ketidakpastian yang berasal dari hasil pengukuran maupun informasi TV yang tersedia. Rentang verifikasi ini menjadi acuan untuk menentukan apakah rata-rata hasil laboratorium masih berada dalam batas yang dapat diterima. Jika rata-rata hasil laboratorium berada di dalam rentang

tersebut, bias dinyatakan tidak signifikan dan metode dianggap memenuhi syarat akurasi. Namun, apabila hasil berada di luar rentang verifikasi, bias dianggap signifikan sehingga laboratorium perlu menilai apakah bias tersebut masih dapat diterima secara klinis berdasarkan batas bias yang ditetapkan laboratorium atau referensi (CLSI, 2014)

b. Presisi

1) Definisi

Presisi adalah ukuran yang menunjukkan derajat kesesuaian antara hasil uji individual, diukur melalui penyebaran hasil individual dari rata-rata jika prosedur diterapkan secara berulang pada sampel sampel yang diambil dari campuran yang homogen. Nilai presisi menggambarkan seberapa dekat suatu hasil pemeriksaan jika dilakukan berulang dengan sampel yang sama. Presisi diukur sebagai simpangan baku atau simpangan baku relatif (koefisien variasi). Precision dapat dinyatakan sebagai *repeatability* (keterulangan) atau *reproducibility* (ketertiruan). Presisi menunjukkan tingkat keakuratan di antara individual hasil uji dalam suatu pengujian. (Siregar dkk., 2018).

Presisi adalah ukuran yang menunjukkan kedekatan antara nilai hasil pengukuran dari sampel yang homogen pada kondisi normal (sampel yang sama diuji secara berurutan dengan menggunakan alat yang sama). Uji presisi berarti kedekatan antar

tiap hasil uji pada suatu pengujian yang sama untuk melihat sebaran diantara nilai benar. Presisi dipengaruhi oleh kesalahan acak (*random error*), antara lain ketidakstabilan instrumen, variasi suhu atau pereaksi, keragaman teknik dan operator yang berbeda (Riyanto, 2014).

2) Prosedur

Pada pelaksanaan uji presisi, dilakukan pengukuran berulang terhadap serum kontrol untuk menilai kestabilan hasil pemeriksaan. Uji ini dilakukan selama lima hari berturut-turut, dengan lima kali pengulangan (replikasi) setiap harinya pada masing-masing tingkat konsentrasi serum kontrol, yaitu level rendah dan level tinggi. Dengan pemeriksaan tersebut, akan diperoleh 25 data hasil pengukuran untuk setiap level konsentrasi. Setelah semua data selama lima hari terkumpul, dilakukan analisis statistik menggunakan metode Analisis Varians (ANOVA). Penggunaan Anova adalah untuk menguji perbedaan antara sejumlah rata-rata populasi. Pengujian ini dilakukan dengan cara membandingkan variansinya (Setiawan, 2019). Pada penelitian ini uji Anova digunakan untuk memisahkan variasi antar-hari (*between-run*) dan dalam-hari (*within-run*).

Dari analisis ini kemudian dihitung dengan rumus (CLSI, 2014):

$$V_w = MS_2$$

$$V_B = (MS1 - MS2) / n_0$$

Keterangan :

V_W : Varian *Within Run*

V_B : Varian *Between Run*

MS1 : Rata-rata kuadrat variasi *between run*

MS2 : Rata-rata kuadrat variasi *within run*

Kemudian dihitung S_{WL} (Deviasi Standar dalam laboratorium)

$$S_{WL} = \sqrt{V_W} + \sqrt{V_B}$$

Dihitung CV_{WL} (Estimasi ketidaktepatan yang diperoleh)

$$\%CVWL = \frac{(S_{WL} \times 100)}{x}$$

Selanjutnya dilakukan perbandingan nilai CV yang sudah dilakukan perhitungan dengan CV klaim (CLSI, 2014).

c. Spesifitas

1) Definisi

Spesifisitas suatu metode adalah kemampuannya yang hanya mengukur zat tertentu saja secara cermat dan seksama dengan adanya komponen lain yang mungkin ada dalam matriks sampel. Spesifitas seringkali dapat dinyatakan sebagai derajat penyimpangan (*degree of bias*) metode yang dilakukan terhadap sampel yang mengandung bahan yang ditambahkan berupa

cemaran, hasil urai, senyawa sejenis, senyawa asing lainnya dan dibandingkan terhadap hasil analisis sampel yang tidak mengandung bahan lain yang ditambahkan (Riyanto, 2014).

Derajat kesesuaian kedua hasil analisis tersebut merupakan ukuran spesifitas. Pada metode analisis yang melibatkan kromatografi, spesifitas ditentukan melalui perhitungan daya resolusinya (R_s). Sebuah metode pemeriksaan yang ideal adalah yang mempunyai sensitivitas dan spesifisitas tinggi yang berarti validitasnya juga tinggi (Siregar dkk., 2018).

2) Prosedur

Untuk uji spesifitas maka zat yang akan diuji harus ditentukan panjang gelombang maksimumnya terlebih dahulu. Selanjutnya dibuat larutan baku, larutan uji dan larutan blanko. Hasil kromatogram standar dan sampel harus menunjukkan waktu retensi yang sama dan pada daerah sekitar waktu retensi tersebut tidak boleh ada gangguan yang dapat dilihat dari kromatogram larutan blanko (NATA, 2012).

d. *Limit of Detection* (LoD)

1) Definisi

LOD adalah konsentrasi analit terendah yang dapat dideteksi dan diidentifikasi dengan mengingat tingkat kepastian. LoD atau limit deteksi merupakan batas terkecil nilai konsentrasi analit yang dapat dideteksi oleh alat tanpa memperhatikan presisi

dan akurasi dari pengujian tersebut (Cahyadi, 2021). Batas terendah yang masih dapat diterima oleh alat dapat ditentukan dengan nilai LOD yang didapatkan lebih kecil dari konsentrasi kadar sampel yang sebenarnya dan syarat keterterimaan nilai LOD yakni lebih kecil dibandingkan dengan LOQ (Mulhaquddin, 2014). Parameter LoD penting dilakukan oleh laboratorium dalam memvalidasi metode. Penentuan LoD dapat dikerjakan dengan 20 kali replikasi dari satu sampel blank dan dinyatakan dengan rumus (Westgard, 2020):

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

2) Prosedur

Penentuan batas deteksi suatu metode berbeda-beda tergantung pada metode analisis itu menggunakan instrumen atau tidak. Pada analisis instrumen batas deteksi dapat dihitung dengan mengukur respon blanko sebanyak 20 kali replikasi (Pum, 2019). Kemudian dihitung nilai rata-rata dan standar deviasi dari pengukuran kadar blanko reagen uji, selanjutnya dimasukkan ke dalam rumus LOD untuk memperoleh konsentrasi LoD (Westgard, 2020).

e. *Limit of Quantitation* (LoQ)

1) Definisi

Batas kuantitasi atau *limit of quantity* (LoQ) didefinisikan sebagai jumlah analit terkecil dalam sampel yang

masih memenuhi kriteria presisi dan akurasi oleh suatu alat. LoQ merupakan batas terkecil yang terdeteksi oleh alat dalam tingkat kecermatan yang baik. Limit kuantitasi bertujuan untuk mengetahui nilai konsentrasi terkecil yang dapat dideteksi alat dan dengan nilai tersebut dapat memberikan tingkat ketelitian oleh analis, oleh karena itu LoD dan LoQ merupakan parameter yang penting dalam proses validasi karena dapat menentukan nilai terkecil yang dapat dibaca oleh alat. Nilai LoQ dikatakan baik jika nilai konsentrasi sampel yang diuji lebih besar dibandingkan nilai LoQ, sehingga dapat diterima dalam akurasi dan presisi (Bouchard, 2014). Nilai limit kuantitasi (LoQ) didapat dari tiga kali lipatnya nilai limit deteksi (LoD). LoQ ditentukan dengan rumus (Westgard, 2020):

$$\text{Nilai LoQ} = 3\text{LoD}$$

2) Prosedur

Uji LoQ dilakukan perhitungan dengan data dari 20 pengukuran respon blangko pada uji LoD. Nilai kadar LoQ kemudian dihitung dengan rumus $3 \times \text{LoD}$ sehingga diperoleh nilai LoQ (Westgard, 2020).

f. Linearitas

1) Definisi

Linieritas merupakan pengujian yang dilakukan untuk mengetahui kemampuan metode analisis dalam memberikan respon proporsional atau linear terhadap konsentrasi analit dalam sampel yang dapat menunjukkan bahwa area analit dalam larutan sampel berada pada rentang tertentu. (Maghfiroh dkk., 2022). Linieritas dapat diukur dengan melakukan pengukuran tunggal pada konsentrasi berbeda-beda. Data yang diperoleh selanjutnya diproses dengan metode kuadrat terkecil, untuk selanjutnya dapat ditentukan nilai kemiringan (*slope*), intersep, dan koefisien korelasinya (Riyanto, 2019).

Parameter hubungan linear yang digunakan yaitu koefisien korelasi (r) dan koefisien determinasi (R) pada analisis regresi linier $y = bx + a$ (b adalah slope, a adalah intersep, x adalah konsentrasi analit dan y adalah respon instrumen). Koefisien determinasi adalah rasio dari variasi yang dijelaskan terhadap variasi keseluruhan. Nilai rasio ini selalu tidak negatif sehingga ditandai dengan R^2 . Koefisien korelasi adalah suatu ukuran hubungan linier antara dua set data dan ditandai dengan r . Tanda positif (+) menunjukkan korelasi positif yang ditandai dengan arah garis yang miring ke kanan, sedangkan tanda negatif (-)

menunjukkan korelasi negatif yang ditandai dengan arah garis yang miring ke kiri (Gandjar dan Rohman, 2014).

Linearitas adalah kemampuan metode analisis memberikan respon proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel (Anna, 2024). Koefisien korelasi dan koefisien determinan ditentukan dengan kurva kalibrasi hubungan antara konsentrasi sebagai sumbu x dan kadar dari pembacaan instrumen dibuat sebagai sumbu y. Linearitas metode dapat diterima apabila nilai koefisien determinan (nilai R²) yang ditunjukkan sebesar >0,997 mendekati 1 (Kartika, 2021).

2). Prosedur

Uji linieritas dilakukan dengan suatu seri larutan standar yang terdiri dari lima konsentrasi yang berbeda yaitu 0%, 25%, 50% 75 % dan 100 % dari kadar analit dalam serum kontrol. Selanjutnya, disiapkan kuvet bersih dan dilakukan pemipetan setengah volume sampel dan reagen yaitu 5 μ L serum dan 500 μ L reagen untuk setiap tingkat pengenceran. Campuran kemudian dihomogenkan dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu 37°C. Setelah inkubasi selesai, kadar diukur pada masing-masing konsentrasi sebanyak tiga kali pengulangan menggunakan fotometer Semi-Auto dengan panjang gelombang 546 nm (CLSI, 2020).

Nilai kadar yang ditampilkan pada layar alat dicatat

secara teliti untuk setiap replikasi. Data hasil pengukuran kemudian digunakan untuk menyusun kurva kalibrasi, dan linearitas dievaluasi melalui nilai koefisien determinasi (R^2), dengan kriteria penerimaan yaitu $R^2 > 0,9970$ (Riyanto, 2019).

g. Kisaran

1) Definisi

Kisaran (*range*) adalah konsentrasi terendah dan tertinggi yang mana suatu metode analisis menunjukkan akurasi, presisi dan linieritas yang mencukupi (Gandjar dan Rohman, 2014). Rentang suatu prosedur analisis adalah interval antara konsentrasi analit tertinggi dan terendah dalam sampel yang telah menunjukkan bahwa prosedur analisis tersebut memiliki tingkat presisi, akurasi, dan linearitas yang memadai. Rentang ini biasanya dinyatakan dalam satuan yang sama dengan hasil uji (misalnya, persen, bagian per juta) yang diperoleh melalui prosedur analisis (Sahoo dkk., 2018). Menurut Chavan dan Desai (2022), terdapat tiga kategori rentang minimum yang perlu diperhatikan dalam pengujian kisaran, yaitu:

- a) Dalam pengujian kadar zat aktif atau produk obat jadi, rentang yang digunakan berkisar antara 50% hingga 120% dari konsentrasi uji

- b) Untuk keseragaman kandungan, rentang yang digunakan adalah 70% hingga 130% dari konsentrasi uji
- c) Dalam pengujian pelarutan, digunakan $\pm 20\%$ dari rentang konsentrasi yang telah ditetapkan.

2) Prosedur

Pada uji *range*, prosedur dimulai dengan menyiapkan beberapa larutan uji pada berbagai tingkat konsentrasi yang mewakili batas bawah, tengah dan batas atas dari konsentrasi analit yang diharapkan, biasanya mencakup kisaran 50%-150% dari konsentrasi target. Setiap tingkat konsentrasi dianalisis menggunakan metode yang telah ditetapkan dalam kondisi operasional standar untuk memastikan konsistensi hasil. Pengukuran dilakukan secara berulang, umumnya sebanyak tiga kali atau lebih pada setiap tingkat, untuk memperoleh data yang representatif terhadap variabilitas analitik (NATA, 2012).

Selanjutnya, hasil pengukuran dievaluasi dengan menghitung hubungan antara respon instrumen dan konsentrasi analit untuk menilai linearitas metode, serta menentukan tingkat akurasi melalui persentase pemulihan dan presisi melalui nilai *relative standard deviation* (RSD). Berdasarkan hasil analisis tersebut, rentang konsentrasi dinyatakan valid apabila seluruh titik konsentrasi

menunjukkan linearitas yang baik, nilai pemulihan berada dalam batas penerimaan, dan presisi hasil memenuhi kriteria yang telah ditetapkan (Chavan dan Desai, 2022).

h. *Robustness*

1) Definisi

Uji *robustness* merupakan pengujian yang dilakukan untuk mengetahui kekuatan dari suatu metode analisis untuk mempertahankan hasil analisa dengan adanya perubahan kecil pada kondisi pengujian (Peris dkk., 2015). Menurut Riyanto (2014), *Robustness* atau ketangguhan metode adalah derajat ketertiruan hasil uji yang diperoleh dari analisis sampel yang sama dalam berbagai kondisi uji normal, seperti laboratorium, analisis, instrumen, bahan pereaksi, suhu, hari yang berbeda, dll. Ketangguhan biasanya dinyatakan sebagai tidak adanya pengaruh perbedaan operasi atau lingkungan kerja pada hasil uji. Hasil dari uji *robustness* ini dapat menjadi dasar evaluasi pada uji kesesuaian sistem berikutnya (Heyden dkk., 2021).

2) Prosedur

Untuk memvalidasi kekuatan suatu metode perlu dibuat perubahan metodologi yang kecil dan terus menerus dan mengevaluasi respon analitik dan efek presisi dan akurasi. Pada tahap uji *robustness*, metode terlebih dahulu diuji pada kondisi standar sebagai acuan, kemudian dilakukan variasi

kecil terhadap parameter tertentu secara *single-factor* atau dengan pendekatan *Design of Experiments* (DoE), langkah ini bertujuan menilai kestabilan metode terhadap perubahan kondisi operasional. Setiap pengujian dilakukan minimal tiga kali untuk memastikan keandalan hasil. Parameter seperti luas area puncak, waktu retensi, bentuk puncak, pemulihan, dan *relative standard deviation* (RSD) dicatat dan dianalisis untuk menentukan apakah metode tetap menghasilkan kinerja yang konsisten dan dapat diterima (Swartz dan Krull, 2012).

8. Dasar Statistik

a. *Mean* (Rata-rata)

Rerata merupakan titik berat dari seperangkat data atau observasi sensitif terhadap nilai ekstrim. Rerata adalah nilai rata-rata dari suatu populasi atau sampel. Rerata merupakan hasil pembagian jumlah nilai hasil pemeriksaan dengan jumlah pemeriksaan yang dilakukan. Rumus rerata (Mean) sebagai berikut (Siregar dkk., 2018):

$$\bar{x} = \frac{\sum x}{n}$$

Keterangan :

$\sum x$: Jumlah total nilai pemeriksaan

n : Jumlah sampel

b. Standar Deviasi

Standar deviasi (SD) adalah pengukuran variasi dalam serangkaian hasil pemeriksaan. Standar deviasi sangat berguna bagi laboratorium dalam menganalisa hasil pengendalian mutu. Standar deviasi adalah cara lain untuk mengukur penyebaran data tunggal dari nilai rata-rata (Sukorini dkk., 2010). Standar deviasi digunakan untuk mengukur seberapa jauh nilai-nilai data tersebar dari nilai rata-rata. Standar deviasi dikenal pula sebagai akar kuadrat dari varians. Standar deviasi disimbolkan dengan huruf SD. Rumus dalam menghitung standar deviasi adalah (Siregar dkk., 2018):

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

Keterangan :

x : Nilai hasil pemeriksaan

\bar{x} : *Mean*

n : Jumlah sampel

c. Koefisien Variasi (CV)

Koefisien variasi (CV) adalah standar deviasi (SD) yang dinyatakan sebagai *persentase mean*. CV merupakan suatu ukuran variabilitas yang bersifat relatif dan dinyatakan dalam satuan persen. CV menggambarkan perbedaan hasil yang diperoleh setiap kali kita melakukan pengulangan pemeriksaan pada sampel yang

sama (Sukorini dkk., 2010). Bila laboratorium merubah suatu metode analisis, CV merupakan salah satu unsur yang bisa digunakan untuk membandingkan ketepatan metode. Idealnya, nilai CV harus kurang dari 5% Rumus untuk menghitung CV adalah (Siregar dkk., 2018:

$$CV = \frac{SD}{mean} \times 100$$

Keterangan :

SD : Standar deviasi

Mean : Rata-rata

9. Bahan Kontrol

a. Definisi

Bahan kontrol merupakan komponen fundamental dalam pemantapan mutu laboratorium karena digunakan untuk mengevaluasi konsistensi dan ketelitian proses analitik. kontrol diperlukan dalam kegiatan verifikasi dan validasi metode karena memberikan dasar objektif untuk menilai apakah suatu prosedur analitik dapat menghasilkan data sesuai tujuan pengukurannya (ISO/IEC 17025, 2017). Untuk mencapai fungsi tersebut, bahan kontrol dirancang memiliki matriks dan konsentrasi analit yang mendekati spesimen klinis sehingga respons alat terhadap bahan kontrol dapat mencerminkan kondisi analisis sebenarnya. Oleh karena itu, bahan kontrol disusun sedemikian rupa sehingga

matriks dan konsentrasi analitnya menyerupai spesimen pasien, sehingga respons instrumen terhadap bahan tersebut dapat mencerminkan performa analitik yang sebenarnya (NATA, 2012).

NATA (2012), merekomendasikan bahwa penggunaan bahan kontrol pada lebih dari satu tingkat konsentrasi, seperti level normal dan tinggi, untuk menilai kinerja metode pada berbagai rentang pengukuran yang relevan secara klinis. Penggunaan dua level kontrol ini penting dalam proses validasi metode baru karena memungkinkan laboratorium mengevaluasi apakah metode tersebut memberikan hasil yang konsisten pada konsentrasi rendah maupun tinggi.

b. Bahan kontrol komersial

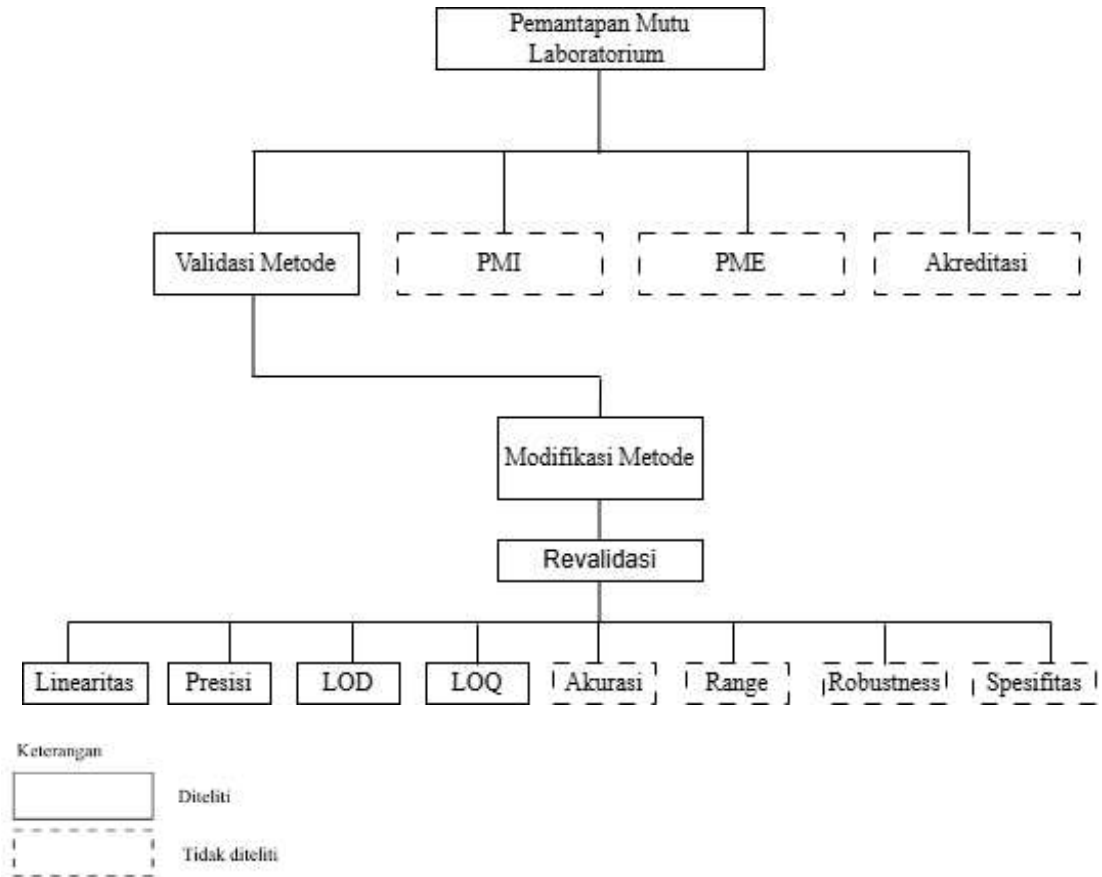
1) *Unassayed*

Merupakan bahan kontrol yang tidak memiliki nilai rujukan sebagai tolak ukur. Nilai rujukan dapat diperoleh setelah dilakukan periode pendahuluan (Tuntun dkk., 2018).

2) *Assayed*

Merupakan bahan kontrol yang diketahui nilai rujukannya serta batas toleransi menurut metode pemeriksaannya. Bahan kontrol ini dapat digunakan untuk akurasi kontrol, selain itu dapat digunakan untuk menilai alat dan sebagai acuan untuk mengevaluasi modifikasi metode baru pada laboratorium (Kemenkes RI, 2011).

B. Kerangka Teori



Gambar 1. Kerangka Teori

C. Hipotesis

1. Linearitas pada pemeriksaan albumin dengan metode *Bromocresol Green* dengan modifikasi setengah resep masuk ke dalam kriteria linearitas yaitu $> 0,9970$
2. Pemeriksaan albumin metode *Bromocresol Green* dengan modifikasi setengah resep memiliki nilai presisi yang dapat diterima

3. Pemeriksaan albumin Metode *Bromocresol Green* dengan modifikasi setengah resep menghasilkan nilai *Limit of Detection* (LoD)
4. Pemeriksaan albumin Metode *Bromocresol Green* dengan modifikasi setengah resep memiliki nilai *Limit of Quantitation* (LoQ)