

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Telaah Pustaka**

##### **1. Kimia Klinik**

Kimia klinik adalah cabang ilmu kuantitatif yang berkaitan dengan pengukuran biologis banyak zat penting (disebut analit) dalam cairan tubuh yang bertujuan untuk diagnostik, terapeutik, pemantauan, dan sebagainya. Cairan tubuh yang dapat dianalisis antara lain darah (baik dalam bentuk darah utuh, serum, plasma), urin, cairan serebrospinal, dan cairan sinovial. Kimia klinis dapat diterapkan dalam banyak bidang, seperti biokimia, endokrinologi, kimia analitik, toksikologi, imunologi, dan kedokteran (Hardianti dkk., 2024).

Pemeriksaan kimia darah di laboratorium klinik terdapat berbagai jenis seperti uji fungsi hati, otot jantung, ginjal, lemak darah, gula darah, fungsi pankreas, elektrolit. Selain itu, beberapa beberapa uji kimia dapat digunakan untuk membantu menegakkan diagnosis. Layanan pemeriksaan kimia klinik di laboratorium kesehatan diharapkan dapat dilaksanakan secara efektif dan efisien (Natsir, 2023).

Penanggung jawab laboratorium harus menjamin bahwa hasil pemeriksaan valid dan layak digunakan klinisi. Setiap tahap pemeriksaan harus dikendalikan untuk mencegah kesalahan agar hasil tetap tepat dan teliti. Pengendalian mutu yang dilakukan terus-menerus

bertujuan mendeteksi dini kesalahan dan memastikan mutu pemeriksaan. Pemantapan mutu terdiri dari pemantapan mutu internal dan eksternal. Pada pemantapan mutu internal, pengendalian dilakukan pada tiga tahap: pra-analitik, analitik, dan pasca-analitik (Siregar dkk., 2018).

## 2. Pemantapan Mutu

Pemantapan mutu laboratorium klinik merupakan kegiatan melibatkan segala upaya dengan tujuan untuk menjamin ketelitian dan ketepatan hasil pemeriksaan di Laboratorium Klinik. Agar hasil laboratorium mencapai mutu dengan tingkat ketepatan dan ketelitian tinggi, maka semua metode dan prosedur operasional laboratorium harus terpadu mulai dari persiapan, pengambilan dan pemeriksaan sampel sampai pelaporan hasil uji laboratorium ke pasien (Siregar dkk., 2018).

Jaminan mutu (*quality assurance*) adalah kegiatan yang dilakukan secara tersruktur dan terencana yang diterapkan dalam sistem manajemen mutu laboratorium sehingga memperoleh data hasil pengujian yang berkualitas. Penjaminan Mutu Analisis adalah serangkaian prosedur untuk menjamin bahwa data hasil analisis yang dihasilkan merupakan data yang berkualitas. Tingkatan penjaminan mutu analisis meliputi validasi metode analisis, penjaminan mutu internal dengan peta kendali, penjaminan mutu eksternal yang dapat

dilakukan dengan uji banding antar laboratorium dan akreditasi (Taverniers dkk., 2010).

Tercapainya pemeriksaan yang bermutu, diperlukan strategi dan perencanaan manajemen mutu. Salah satu pendekatan mutu yang digunakan adalah *Quality Management Science* (QMS) yang memperkenalkan suatu model yang dikenal dengan Five-Q (*Quality Planning, Quality Laboratory Practice, Quality Control, Quality Assurance, Quality Improvement*). Quality planning dilakukan laboratorium untuk menentukan jenis pemeriksaan serta memilih metode, reagen, bahan, alat, sumber daya manusia (Siregar dkk., 2018). Validasi metode merupakan proses yang digunakan sebagai bagian dari Quality planning untuk memberikan penilaian teknis kinerja metode yang diperlukan untuk menerapkan metode baru di laboratorium (Wesgard, 2020).

### 3. Trigliserida

#### a. Pengertian Trigliserida

Trigliserida merupakan senyawa lipid nonpolar yang tersusun dari molekul gliserol yang berikatan dengan tiga molekul asam lemak (FA) dan berperan sebagai utama penyimpanan lemak utama dan sumber energi dalam tubuh manusia. Karena sifatnya yang hidrofobiknya, molekul trigliserida dapat tersusun rapat dan disimpan dalam jaringan adiposa. Untuk dapat diangkut dalam plasma, trigliserida harus terikat pada apolipoprotein yang

membentuk *Very Low-Density Lipoprotein* (VLDL) dan kilomikron (Boren & Taskinen, 2022). Triglicerida dibentuk dari lemak dalam makanan yang dicerna tubuh, serta diproduksi oleh hati melalui proses metabolisme lipid. Triglicerida yang telah dipecah melalui proses hidrolisis akan diserap oleh usus, kemudian akan masuk ke dalam plasma darah serta didistribusikan ke seluruh jaringan tubuh (Alves-Bezerra dan Cohen, 2017; Haryanto dkk., 2025).

Fungsi triglicerida adalah memberikan energi ke otot jantung dan otot rangka sebagai sekaligus untuk cadangan energi yang bisa dihasilkan banyak ATP. Triglicerida adalah penyebab utama penyakit arteri dan sering dibandingkan kolesterol melalui lipoprotein uji elektroforesis. Peningkatan konsentrasi triglicerida akan menyebabkan hiperlipoproteinemia (Hasanah dkk., 2020).

Pemeriksaan triglicerida merupakan salah satu tes laboratorium yang digunakan untuk mengukur kadar triglicerida dalam darah atau mendiagnosis hipertriglisideremia, yang secara langsung terkait dengan peningkatan risiko penyakit kardiovaskular aterosklerotik (Berglund dkk., 2012; Haryanto dkk., 2025). Peningkatan kadar triglicerida dapat disebabkan oleh kelebihan karbohidrat, lemak atau lainnya. Hal ini dapat mengakibatkan penumpukan pada pembuluh darah, yang pada akhirnya mengganggu metabolisme tubuh. Peningkatan kadar

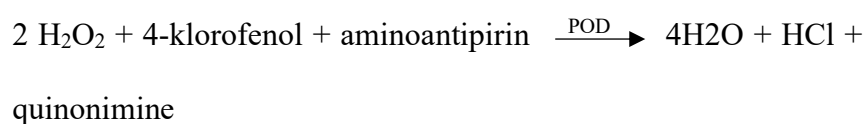
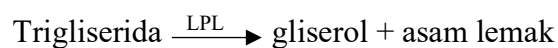
trigliserida ini meningkatkan risiko terjadinya stroke, diabetes, gangguan tekanan darah, dan penyakit jantung. Selain itu, Kadar trigliserida dalam tubuh dapat berbahaya bagi kesehatan jika tidak dijaga agar tetap normal (Khaqiqiyah dkk., 2018).

b. Metode Pemeriksaan

Prinsip analisis trigliserida darah dilakukan dengan mencampurkan serum dengan larutan pereaksi, kemudian diinkubasi pada suhu 20-25°C selama 20 menit atau suhu 37°C selama 10 menit dan diukur absorbansinya dengan panjang gelombang 500 nm.

Metode yang digunakan dalam pemeriksaan trigliserida pada penelitian ini yaitu *Glycerol 3 Phosphate Oxidase* (GPO) menggunakan Triglycerides kit merek dagang Diasys produksi Diasys Diagnostic System GmbH & Co. KG Jerman. Prinsip reaksi kimia trigliserida melalui beberapa tahap enzimatis. Pertama, trigliserida dihidrolisis secara enzimatis oleh lipoprotein lipase menjadi gliserol dan asam lemak. Selanjutnya, gliserol di fosforilasi oleh ATP dengan bantuan gliserol kinase untuk menghasilkan gliserol-3-fosfat dan ADP. Kemudian, gliserol-3-fosfat dioksidasi oleh gliserol kinase untuk menghasilkan dihidroksiaseton fosfat dan hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ). Hidrogen peroksida kemudian bergabung dengan 4-klorofenol dan 4-aminoantipirin untuk membentuk kompleks berwarna. Intensitas

warna yang diukur secara fotometrik berbanding lurus dengan konsentrasi trigliserida dalam sampel (Aryani, 2022). Prinsip metodenya yaitu:



Sampel yang digunakan adalah serum. Kestabilan trigliserida dapat disimpan pada suhu (2-8)°C selama 3 hari. Reagen yang digunakan meliputi Good's buffer pH 7.2, 4-klorofenol, ATP, Mg<sup>+</sup>, Gliserokinase (GK), Peroksidase (POD), Lipoprotein lipase (LPL) 4-Aminoantipirin, Gliserol-3-fosfat-oksidadase (GPO).

### c. Nilai Rujukan

Tabel berikut merupakan nilai rujukan yang digunakan sebagai acuan dalam interpretasi hasil pemeriksaan trigliserida.

Tabel 1. Nilai Rujukan Trigliserida

| Kadar Trigliserida               | Klasifikasi   |
|----------------------------------|---------------|
| <150 mg/dL (<1,70 mmol/L)        | Normal        |
| 150-199 mg/dL (1,70-2,25 mmol/L) | Batas Tinggi  |
| 200-499 mg/dL (2,26-5,36 mmol/L) | Tinggi        |
| >500 mg/dl. (5,65 mmol/L)        | Sangat Tinggi |

Sumber: (Hartini dan Febiola, 2018)

#### 4. Modifikasi Metode Pemeriksaan

Modifikasi metode merupakan perubahan prosedur analitik tanpa mengubah prinsip dasar reaksi, misalnya pengurangan volume reagen dan sampel untuk meningkatkan efisiensi penggunaan bahan. Modifikasi ini dilakukan ketika laboratorium ingin menghemat biaya, menyesuaikan kondisi alat, atau meningkatkan efektivitas operasional, namun tetap mempertahankan akurasi hasil (Nurhayati dkk., 2019).

Prinsip utama modifikasi metode adalah menjaga reaksi enzimatik tetap proporsional terhadap konsentrasi analit, sehingga perubahan volume tidak mengganggu pembentukan produk maupun absorbansi yang diukur. Reaksi enzimatik memang bersifat linear terhadap konsentrasi substrat pada kondisi substrat rendah, sehingga proporsionalitas tetap terjaga selama komposisi reaksi tidak diubah (Eilertsen dkk., 2024).

#### 5. Validasi Metode

Validasi merupakan proses untuk memastikan bahwa suatu metode atau prosedur benar-benar cocok dan layak digunakan sesuai tujuan. Proses ini dilakukan dengan memberikan bukti nyata dan terukur bahwa metode tersebut memenuhi syarat atau standar yang telah ditentukan. Aspek utama validasi adalah validasi memastikan suatu metode dapat diandalkan untuk penggunaan yang dimaksudkan, validasi didasarkan pada bukti yang terukur dan dapat diverifikasi, serta mengonfirmasi bahwa suatu metode memenuhi kriteria yang ditetapkan.

Validasi penting karena memastikan bahwa metode dan proses yang digunakan dapat diandalkan serta menghasilkan hasil yang akurat sebagai bagian dari jaminan kualitas (Mehta, 2025).

Validasi metode merupakan salah satu penjaminan mutu analisis secara kuantitatif (Harmono, 2020). Proses ini diperlukan karena validasi metode berperan sebagai elemen penting dari kontrol kualitas, validasi membantu memberikan jaminan bahwa pengukuran akan dapat diandalkan. Dalam beberapa bidang, pelaksanaan validasi metode adalah persyaratan peraturan (Riyanto, 2019).

Laboratorium harus memvalidasi metode pemeriksaan yang diperoleh dari sumber-sumber berikut:

- a. metode yang dirancang atau dikembangkan di laboratorium;
- b. metode yang digunakan di luar cakupan yang dimaksudkan semula (yaitu di luar petunjuk penggunaan pabrik pembuatnya, atau rentang pengukuran tervalidasi asli; reagen pihak ketiga yang digunakan pada instrumen selain instrumen yang dimaksudkan dan tidak ada data validasi yang tersedia);
- c. metode yang divalidasi kemudian dimodifikasi.

Validasi perlu dilakukan secara menyeluruh sesuai dengan kebutuhan, dengan memberi bukti objektif berupa spesifikasi kinerja, bahwa persyaratan khusus untuk tujuan pemeriksaan telah terpenuhi. Laboratorium harus memastikan bahwa validasi metode pemeriksaan

memadai untuk memastikan validitas hasil yang relevan dengan pengambilan keputusan klinis (ISO 15189, 2022).

## 6. Parameter Validasi Metode

Pemilihan parameter yang akan diuji tergantung dari jenis dan metode pengujian yang akan divalidasi. Terdapat 8 parameter validasi metode analisis yaitu presisi, akurasi, spesifisitas, LoD, LoQ, linieritas, range, robustness (Swartz dan Krull, 2012).

### a. Presisi

Presisi atau ketelitian menggambarkan tingkat kesesuaian antar hasil uji individu dari analisis berulang terhadap sampel yang homogen. Presisi biasanya dilakukan pada tiga tingkat yang berbeda: presisi pengulangan (*repeatability*), presisi menengah (*intermediate precision*), dan presisi reproduksi (*reproducibility*) (Swartz dan Krull, 2012).

Presisi adalah ukuran kedekatan hasil analisis diperoleh dari serangkaian pengukuran ulangan dari ukuran yang sama. Parameter ini mencerminkan besarnya kesalahan acak yang terjadi dalam sebuah metode. Presisi biasanya diukur sebagai koefisien variasi atau deviasi standar relatif dari hasil analisis yang diperoleh dari independen disiapkan standar kontrol kualitas. Presisi tergantung konsentrasi dan harus diukur pada konsentrasi yang berbeda dalam rentang kerja, biasanya di bawah, pertengahan dan bagian atas (Riyanto, 2019).

Uji presisi dilakukan dengan memilih setidaknya dua sampel untuk studi ini, sebaiknya sampel pasien individu, campuran sampel tersebut, atau bahan kontrol kualitas komersial. Sampel harus memiliki konsentrasi pengukuran yang berbeda, sebaiknya yang mewakili titik keputusan klinis (batas potong) atau batas referensi, atau sekadar berada di wilayah normal dan abnormal (CLSI, 2014).

Penelitian dimulai dengan melakukan kalibrasi prosedur sesuai dengan petunjuk pabrikan. Untuk setiap sampel, lakukan lima replikasi dalam satu kali pengujian, yang diulang selama setidaknya lima hari berbeda. Hari-hari tersebut tidak harus berturut-turut, dan setiap sampel tidak wajib diuji dalam run atau hari yang sama. Setiap run sebaiknya disertai bahan kontrol kualitas (QC) dengan kriteria penerimaan dan penolakan yang telah ditetapkan, bila tersedia (CLSI, 2014).

Hasil yang didapatkan dihitung dengan cara berikut dan nilai CV hasil uji dibandingkan dengan  $0,33 \times TEa$  (CLSI, 2014):

- 1) Analisis menggunakan ANOVA untuk memperoleh *mean square between run* (MS1) dan *mean square within run* (MS2).
- 2) *Variances within run* dihitung sebagai  $V_W = MS2$ , *variances between run* sebagai  $V_B = \frac{MS1 - MS2}{n_0}$ , dan *variances total within laboratory* sebagai  $V_{WL} = V_W + V_B$ .  $n_0$  merupakan rata-rata jumlah hasil per percobaan.

- 3) Standar deviasi *within run* ( $S_R$ ), standar deviasi *between run* ( $S_B$ ) dan standar deviasi *within lab* ( $S_{WL}$ ) dihitung dengan akar kuadrat varians terkait.
- 4) Menghitung koefisien variasi *within run* ( $CV_R$ ), koefisien variasi *between run* ( $CV_B$ ) dan koefisien variasi *within lab* ( $CV_{WL}$ ).

Penentuan presisi jangka panjang memadai (dalam evaluasi metode laboratorium klinis) didasarkan pada prinsip bahwa total ketidaktepatan (impresisi) yang sering diukur sebagai Koefisien Variasi (CV) harus kurang dari sepertiga ( $1/3$  atau 33%) dari total kesalahan yang diizinkan (Total Allowable Error/TEa).

#### b. Akurasi

Akurasi (ketepatan) merupakan ukuran keakuratan suatu metode analitis, yaitu sejauh mana kesesuaian antara nilai acuan yang diterima dan nilai yang diperoleh dari sampel uji. Parameter ini dinyatakan dalam persentase analit yang diperoleh dari uji dan berlaku untuk seluruh rentang metode (Swartz dan Krull, 2012).

Akurasi dapat dipengaruhi oleh metode sistematis dan kesalahan laboratorium. Bersama dengan presisi, akurasi berperan dalam menentukan total kesalahan analitik suatu metode. Untuk menilai akurasi, biasanya dilakukan analisis terhadap sampel dengan berbagai konsentrasi rendah, sedang, dan tinggi yang mencakup seluruh rentang kerja metode. Standar konsentrasi yang

digunakan dalam pengujian ini harus berbeda dari larutan yang digunakan untuk membuat kurva kalibrasi, dan berasal dari sumber larutan standar yang lain (Riyanto, 2019).

Desain eksperimen akurasi pada dasarnya sama dengan presisi, beberapa elemen analisis data juga sama sehingga disarankan untuk mengimplementasikan kedua uji sebagai satu eksperimen. Dalam melakukan uji akurasi, pilih setidaknya dua sampel untuk studi ini, sebaiknya sampel pasien individu, campuran sampel tersebut, atau bahan kontrol kualitas komersial. Sampel harus memiliki konsentrasi pengukuran yang berbeda, sebaiknya yang mewakili titik keputusan klinis (batas potong) atau batas referensi, atau sekadar berada di wilayah normal dan abnormal (CLSI, 2014).

Penelitian dimulai dengan melakukan kalibrasi prosedur sesuai dengan petunjuk pabrikan. Untuk setiap sampel, lakukan lima replikasi dalam satu kali pengujian, yang diulang selama setidaknya lima hari berbeda. Hari-hari tersebut tidak harus berturut-turut, dan setiap sampel tidak wajib diuji dalam run atau hari yang sama. Setiap run sebaiknya disertai bahan kontrol kualitas (QC) dengan kriteria penerimaan dan penolakan yang telah ditetapkan, bila tersedia. Kemudian bias diperkirakan dengan membandingkan rata-rata keseluruhan dari 25 replikasi hasil yang telah diuji level 1 dan level 2 terhadap rata-rata kelompok dari

laboratorium yang berpartisipasi dalam program QC antarlaboratorium (CLSI, 2014).

c. Spesifisitas

Spesifisitas merupakan suatu uji kemampuan untuk mengukur secara akurat dan spesifik analit meskipun terdapat komponen lain yang mungkin terdapat dalam medium sampel. Istilah spesifik umumnya merujuk pada metode yang menghasilkan respons hanya untuk satu analit saja. Spesifisitas dikelompokkan menjadi tiga kategori.

- 1) Uji identifikasi, yaitu untuk memastikan identitas suatu analit,
- 2) Uji kemurnian, yaitu untuk memastikan bahwa semua prosedur analitis yang dilakukan memungkinkan pernyataan akurat tentang kandungan kontaminan analit,
- 3) Uji kuantitatif, yaitu untuk memberikan hasil yang tepat yang memungkinkan pernyataan akurat tentang kandungan atau kekuatan analit dalam sampel (Chavan dan Desai, 2022).

d. LoD

Sensitivitas suatu metode analisis dapat dinyatakan dalam batas deteksi (LOD). *Limit of Detection* (LOD) adalah kadar analit terkecil dalam sampel yang masih dapat dideteksi dan memberikan respon berbeda signifikan dengan blanko ataupun noise (Harmono, 2020). Menurut Riyanto (2019), penentuan LoD terdapat 3 cara yaitu:

### 1) Signal to Noise

Pendekatan ini hanya dapat diterapkan pada prosedur analitis yang menunjukkan noise dasar. Hal ini dilakukan dengan membandingkan sinyal yang diukur dari sampel dengan konsentrasi analit yang diketahui rendah dengan sinyal dari sampel kosong dan menetapkan konsentrasi minimum di mana analit dapat dideteksi (Chavan dan Desai, 2022).

### 2) Penentuan Blanko

Penentuan blanko diterapkan ketika analisis blanko memberikan hasil standar deviasi tidak nol. LOD dinyatakan sebagai konsentrasi analit yang sesuai dengan nilai blanko sampel ditambah tiga standar deviasi. seperti yang ditunjukkan dalam persamaan berikut:

$$LOD = \bar{x} + 3S_b$$

Dimana  $\bar{x}$  adalah konsentrasi rata-rata blanko dan  $S_b$  adalah standar deviasi dari blanko (Riyanto, 2019).

### 3) Kurva kalibrasi

Jika data pada sampel yang mendekati atau berada pada batas deteksi (LOD) tidak tersedia, parameter persamaan kalibrasi dapat digunakan untuk memperkirakan batas deteksi instrumental (LOD). Dengan menggunakan perkiraan LOD sebagai blanko ditambah tiga simpangan baku blanko, respons instrumen terhadap blanko diambil sebagai intersep persamaan

kalibrasi ( $a$ ), dan simpangan baku respons instrumen diambil sebagai simpangan baku persamaan kalibrasi ( $s_a$ ) (National Association of Testing Authorities, 2012). Oleh karena itu LOD dapat dinyatakan sebagai:

$$LOD = 3 S_a/b$$

$S_a$  adalah standar deviasi dan  $b$  slope.

Buku Cantwell (2025) menyatakan yang dilakukan untuk uji LoD yaitu replikasi pengukuran sample blank atau replikasi pengukuran sampel uji dengan konsentrasi yang ditambahkan dengan konsentrasi rendah analit. Asumsinya adalah jika terdapat analit maka akan menghasilkan sinyal atau respon yang lebih besar daripada *noise* dalam kondisi tanpa analit (Armbruster dan Pry, 2008). Uji batas deteksi dilakukan dengan melakukan pengulangan terhadap sampel blank sebanyak 20 kali pengulangan lalu dihitung menggunakan rumus berikut (National Association of Testing Authorities, 2012):

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

e. LoQ

Limit kuantitasi (LOQ) adalah konsentrasi terendah dari analit yang dapat ditentukan dengan tingkat presisi dan akurasi yang dapat diterima, di bawah kondisi pengujian yang disepakati. Limit deteksi dan limit kuantitasi tidak dapat dipisahkan karena diantara keduanya terdapat hubungan yang sangat kuat. Secara

praktis cara evaluasi keduanya dapat dikatakan tidak ada perbedaan yang signifikan. Perbedaan di antara keduanya hanya pada sifat kuantitatif data yang diperoleh (Riyanto, 2019).

Menurut Riyanto (2019), penentuan LoQ terdapat 3 cara yaitu:

1) Signal to Noise

Pendekatan ini hanya dapat diterapkan pada prosedur analitis yang menunjukkan noise dasar. Dilakukan dengan membandingkan sinyal yang diukur dari sampel dengan konsentrasi analit yang diketahui rendah dengan sinyal dari sampel kosong, dan menetapkan konsentrasi minimum di mana analit dapat dideteksi. Rasio sinyal terhadap noise 10:1 umumnya diterima (Chavan dan Desai, 2022).

2) Penentuan Blanko

Penentuan blanko diterapkan ketika analisis blanko memberikan hasil standar deviasi tidak nol. LOQ adalah konsentrasi analit yang sesuai dengan nilai blanko sampel ditambah sepuluh standar deviasi. seperti yang ditunjukkan dalam persamaan berikut:

$$LOQ = \bar{x} + 10 S_b$$

Dimana  $\bar{x}$  adalah konsentrasi rata-rata blanko dan  $S_b$  adalah standar deviasi dari blanko (Riyanto, 2019).

3) Kurva Kalibrasi

Kurva kalibrasi linear diasumsikan bahwa respon instrumen  $y$  berhubungan linier dengan konsentrasi  $x$  standar untuk rentang yang terbatas konsentrasi. Hal ini dapat dinyatakan dalam model seperti  $y = bx + a$ . Model ini digunakan untuk menghitung sensitivitas  $b$  dan LOQ. Oleh karena itu LOQ dapat dinyatakan sebagai:

$$LOQ = 10 S_a/b$$

$S_a$  adalah standar deviasi dan  $b$  slope.

Buku Cantwell (2025) menyatakan yang dilakukan untuk uji LoQ yaitu replikasi pengukuran sample blank atau replikasi pengukuran sampel uji dengan konsentrasi yang ditambahkan dengan konsentrasi rendah analit. Limit deteksi dan limit kuantitasi tidak dapat dipisahkan karena diantara keduanya terdapat hubungan yang sangat kuat (Riyanto, 2019). Oleh karena itu perhitungan atau rumus limit kuantitasi menggunakan lanjutan rumus yang diperoleh dari kadar LoD, maka rumus nilai LoQ yaitu (National Association of Testing Authorities, 2012):

$$LoQ = 3LoD$$

#### f. Linieritas

Linieritas merupakan kemampuan suatu metode analisis untuk menghasilkan respon yang sebanding dengan konsentrasi analit yang terdapat dalam sampel. Uji linieritas dilakukan dengan menggunakan serangkaian larutan standar yang terdiri atas

sedikitnya empat tingkat konsentrasi berbeda. Evaluasi hubungan linier dilakukan melalui analisis regresi linier dengan persamaan  $y = bx + a$ , di mana  $b$  adalah kemiringan (*slope*),  $a$  adalah intersep,  $x$  menunjukkan konsentrasi analit, dan  $y$  merupakan respon instrumen (Riyanto, 2019).

Dua parameter yang digunakan untuk menilai kelinieran yaitu koefisien korelasi ( $r$ ) dan koefisien determinasi ( $R^2$ ). Koefisien determinasi menggambarkan proporsi variasi data yang dapat dijelaskan oleh model linier, sedangkan koefisien korelasi menunjukkan tingkat hubungan linier antara dua variabel. Nilai  $R^2$  selalu bernilai positif, sementara nilai  $r$  berkisar antara -1 hingga +1. Hubungan linier yang ideal ditunjukkan ketika  $a = 0$  dan  $r$  mendekati +1 atau -1, dengan tanda positif (+) menunjukkan hubungan searah (garis miring ke kanan) dan tanda negatif (-) menunjukkan hubungan berlawanan arah (garis miring ke kiri) (Riyanto, 2019).

Buku Westgard (2023) menyatakan uji linieritas 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. Linieritas diukur melalui pembuatan kurva kalibrasi dengan memplotkan nilai absorbansi terukur (sumbu  $y$ ) dengan kadar larutan standar (sumbu

x). Dari persamaan regresi linier yang didapat kemudian dihitung nilai koefisien determinasi ( $R^2$ ) (Harmono, 2020). Nilai koefisien determinasi yang didapat mendekati satu dan sesuai dengan syarat keberterimaan yaitu nilai koefisien determinasi hasil uji linieritas adalah  $> 0,9970$  (Chan dkk., 2004).

g. *Range*

Rentang prosedur analitik adalah interval antara konsentrasi terendah hingga tertinggi dari suatu analit dalam sampel, dimana telah dibuktikan bahwa prosedur analitik memiliki tingkat presisi, akurasi, dan linieritas yang memadai. Rentang ini biasanya diperoleh berdasarkan hasil dari uji linieritas dan nilainya dapat bervariasi tergantung pada tujuan atau aplikasi metode yang digunakan (Chavan dan Desai, 2022).

Kisaran (range) merupakan jarak antara konsentrasi analit tertinggi dan terendah (termasuk keduanya) yang telah terbukti dapat diukur dengan tingkat ketepatan, ketelitian, dan linieritas yang memadai. Kisaran ini biasanya dinyatakan dalam satuan yang sama dengan hasil pengujian metode, misalnya ng/mL (Swartz dan Krull, 2012).

h. *Robustness*

*Robustness* (ketahanan) merupakan kemampuan suatu prosedur pengukuran untuk mempertahankan kinerja yang dapat diterima meskipun terjadi perubahan kecil dalam kondisi operasi.

Suatu metode memiliki tahap-tahap tertentu yang jika tidak dilakukan dengan cukup hati-hati akan memiliki dampak signifikan terhadap kinerja metode dan bahkan dapat menyebabkan metode tersebut tidak berfungsi sama sekali.

Tahapan-tahapan kritis tersebut perlu diidentifikasi selama proses pengembangan metode, dan sejauh mungkin harus dievaluasi melalui uji ketahanan (*robustness test*) untuk menilai sejauh mana perubahan kecil dapat memengaruhi kinerja metode. Pengaruh faktor-faktor yang di uji dapat dievaluasi melalui desain eksperimen yang memungkinkan studi bersamaan terhadap sejumlah faktor dalam jumlah eksperimen yang telah ditentukan. Desain penyaringan dua tingkat, seperti desain faktorial fraksional atau desain Plackett–Burman, sering diterapkan (Cantwell, 2025).

Uji ketahanan dapat dilakukan dengan menguji pengaruh setiap faktor secara terpisah, yaitu dengan mengubah satu parameter dalam jumlah kecil sambil menjaga kondisi lainnya tetap sama (disebut uji variabel tunggal). Namun, cara ini memerlukan waktu dan tenaga lebih banyak karena ada banyak faktor yang harus diuji satu per satu. Untuk mengatasinya, tersedia desain eksperimen yang memungkinkan beberapa faktor diuji secara bersamaan. Buku Hibbert (2007) menyatakan bahwa desain Plackett-Burman merupakan metode yang lebih efisien dan hemat, karena dapat mengevaluasi  $(4n - 1)$  variabel hanya dengan

melakukan  $4n$  kali pengujian. Kedua pendekatan ini tetap mengasumsikan bahwa setiap faktor bekerja secara independen atau tidak saling memengaruhi (National Association of Testing Authorities, 2012).

## 7. Dasar Statistik

### a. Mean

Nilai rata-rata (mean) adalah hasil bagi dari total hasil pemeriksaan dengan banyaknya pemeriksaan yang dilakukan. Nilai ini didapat dari serangkaian hasil pemeriksaan yang dilakukan terhadap spesimen yang sama dan dilakukan secara berulang, yang umumnya memiliki pola distribusi normal yang digambarkan dengan kurva Gauss. Bagian tengah Dari kurva tersebut menunjukkan nilai rata-rata atau mean, yang dilambangkan dengan  $\bar{X}$ . Mean biasanya digunakan sebagai nilai target dari QC. Rumus mean sebagai berikut (Siregar dkk., 2018):

$$\bar{X} = \frac{\sum x_i}{n}$$

Keterangan :

$\bar{X}$  : nilai rata-rata

$\sum X_i$  : jumlah seluruh nilai

$n$  : jumlah sampel

### b. Standar Deviasi

Standar Deviasi (SD) merupakan akar kuadrat dari nilai varian, yang menggambarkan seberapa jauh data hasil pemeriksaan

terhadap nilai rata-rata (mean) pada distribusi Kurva Gauss. Rumus menghitung Standar Deviasi (SD) adalah:

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

Keterangan:

SD : Standar Deviasi

$X_i$  : Nilai hasil pemeriksaan ke-i

$\bar{X}$  : Nilai rata-rata (mean)

n : Jumlah data

c. Koefisien Variasi

Koefisien Variasi (CV) adalah pengukuran relatif dari variabilitas hasil-hasil, untuk menentukan ketelitian/ presisi. Semakin kecil nilai CV, maka semakin teliti sistem/metode tersebut dan sebaliknya. Untuk menghitung CV menggunakan rumus (Siregar dkk., 2018)

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

Keterangan:

CV : Koefisien variasi

SD : Standar deviasi

Mean : Nilai rata-rata

d. *Total Error Allowable* (TEa)

TEA (*total error allowable*) adalah persyaratan kualitas yang menetapkan batas untuk kombinasi ketidaktepatan (kesalahan

acak) dan bias (ketidakakuratan) yang dapat ditoleransi dalam pengukuran tunggal atau hasil tes tunggal untuk memastikan kegunaan klinis. Berdasarkan standar *Clinical Laboratory Improvement Amendments* (CLIA), nilai *Total Error Allowable* (TEa) untuk parameter trigliserida adalah  $\pm 15\%$ , yang digunakan sebagai batas keberterimaan dalam evaluasi kinerja metode (Bishop dkk., 2023).

#### 8. Bahan Kontrol

Bahan kontrol merupakan bahan yang digunakan untuk memantau dan memastikan ketepatan hasil serta mengawasi kualitas pemeriksaan laboratorium klinis. Bahan kontrol berfungsi sebagai acuan dalam menilai konsistensi dan keakuratan hasil pemeriksaan. Sumber bahan kontrol dapat berasal dari bahan kontrol komersial atau dapat dibuat sendiri dari bahan pool (kumpulan) bahan kontrol sekunder (Harahap dkk., 2024).

Jenis bahan kontrol dapat dibedakan berdasarkan (Harahap dkk., 2024)

##### a. Sumber bahan kontrol

Berdasarkan sumbernya, bahan kontrol dapat berasal dari manusia, hewan atau bahan kimia murni.

##### b. Bentuk bahan kontrol

Bahan kontrol tersedia dalam berbagai bentuk antara lain bentuk cair, bentuk padat bubuk (лиофилisat) dan bentuk strip.

c. Cara Pembuatan

Bahan kontrol dapat dibuat sendiri oleh laboratorium atau dapat dibeli dalam bentuk sudah jadi (komersial).

Terdapat beberapa macam bahan kontrol yang dibuat sendiri, yaitu:

- a. Pooled sera adalah bahan kontrol yang dibuat dari campuran sisa serum pasien yang sehari-hari dikirim ke laboratorium.
- b. Bahan kontrol yang dibuat dari bahan kimia murni sering disebut sebagai larutan spikes.
- c. Bahan kontrol yang dibuat dari lisat, disebut juga hemolizat.
- d. Kuman kontrol yang dibuat dari strain murni kuman.

Adapun macam bahan kontrol yang dibeli dalam bentuk sudah jadi (komersial) yaitu:

a. Bahan kontrol *Unassayed*

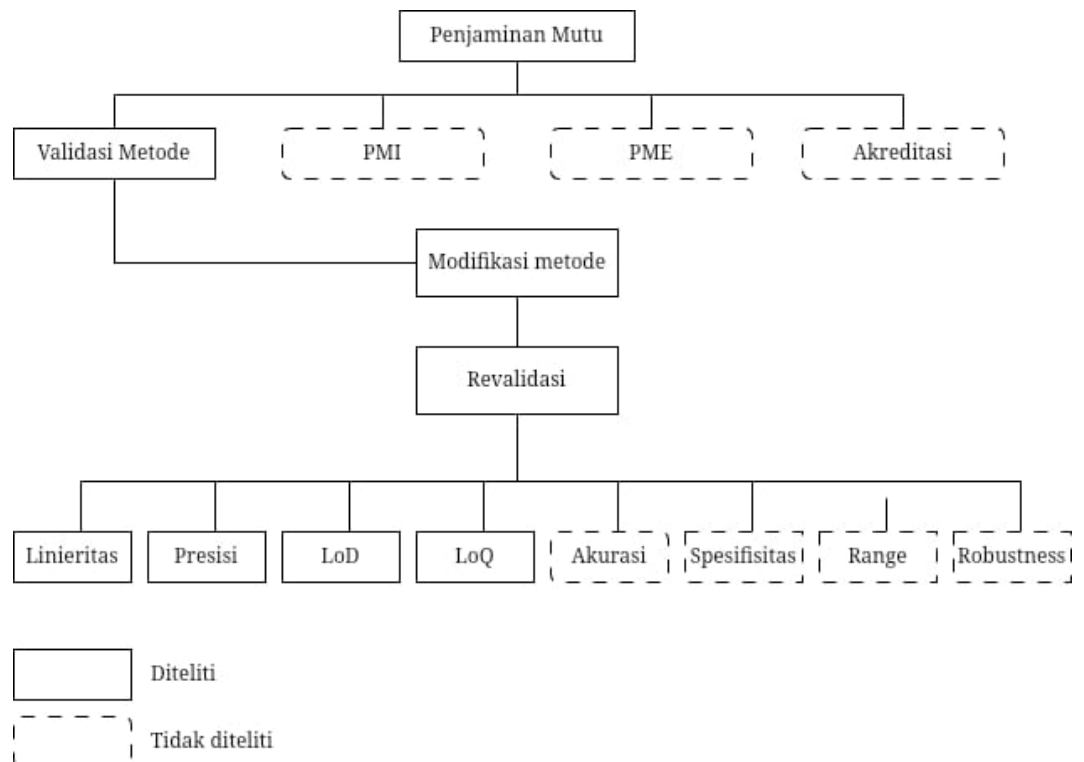
Bahan kontrol *unassayed* adalah jenis bahan kontrol yang belum memiliki nilai rujukan sebagai patokan. Karena tidak memiliki nilai rujukan yang baku maka tidak dapat dipakai untuk kontrol akurasi. Pemanfaatan bahan kontrol jenis ini untuk memantau ketelitian pemeriksaan atau untuk melihat adanya perubahan akurasi (Harahap dkk., 2024).

b. Bahan kontrol *Assayed*

Bahan kontrol *assayed* adalah jenis bahan kontrol yang sudah diketahui nilai rujukannya serta batas toleransi sesuai dengan metode pemeriksaan yang digunakan. Bahan kontrol ini digunakan

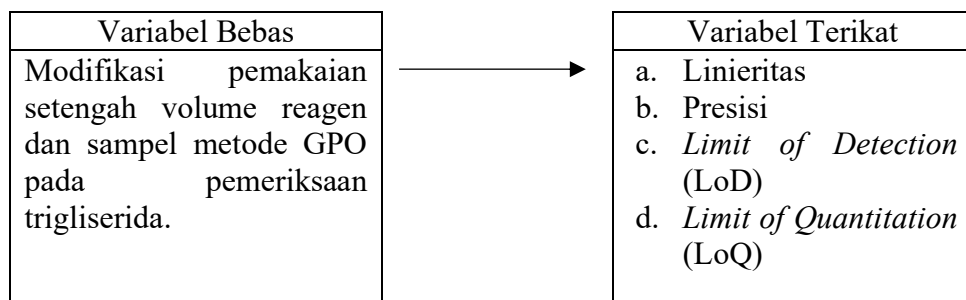
untuk mengontrol akurasi dan juga presisi. Selain itu, bahan kontrol assayed diterapkan untuk menilai peralatan dan prosedur baru (Harahap dkk., 2024).

## B. Kerangka Teori



**Gambar 1. Kerangka Teori**

## C. Hubungan Antar Variabel



#### D. Hipotesis

1. Linieritas metode GPO (*Glycerol 3 Phospate Oxidase*) pada pemeriksaan trigliserida dengan modifikasi setengah volume reagen dan sampel koefisien determinasinya  $>0,9970$ .
2. Presisi metode GPO (*Glycerol 3 Phospate Oxidase*) pada pemeriksaan trigliserida dengan modifikasi setengah volume reagen dan sampel koefisien variasinya lebih kecil daripada  $0,33 \times TEa$ .
3. Memiliki nilai LoD metode GPO (*Glycerol 3 Phospate Oxidase*) pada pemeriksaan trigliserida dengan modifikasi setengah volume reagen dan sampel.
4. Memiliki nilai LoQ metode GPO (*Glycerol 3 Phospate Oxidase*) pada pemeriksaan trigliserida dengan modifikasi setengah volume reagen dan sampel.