

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Pemantapan Mutu Laboratorium Klinik

Pemantapan mutu atau penjaminan mutu (*Quality Assurance*) merupakan serangkaian kegiatan yang direncanakan secara sistematis di laboratorium. Kegiatan ini dilakukan dalam sistem mutu laboratorium (Batin dkk, 2023). Tujuan penjaminan mutu adalah untuk menjamin bahwa hasil pemeriksaan analitik dapat dipercaya dan akurat sesuai dengan kondisi pasien. Penjaminan mutu menjadi fondasi utama dalam penyelenggaraan pelayanan laboratorium modern, karena mutu hasil menentukan mutu pelayanan kesehatan secara keseluruhan (Kemenkes RI, 2019). Menurut WHO (2011) hal ini menjadi sangat penting bagi laboratorium klinik karena mutu hasil pemeriksaan sangat memengaruhi diagnosis, pemantauan terapi, keputusan klinis, dan keselamatan pasien. Pelaksanaan penjaminan mutu bertujuan untuk:

- a. Mencegah terjadinya kesalahan
- b. Menjamin keandalan data laboratorium
- c. Meningkatkan efisiensi dan efektivitas pelayanan dan
- d. Mendukung pemenuhan regulasi dan standar profesi.

Penjaminan mutu menjadi dasar penting dalam aspek laboratorium klinik, seperti validasi metode pengujian, PMI (Pemantapan Mutu Internal), PME (Pemantapan Mutu Eksternal) dan akreditasi (Hadi,

2018). Penerapan sistem penjaminan mutu yang baik dapat menghasilkan data analitik yang andal, konsisten dan valid, sehingga mampu memenuhi kebutuhan pengguna layanan sekaligus mematuhi berbagai persyaratan regulasi yang berlaku (Siregar dkk, 2018).

2. Pemeriksaan Asam Urat

Asam urat (*monosodium urate* atau *uric acid*) merupakan hasil alami dari proses penguraian atau metabolisme purin. Purin itu sendiri adalah bentuk protein berupa asam nukleat yang terdapat dalam inti sel. Di dalam inti sel terkandung DNA (*deoxyribonucleate acid*) dan RNA (*ribonucleate acid*) yang mengalami penguraian menjadi hipoxantin, lalu berubah menjadi *xanthine* melalui kerja enzim *xanthine oxidase* (Tandra, 2021).

Kadar asam urat normal untuk laki-laki adalah 3,5-7,0 mg/dL dan perempuan 2,8-6,8 mg/dL. Peningkatan kadar asam urat menyebabkan hiperurisemia yang dapat memicu penumpukan kristal monosodium urat di persendian, sehingga menimbulkan penyakit gout (*arthritis gout*) berupa peradangan sendi disertai nyeri dan pembengkakan. Sedangkan penurunan kadar asam urat disebut hipourisemia yang artinya kadar asam uratnya berada di bawah batas normal. (Asghari dkk., 2024; Yang dkk., 2025).

Metode pemeriksaan asam urat yang sering dilakukan di laboratorium klinik yaitu POCT (*Point Of Care Tasting*) dan enzimatik dengan alat spektrofotometer atau fotometer. Metode

spektrofotometer/fotometer dianggap sebagai metode baku emas (*gold standard*) dalam bidang diagnostik laboratorium, karena instrumen ini dirancang khusus untuk menghasilkan tingkat akurasi dan presisi yang sangat tinggi dalam pengukuran kadar asam urat. (Maryani dkk., 2022).

Pemeriksaan kadar asam urat menggunakan metode enzimatik yaitu urikase yang memecah asam urat menjadi alantoin dan hidrogen. Prinsip pemeriksaan asam urat dengan metode fotometri enzimatik menggunakan TBHBA (*2,4,6-tribromo-3-hydroxybenzoic acid*) (Proline, 2022), asam urat mengalami proses oksidasi (penambahan oksigen) yang dikatalisasi oleh enzim urikase, sehingga menghasilkan senyawa alantoin. Dalam proses ini, terbentuk pula hidrogen peroksida sebagai produk sampingan. Selanjutnya, hidrogen peroksida yang terbentuk akan bereaksi dengan dua senyawa lain, yaitu 4-aminoantipirin dan asam 2,4,6-tribromo-3-hidroksibenzoat (TBHBA), menghasilkan senyawa berwarna yang disebut kuinonimin (DiaSys, 2023).

3. Modifikasi Metode Setengah Volume Reagen dan Sampel

Modifikasi metode setengah volume reagensia dan sampel mengacu pada pengurangan jumlah reagen dan sampel yang digunakan dalam prosedur laboratorium menjadi setengah dari volume standar. Pemeriksaan kadar asam urat dengan menggunakan volume standar memerlukan 20 μL sampel, 1000 μL reagen 1, dan 250 μL reagen 2. Prosedur ini dilakukan dengan masa inkubasi selama 30 menit pada suhu 20-25°C atau 10 menit pada suhu 37°C (Diasys, 2023). Sementara

itu, pemeriksaan asam urat dengan modifikasi setengah volume menggunakan 10 μL sampel, 500 μL reagen 1, dan 125 μL reagen 2, dengan waktu dan suhu inkubasi yang sama seperti prosedur volume standar (Amaliya, 2025).

Menurut Standar Nasional ISO 17025 (2017) semua laboratorium wajib menggunakan prosedur pengujian yang tervalidasi dan terstandarisasi. Hal ini dilakukan untuk menjamin hasil yang akurat, konsisten, dan dapat diandalkan. Sebuah laboratorium wajib melakukan revalidasi metode jika metode tersebut diubah atau dimodifikasi (ISO 17025, 2017).

4. Validasi Metode

Validasi prosedur analisis adalah serangkaian pengujian yang dilakukan di laboratorium untuk membuktikan bahwa suatu prosedur memiliki karakteristik kinerja yang memadai dan memenuhi persyaratan yang ditetapkan sesuai dengan tujuan penggunaannya. Proses ini melibatkan evaluasi sistematis terhadap parameter-parameter kritis untuk memastikan bahwa metode analisis tersebut dapat diandalkan dan memberikan hasil yang akurat (Depkes RI, 2014). Parameter-parameter validasi meliputi presisi, akurasi, spesifisitas, linieritas, *Limit of Detection* (LoD), *Limit of Quantitation* (LoQ) dan *robustness* (Taverniers dkk, 2016).

Menurut EURACHEM (2014) validasi merupakan proses konfirmasi melalui pemeriksaan dan penyediaan bukti objektif yang

menunjukkan bahwa persyaratan tertentu untuk penggunaan yang telah ditentukan dapat terpenuhi. Validasi metode dapat dipahami sebagai proses penetapan karakteristik kinerja dan batasan suatu metode, termasuk identifikasi faktor-faktor yang berpotensi mengubah karakteristik tersebut serta sejauh mana pengaruhnya. Sementara itu, berdasarkan *Quality Assurance Standards for Forensic DNA Testing Laboratories*, validasi diartikan sebagai suatu proses evaluasi terhadap prosedur untuk menentukan tingkat efektivitas dan keandalannya dalam melakukan analisis (Riyanto, 2019). Dengan demikian fungsi validasi metode adalah:

- a. Validasi metode merupakan komponen esensial dalam sistem penjaminan mutu.
- b. Validasi memberikan jaminan bahwa hasil pengukuran yang diperoleh memiliki tingkat keandalan yang tinggi.
- c. Dalam berbagai bidang praktik laboratorium, validasi metode merupakan persyaratan regulasi yang bersifat wajib

5. Parameter Validasi

a. Presisi

1) Definisi

Presisi adalah ukuran yang menunjukkan seberapa konsisten hasil pengukuran ketika diulang berkali-kali. Semakin dekat atau mirip hasil-hasil tersebut satu sama lain, berarti presisinya semakin tinggi. Dengan presisi, dapat diketahui seberapa besar

penyebaran atau perbedaan antar hasil pengukuran (Pum, 2019). Presisi menggambarkan kesalahan acak dalam proses pengukuran. Kesalahan acak adalah kesalahan yang terjadi secara tidak teratur, seperti kestabilan instrumen yang digunakan, personel yang melakukan pengukuran, variasi reagen yang dipakai, suhu dan kondisi lingkungan. Dalam praktik medis, klinisi sering meminta pemeriksaan laboratorium diulang karena ragu dengan hasil yang didapat. Namun, jika pemeriksaan memiliki presisi tinggi, maka hasil pengulangan pada sampel yang sama akan konsisten dan tidak berbeda jauh dari hasil sebelumnya (Siregar dkk, 2018).

Perbedaan hasil pengukuran yang sangat kecil, bahkan hingga selisih mendekati nol, sekilas tampak tidak signifikan, namun dalam uji presisi hal tersebut dapat memberikan dampak yang besar terhadap nilai koefisien variasi (CV) (CLSI, 2014). Hal ini disebabkan karena perhitungan presisi sangat sensitif terhadap variasi antar hasil pengukuran, sehingga deviasi sekecil apa pun akan memengaruhi nilai standar deviasi yang menjadi komponen utama dalam perhitungan CV (CLSI, 2014). Terlebih pada metode dengan tingkat presisi tinggi, fluktuasi kecil yang terjadi selama proses pengukuran akan terlihat lebih menonjol dan dapat memberikan dampak yang signifikan terhadap nilai meningkatkan nilai CV secara proporsional (Rifai, 2019). Oleh karena itu, konsistensi hasil pengukuran menjadi faktor yang

sangat krusial dalam memastikan kualitas metode analitik yang digunakan (Rifai, 2019).

2) Prosedur

Prosedur uji presisi dilakukan dengan pengukuran berulang terhadap minimal dua sampel dengan konsentrasi besaran ukur yang berbeda dalam rentang waktu 5 hari, dengan total lima kali pengukuran per hari yang diproses dalam satu siklus pengujian. Sehingga total hasil pengukuran ada 25 data per sampel (CLSI, 2014).

Selanjutnya, perhitungan presisi dilakukan menggunakan analisis ragam satu arah (*one-way ANOVA*) yang menghasilkan dua komponen penting, yaitu *mean square of between run variation* (MS_1) dan *mean square of within run variation* (MS_2). Nilai MS_2 digunakan untuk menghitung *variance repeatability (within run)* (V_W) (CLSI, 2014)

$$V_W = MS_2 \quad (1)$$

Sedangkan *variance between run* (V_B) dihitung menggunakan:

$$V_B = (MS_1 - MS_2) / n_0 \quad (2)$$

n_0 adalah jumlah replikasi tiap hari (5 kali pengulangan per run). Total varians dalam laboratorium/*within lab variance* (V_{WL}) diperoleh dari penjumlahan kedua varians tersebut.

$$V_{WL} = V_W + V_B \quad (3)$$

Setiap varians kemudian dikonversi menjadi standar deviasi

menggunakan akar kuadrat, yaitu *standar deviasi repeatability* (SR), standar deviasi antar-run (SB), dan standar deviasi dalam-laboratorium (S_{WL}) atau *Within Lab Standard Deviation*.

$$S_{WL} = \sqrt{V_W} + \sqrt{V_B} \quad (4)$$

Seluruh nilai standar deviasi tersebut kemudian diubah menjadi koefisien variasi (%CV).

$$CV_{wl} = \frac{S_{wl}}{\bar{x}} \times 100\% \quad (5)$$

Nilai CV kemudian dibandingkan dengan klaim pabrik untuk menilai apakah presisi pengukuran sudah memenuhi persyaratan. Suatu metode dikatakan presisi apabila CV% yang diperoleh < CV% klaim pabrik (CLSI, 2014).

Suatu prosedur analitik yang mengalami modifikasi dari metode standar pabrik menyebabkan kriteria penilaian presisi tidak lagi dapat sepenuhnya mengacu pada klaim performa awal metode tersebut (Wang dkk, 2018). Kondisi ini menuntut penggunaan standar keberterimaan yang bersifat umum dan dapat diterapkan secara luas. Berdasarkan pedoman dari *Clinical Laboratory Improvement Amendments* (CLIA) (CLIA, 2024) dan *Westgard* (2020) bahwa batas impresi yang masih dapat diterima dihitung sebesar sepertiga (0,33) dari nilai *Total Allowable Error* (TEa), sehingga pendekatan ini memberikan acuan yang lebih objektif dalam mengevaluasi kinerja metode yang telah dimodifikasi agar tetap memenuhi persyaratan mutu

analitik yang dapat diterima secara klinis.

b. Akurasi

1) Definisi

Akurasi adalah ukuran yang menunjukkan seberapa dekat hasil pengukuran dengan nilai sebenarnya atau nilai standar yang telah ditetapkan. Semakin kecil perbedaan antara hasil pengukuran dengan nilai sebenarnya (*true value*), hasil tersebut semakin akurat (Riyanto, 2019). Akurasi biasanya dinyatakan dalam bentuk persentase. Akurasi dipengaruhi oleh kesalahan acak (*random error*) dan kesalahan sistematis (*systematic error*), sehingga dalam pengertian ini akurasi mencakup dua aspek utama: presisi (presisi) dan kebenaran (*trueness*) (Rifai, 2019). Presisi menggambarkan konsistensi hasil pengukuran berulang, yakni seberapa dekat hasil-hasil tersebut satu sama lain tanpa memperhatikan nilai kebenaran, sedangkan kebenaran mengukur seberapa dekat rata-rata hasil pengukuran dengan nilai referensi yang benar (CLSI, 2014).

2) Prosedur

Pada uji akurasi berdasarkan pedoman CLSI EP15-A3, Uji akurasi dapat dilaksanakan dengan melibatkan minimal 10 laboratorium sebagai peserta. Uji akurasi dievaluasi dengan membandingkan grand mean dari 25 hasil replikasi (5 hari \times 5 replikasi) dengan nilai target yang diperoleh dari *peer group*

mean antar-laboratorium. Besarnya bias aktual dihitung menggunakan rumus aktual bias.

$$\text{Aktual \% bias} = \frac{TV - \text{Grand mean}}{TV} \times 100 \quad (6)$$

Keterangan:

TV : *Target Value*

Grand mean : nilai rata rata keseluruhan

Hasil perhitungan bias aktual kemudian dibandingkan dengan batas bias yang dapat diterima. Perbandingan ini dilakukan untuk menentukan apakah *trueness* metode memenuhi persyaratan akurasi. Jika nilai bias aktual berada di bawah atau sama dengan batas bias yang diterima, maka metode dinilai memiliki akurasi yang memadai. Sebaliknya, apabila bias aktual melebihi batas tersebut, *trueness* dianggap tidak memenuhi kriteria. Jika nilai bias aktual berada dalam batas ini, maka metode dinilai memiliki akurasi yang memenuhi persyaratan (CLSI, 2014).

c. Spesifisitas

1) Definisi

Menurut standar *International Council for Harmonisation* (ICH) (2022) spesifisitas didefinisikan sebagai kemampuan suatu metode pengujian untuk mengukur zat target atau analit secara tepat dan akurat meskipun dalam sampel tersebut terdapat berbagai komponen atau zat-zat lain yang mungkin ada. Istilah

spesifik dalam konteks analisis laboratorium umumnya merujuk pada metode pengujian yang hanya akan memberikan respons atau hasil pengukuran terhadap satu jenis analit tertentu saja. Artinya, metode yang memiliki spesifisitas tinggi tidak akan terganggu atau terpengaruh oleh keberadaan zat-zat lain, pengotoran, atau komponen matrik sampel yang mungkin memiliki sifat serupa dengan analit target. Sehingga, hasil pengukuran yang diperoleh benar-benar mencerminkan kandungan analit yang ingin diukur, bukan campuran dari berbagai zat yang ada dalam sampel (Chavan dan Desai, 2022).

2) Prosedur

Uji spesifisitas dilakukan untuk memastikan bahwa metode yang digunakan benar-benar mengukur analit yang kita inginkan, bukan zat lain yang ikut terbaca. Dalam proses ini, sampel yang mengandung analit diuji bersama sampel lain yang sengaja ditambahkan zat-zat yang mungkin mengganggu (interferen), seperti komponen matriks, pengotor, atau bahan kimia lain yang sifatnya mirip. Hasil pengukuran dari sampel murni kemudian dibandingkan dengan hasil dari sampel yang diberi interferen. Jika perbedaan hasilnya tidak signifikan atau masih berada dalam batas toleransi yang ditetapkan, berarti metode tersebut dianggap spesifik dan tidak mudah terganggu oleh zat lain. Panduan juga menekankan bahwa informasi tentang apa saja

yang bisa mengganggu hasil harus dijelaskan dengan jelas kepada pengguna metode. Selain itu, semua pengujian spesifisitas harus dicatat dengan baik, mulai dari daftar interferen yang diuji, kondisi pengujian, hasil yang diperoleh, hingga kesimpulan akhirnya (NATA, 2018),

d. Linieritas

1) Definisi

Linieritas adalah kemampuan suatu metode analisis untuk menghasilkan respons yang sebanding dengan konsentrasi sampel dalam rentang tertentu. Artinya semakin tinggi konsentrasi sampel maka semakin tinggi pula sinyal yang terukur secara proporsional (Riyanto, 2019). Linieritas membantu memastikan bahwa ada hubungan yang jelas dan sederhana antara konsentrasi sampel dengan hasil pengukuran alat, biasanya hubungan ini berbentuk garis lurus (linier) (EURACHEM, 2014).

Linieritas dihitung menggunakan analisis regresi linier dengan persamaan garis lurus $y = bx+a$ melalui metode kuadrat terkecil, di mana x adalah konsentrasi sampel, y adalah respons instrumen, b adalah kemiringan garis dan a adalah intersep yang menunjukkan sensitivitas instrumen. Dalam beberapa kasus, data perlu ditransformasi secara matematis terlebih dahulu agar

menghasilkan hubungan yang proporsional antara konsentrasi dan respons yang terukur (Riyanto, 2019).

2) Prosedur

Pengujian linieritas dilakukan menggunakan minimal 5 konsentrasi berbeda dalam rentang 0-100% dari kadar analit dalam sampel, ditambah dengan sampel blanko tanpa analit (Riyanto, 2019). Linieritas diuji menggunakan metode regresi linier dengan rumus $y=bx+a$. Dalam rumus ini, b adalah kemiringan garis, a adalah titik perpotongan dengan sumbu y , x adalah kadar zat yang diukur, dan y adalah hasil pembacaan alat (Westgard, 2020). Koefisien determinasi (R^2) menunjukkan seberapa baik data mengikuti garis lurus, dengan nilai yang selalu positif atau nol. Sementara itu, koefisien korelasi digunakan untuk menilai kekuatan hubungan linier antara dua kumpulan data dan dinyatakan dengan simbol r . Hubungan linier dianggap ideal apabila $a = 0$ dan nilai r mendekati +1 atau -1, yang menandakan korelasi sempurna. Tanda positif (+) menunjukkan hubungan positif dengan kemiringan garis ke arah kanan, sedangkan tanda negatif (-) menunjukkan hubungan negatif dengan kemiringan garis ke arah kiri. Suatu metode dianggap memiliki linieritas yang baik jika nilai R^2 lebih besar dari 0,9970 (Riyanto, 2019).

e. LoD

1) Definisi

Batas deteksi atau yang sering disebut sebagai *Limit of Detection* (LoD) dalam uji validasi bertujuan untuk menggambarkan tingkat sensitivitas suatu metode. LoD merupakan konsentrasi atau jumlah terendah dari suatu analit yang ada pada sampel yang masih dapat dideteksi keberadaannya (Chavan dan Desai, 2022). LoD menggambarkan kemampuan awal metode untuk membedakan adanya analit dari kondisi tanpa analit (CLSI, 2012). Meskipun analit pada konsentrasi ini dapat dideteksi atau dikenali keberadaannya, namun belum dapat diukur secara kuantitatif atau dihitung jumlahnya dengan tepat dalam kondisi percobaan yang telah ditetapkan (Chavan dan Desai, 2022).

Dengan kata lain, pada tingkat LoD ini, metode analisis hanya mampu memberikan informasi bahwa analit tersebut ada atau tidak ada dalam sampel. Informasi yang diberikan bersifat kualitatif, bukan kuantitatif yang presisi (Pum, 2019). Konsep LoD ini sangat penting dalam pemeriksaan yang berkaitan dengan konsentrasi rendah, misalnya marker infeksi, hormon, toksikologi, dan biomarker klinis lain yang menuntut deteksi yang sensitif (CLSI, 2012).

2) Prosedur

Prosedur LoD dan LoQ mengacu pada pedoman CLSI EP 17-A2 yang dilakukan dengan cara mengukur kadar blanko dari reagen uji sebanyak 20 replikasi dalam satu hari. Setelah diperoleh hasil pengukuran yang berupa nilai kadarnya, lalu dilakukan perhitungan nilai rata-rata (\bar{x}) dan standar deviasi (SD) (CLSI, 2012). Semakin kecil standar deviasi, semakin sensitif metode tersebut dalam membedakan sinyal analit dari noise (Riyanto, 2019).

3) Rumus perhitungan

Hasil pengukuran tersebut kemudian diolah lebih lanjut untuk memperoleh batas deteksi dengan menggabungkan nilai rata-rata dan standar deviasi (NATA, 2018).

$$\text{LoD} = \bar{x} + 3SD \quad (7)$$

f. LoQ

1) Definisi

Batas kuantitasi terendah atau *Limit of Quantitation* (LoQ) merupakan konsentrasi terendah dari zat yang dianalisis (analit) dalam suatu sampel yang masih dapat ditentukan secara kuantitatif dengan tingkat ketelitian dan ketepatan yang memenuhi standar yang ditetapkan. Karena mensyaratkan kualitas hasil yang lebih tinggi, nilai LoQ selalu sama atau lebih besar dibandingkan LoD (CLSI, 2012). Parameter ini umumnya

digunakan dalam penentuan kadar kontaminan atau zat pengotor serta produk hasil degradasi dari suatu zat aktif (Chavan dan Desai, 2022). Nilai LoQ sangat krusial untuk pemeriksaan klinis yang membutuhkan pelaporan konsentrasi rendah dengan keakuratan tinggi, seperti pengukuran hormon, obat, atau biomarker pada kadar kritis.

2) Rumus perhitungan

Perhitungan LoQ menggunakan lanjutan rumus dari LoD yaitu nilai batas kuantitas dihasilkan dari tiga kali kadar limit deteksi (NATA, 2018).

$$\text{LoQ} = 3\text{LoD} \quad (8)$$

g. *Range*

1) Definisi

Rentang atau *range* dari suatu prosedur analitik didefinisikan sebagai interval antara batas konsentrasi tertinggi dan terendah dari zat yang dianalisis (analit) dalam sampel, di mana prosedur tersebut telah terbukti memiliki tingkat presisi, akurasi, serta linieritas yang memenuhi persyaratan dan dapat diterima. Dengan kata lain, rentang ini menunjukkan kisaran konsentrasi di mana metode analisis dapat dipercaya untuk memberikan hasil pengukuran yang tepat, teliti, dan memiliki hubungan linier antara konsentrasi analit dengan respons instrumen (Swartz dan Krull, 2012).

2) Prosedur

Prosedur penentuan range diawali dengan menyiapkan serangkaian standar yang mewakili konsentrasi rendah sampai tinggi, biasanya mencakup 0–150% atau 50–150% dari kadar sampel yang mungkin ditemui. Setiap standar diukur minimal duplikasi dan lebih baik triplikasi, kemudian dilakukan secara acak untuk mengurangi bias (Riyanto, 2019). Setelah semua data diperoleh, hubungan antara konsentrasi dan respons alat dibuat dalam bentuk grafik, lalu dihitung regresi liniernya ($y = a + bx$). Jika dari grafik terlihat bahwa hubungan tidak linier, maka penyebabnya harus dicari atau konsentrasi yang diuji dipersempit sampai hubungan kembali linier. Selain itu, *range* yang dinyatakan sebagai *working range* atau *measuring interval* dihitung dari batas bawah (LOQ) sampai konsentrasi tertinggi yang diuji dan masih memenuhi syarat ketepatan, ketelitian, dan linieritas (NATA, 2018).

h. Robustness

1) Definisi

Ketahanan atau *robustness* adalah parameter untuk mengukur kemampuan prosedur analisis mempertahankan keandalannya ketika menghadapi perubahan kecil pada metode, seperti pH *buffer*, suhu, waktu inkubasi, atau komposisi pelarut (Swartz dan Krull, 2012). Uji *robustness* dilakukan untuk

memastikan metode tetap valid dan akurat ketika diterapkan dalam kondisi yang sedikit berbeda dari kondisi ideal. Dengan demikian, *robustness* menunjukkan stabilitas dan keandalan metode dalam kondisi operasional sehari-hari di laboratorium, memastikan hasil yang akurat meskipun kondisi pengujian bervariasi (Chavan dan Desai, 2022).

2) Prosedur

Prosedur uji *robustness* dimulai dengan menentukan parameter penting metode yang dapat mempengaruhi hasil, seperti pH, laju alir, suhu kolom, dan komposisi pelarut. Kemudian, dilakukan eksperimen dengan mengubah parameter tersebut dalam rentang kecil, misalnya $\text{pH} \pm 0,1$ unit atau suhu $\pm 3^\circ\text{C}$, dan mengukur hasil seperti resolusi puncak dan waktu retensi. Data yang diperoleh dianalisis secara statistik untuk mengetahui pengaruh variasi parameter dan menetapkan batas toleransi yang dapat diterima (Westgard, 2020). Setiap kondisi yang divariasikan diuji menggunakan sampel yang sama, dan setiap pengukuran dilakukan dengan replikasi untuk memastikan reliabilitas data. Hasil dari kondisi yang divariasikan dibandingkan dengan kondisi standar dengan melihat perbedaan nilai rata-rata, standar deviasi, koefisien variasi atau bias yang terjadi. Metode dinilai *robust* apabila variasi kecil pada kondisi uji tidak menyebabkan perubahan signifikan pada hasil, dan

semua nilai masih berada dalam batas kriteria presisi dan akurasi yang telah ditetapkan laboratorium (Riyanto, 2019).

6. Kurva Kalibrasi

Kurva kalibrasi atau kurva standar adalah grafik yang menunjukkan hubungan antara hasil pembacaan alat dengan konsentrasi zat yang diukur. Kurva ini dibuat berdasarkan rentang konsentrasi yang telah ditentukan sesuai kebutuhan pengukuran (Swartz dan Krull, 2012). Menurut Riyanto (2019) dalam pembuatan kurva kalibrasi, dibuat serangkaian larutan dengan variasi konsentrasi mulai dari 0-100% dari kandungan analit yang terdapat dalam sampel.

Jika pada diagram pencar (*scatter plot*) titik-titik data terlihat membentuk pola yang mendekati garis lurus, hal ini menunjukkan adanya hubungan linier antara dua variabel, yaitu antara hasil pembacaan alat dengan konsentrasi zat yang diukur. Pola ini menandakan bahwa perubahan pada konsentrasi zat akan menghasilkan perubahan yang teratur dan sebanding pada hasil pembacaan alat. Semakin tinggi konsentrasi zat, maka hasil pembacaan alat pun meningkat secara proporsional. Sebaliknya, jika konsentrasi zat menurun, maka hasil pembacaan juga ikut menurun. Secara matematis, hubungan ini dapat dinyatakan melalui persamaan garis regresi linier sederhana (Nurhaswinda dkk., 2025).

$$Y = bx + a \quad (9)$$

Keterangan:

Y : nilai hasil yang diukur atau dihitung

x : faktor yang memengaruhi hasil

a : *intersep*

b : koefisien regresi atau kemiringan garis regresi

Hubungan linier ini penting dalam pembuatan kurva kalibrasi, karena menunjukkan bahwa alat bekerja secara konsisten dan memberikan respon yang proporsional terhadap kadar zat. Jika pola titik tidak membentuk garis lurus, berarti hubungan antar variabel tidak linier dan perlu dievaluasi. Dengan demikian, pola linier memastikan bahwa metode analisis memiliki ketelitian dan akurasi yang baik sehingga hasil pengukuran dapat dipercaya (Riyanto, 2019).

7. Dasar Statistik

a. *Mean* (rata-rata)

Rerata (*mean*) merupakan ukuran statistik yang paling penting dan sering digunakan untuk menganalisis data. Rerata diperoleh dengan menjumlahkan seluruh nilai data, kemudian membagi hasilnya dengan jumlah data yang ada. Nilai ini didapat dari pengukuran berulang terhadap spesimen yang sama dan

disimbolkan dengan \bar{X} (x bar) (Siregar dkk, 2018).

$$\bar{X} = \frac{(a + b + c + \dots + z)}{n}$$

$$\bar{X} = \frac{\sum xi}{n} \quad (10)$$

Keterangan :

$\sum xi$: jumlah seluruh nilai

\bar{x} : nilai rata-rata

a,b,c : nilai individu

n : jumlah sampel

b. Simpangan Baku/ Standar Deviasi (SD)

Dalam konteks laboratorium klinik, standar deviasi merupakan parameter statistik yang menunjukkan tingkat keberagaman atau penyebaran data dari sekumpulan hasil pengujian. Parameter ini memegang peranan vital dalam proses evaluasi mutu internal laboratorium (Marcelino, 2025). Konsep standar deviasi menjelaskan bagaimana data terdistribusi di sekitar nilai tengah, di mana nilai tengah tersebut dijadikan acuan ideal. Fungsi standar deviasi adalah sebagai indikator seberapa jauh data menyimpang dari acuan tersebut. Melalui pemahaman ini, laboratorium dapat menetapkan batasan-batasan nilai yang masih dianggap wajar dalam sistem kendali mutu (Kamilla dkk., 2020).

$$SD = \sqrt{\frac{(x-\bar{x})^2}{n-1}} \quad (11)$$

Keterangan:

x : nilai hasil pemeriksaan

(\bar{x}) : nilai rata-rata

n : jumlah pemeriksaan

c. *Coefisien of Variation (CV)*

Koefisien variasi merupakan alat ukur yang digunakan untuk menilai tingkat variabilitas data hasil pengamatan secara relatif, yang bertujuan menentukan tingkat ketelitian atau presisi suatu metode pengukuran. Ketelitian atau presisi suatu metode dinyatakan dalam bentuk nilai koefisien variasi (CV). Nilai CV berbanding terbalik dengan tingkat ketelitian, artinya semakin kecil nilai CV yang diperoleh, maka semakin tinggi ketelitian metode atau sistem tersebut, dan sebaliknya (Siregar dkk, 2018).

$$CV = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100\% \quad (12)$$

Keterangan:

SD : standar deviasi

\bar{x} : nilai rata-rata

d. *TEa (Total Error Allowable)*

TEa adalah parameter penting dalam dasar statistik laboratorium klinik yang digunakan untuk menilai batas kesalahan maksimum yang masih dapat diterima secara klinis. Dalam kaitannya dengan uji presisi, TEa berperan sebagai dasar dalam

menentukan batas nilai CV yang masih dapat diterima. Nilai TEa pada pemeriksaan asam urat adalah 10% (CLIA, 2025).

8. Bahan Kontrol

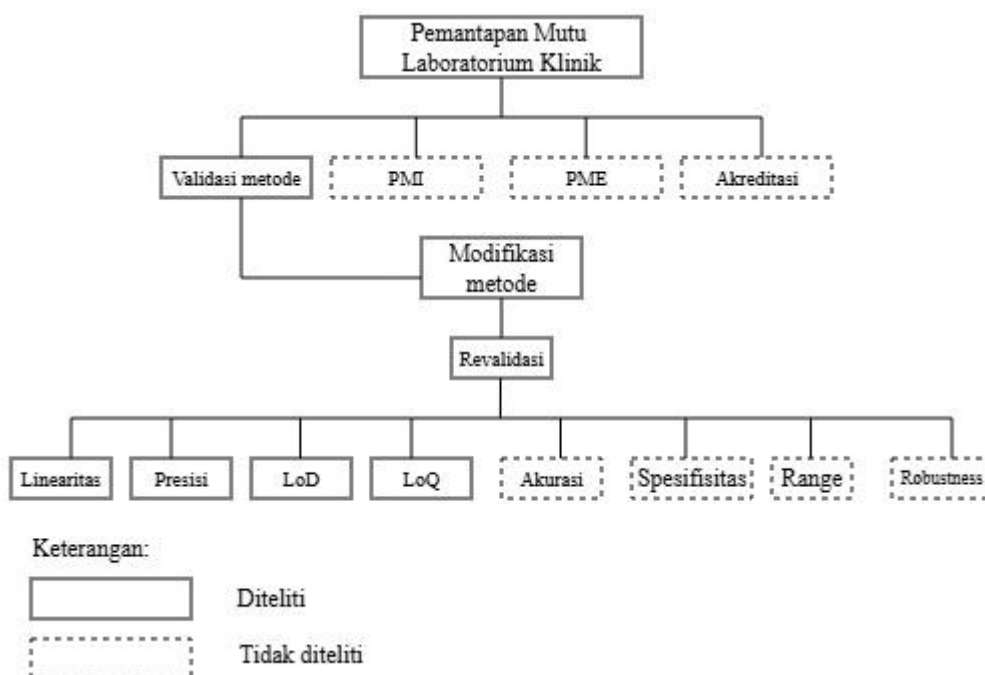
Bahan kontrol adalah sampel dengan konsentrasi analit yang diketahui dan stabil, yang diproses dengan cara yang sama seperti sampel pasien. Tujuannya adalah untuk memastikan bahwa sistem analitik (alat, reagen, metode, dan petugas) bekerja secara optimal dan memberikan hasil yang akurat dan presisi dalam setiap harinya (Praptomo, 2018). Dengan menggunakan bahan kontrol, laboratorium dapat mendeteksi adanya kesalahan sistematis atau acak sebelum hasil pemeriksaan pasien dikeluarkan. Berdasarkan sumber dan karakteristiknya, bahan kontrol laboratorium dibedakan menjadi dua jenis utama, yaitu bahan kontrol komersial dan bahan kontrol buatan (*in-house*).

- a. Bahan kontrol komersial diproduksi oleh perusahaan khusus dengan nilai acuan yang sudah ditetapkan, misalnya TruLab, Bio-Rad, Randox, atau Human GmbH. Keunggulannya adalah stabilitas tinggi dan ketersediaan dalam berbagai level (rendah, normal, tinggi) sesuai parameter pemeriksaan.
- b. Bahan kontrol buatan (*in-house control*) biasanya dibuat oleh laboratorium itu sendiri dengan mencampurkan sampel serum pasien atau donor dalam jumlah besar untuk digunakan secara berkala. Meskipun lebih ekonomis, jenis ini memiliki keterbatasan

dalam hal kestabilan dan homogenitas, sehingga hanya direkomendasikan untuk penggunaan sementara (Hapsari dkk, 2020).

B. Kerangka Teori

Kerangka teori pada penelitian ini ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Kerangka Teori

C. Hipotesis

1. Linieritas pada metode TBHBA pada pemeriksaan asam urat dengan modifikasi setengah volume reagen dan sampel memenuhi kriteria keberterimaan yaitu $R^2 > 0,9970$
2. Presisi pada metode TBHBA pada pemeriksaan asam urat dengan modifikasi setengah volume reagen dan sampel memenuhi kriteria presisi.

3. Memiliki nilai LoD pada metode TBHBA pada pemeriksaan asam urat dengan modifikasi setengah volume reagen dan sampel.
4. Memiliki nilai LoQ pada metode TBHBA pada pemeriksaan asam urat dengan modifikasi setengah volume reagen dan sampel.