

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Analisis Deskriptif

Hasil Penelitian berupa data primer, data primer yang diperoleh dari penelitian ini adalah kadar asam urat pada sampel serum. Kadar ini diukur setelah sampel serum diberi dua perlakuan waktu inkubasi yang berbeda, yaitu 10 menit dan 30 menit (kontrol). Selanjutnya, kadar asam urat dalam serum tersebut diperiksa menggunakan fotometer.

Penelitian dilakukan pada pasien pemeriksaan asam urat di Puskesmas Mergangsan dengan karakteristik berdasarkan jenis kelamin serta usia untuk menentukan kesesuaian nilai normal pada pemeriksaan asam urat disajikan pada tabel 6 sebagai berikut:

Tabel 6. Karakteristik Responden

no	Karakteristik	n	%
1.	Jenis Kelamin		
	Laki-laki	11	27,5
	Perempuan	29	72,5
2.	Usia		
	Dewasa	40	100
3.	Kategori Nilai Kadar Asam Urat		
	Normal	30	75
	Tinggi	10	25

Hasil analisis menunjukkan bahwa distribusi jenis kelamin perempuan lebih dominan yaitu sebanyak 29 orang (72,5%), sementara responden laki-laki sebanyak 11 orang (27,5) dari total 40 responden. Kategori kadar asam urat berdasarkan pada kit reagen, mayoritas

responden memiliki kadar asam urat dalam rentang normal sebanyak 30 orang (75%), sedangkan responden dengan kadar asam urat tinggi sebanyak 10 orang (25%). Hasil pemeriksaan kadar asam urat berdasarkan masing-masing waktu inkubasi ditunjukkan pada Tabel 7:

Tabel 7. Analisis Deskriptif

Analisis Deskriptif	Inkubasi 10 Menit	Inkubasi 30 Menit
Jumlah Sampel	40	40
Nilai Terendah	2,26	2,60
Nilai Tertinggi	10,88	11,38
Rata-rata	4,91	5,45
Standar Deviasi	1,82	1,93

Tabel 7. menunjukkan hasil rata-rata kadar asam urat dengan waktu inkubasi 10 menit dan 30 menit. Rata-rata kadar asam urat dengan waktu inkubasi 10 menit yaitu 4,9 mg/dL. Sedangkan rata-rata asam urat 30 menit yaitu 5,45 mg/dL.

2. Analisis Analitik Uji Bland-Altman

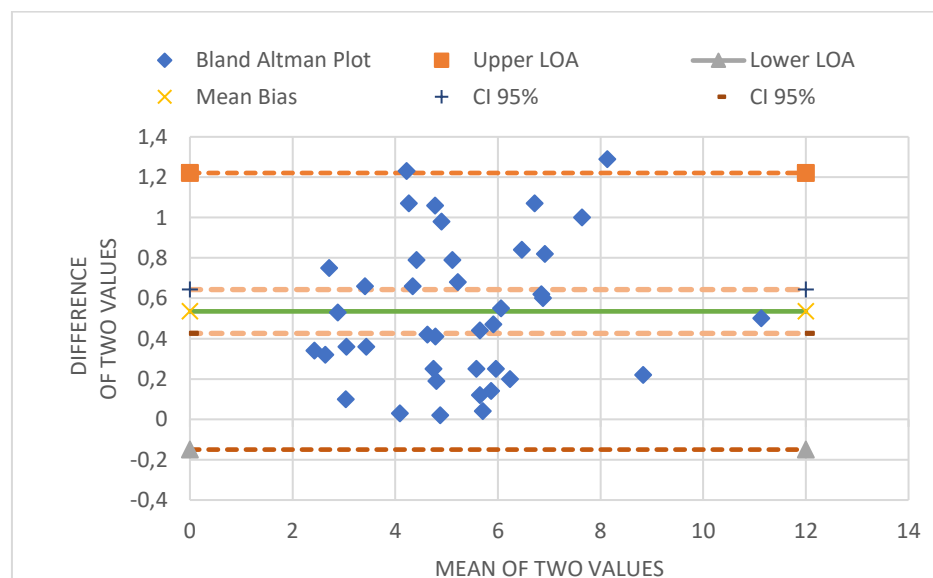
Penelitian ini melibatkan 40 sampel serum pasien pemeriksaan asam urat yang diperiksa menggunakan dua metode inkubasi yaitu 10 menit dan 30 menit. Data dianalisis secara deskriptif dan menggunakan uji Bland-Altman dengan bantuan perangkat lunak Excel untuk menilai kesesuaian kedua waktu inkubasi.

Tabel 8. Analisis Bland Altman

Analisis	Pemeriksaan Asam Urat dengan waktu inkubasi 10 Menit & 30 Menit
Bias	0,53
Standar deviasi (SD)	0,35
<i>Upper LoA</i>	1,22
<i>Lower LoA</i>	-0,15
<i>Confidence Interfal 95% Upper</i>	0,64
<i>Confidence Interfal 95% Lower</i>	0,43

Hasil analisis pada Tabel 8. menunjukkan nilai bias sebesar 0,53 yang mengindikasikan bahwa adanya perbedaan sistematis antara kedua waktu inkubasi, dimana waktu inkubasi 30 menit (kontrol) lebih tinggi dibandingkan dengan waktu inkubasi 10 menit.

Limits Of Agreement (LOA) 95% diperoleh dengan batas atas sebesar 1,22 dan bawah sebesar -0,15. Sebagian besar titik berada didalam batas limits of agreement, meskipun ada dua titik yang berada diluar batas tersebut.



Gambar 8. Plot Hasil Analisis Bland-Altman

Gambar 8. menunjukkan plot Bland-Altman yang menggambarkan kesesuaian antara dua waktu inkubasi dimana sebagian besar titik berada didalam batas *limits of agreement*. Menurut Pum (2020), suatu metode dapat digunakan apabila *Limits Of Agreement* berada dalam batas penerimaan bias yang telah ditentukan secara klinis. Nilai batas toleransi yang umumnya dianggap dapat diterima secara klinis untuk pengukuran kadar asam urat berdasarkan pedoman *Clinical Laboratory Improvement Amendments* (CLIA) adalah $\pm 10\%$ atau setara dengan 0,50 mg/dl. Berdasarkan hasil yang didapat bias dan LoA melebihi nilai batas toleransi tersebut, yang menandakan tidak adanya kesepakatan yang baik antara kedua waktu inkubasi dengan perbedaan yang relatif besar. Oleh karena itu, waktu inkubasi 10 menit tidak dapat digunakan untuk menggantikan waktu inkubasi 30 menit.

B. Pembahasan

Berdasarkan hasil penelitian, modifikasi waktu inkubasi menjadi 10 menit menghasilkan kadar asam urat yang lebih rendah (4,91 mg/dL), dibandingkan dengan waktu inkubasi standar 30 menit (5,45 mg/dL). Selisih sebesar 0,54 mg/dL ini mengindikasikan bahwa inkubasi 10 menit pada suhu ruang belum cukup bagi reaksi enzimatik metode TBHBA untuk mencapai titik kesetimbangan (*end-point*) yang sempurna (Bishop *et al.*, 2020). Sesuai standar operasional prosedur (SOP) kit reagen, waktu inkubasi 30 menit memberikan kesempatan bagi pembentukan kromogen yang lebih maksimal dan stabil sebelum dibaca oleh fotometer.

Pada metode TBHBA (*2,4,6-tribromo-3-hydroxybenzoic acid*), pemeriksaan asam urat ini merupakan metode enzimatik kolorimetri yang menggunakan enzim uricase dan peroksidase (POD). Pada tahap awal, asam urat dioksidasi oleh enzim uricase menjadi allantoin, karbon dioksida, dan hidrogen peroksida (H_2O_2). Selanjutnya, H_2O_2 bereaksi dengan 4-aminoantipirin dan TBHBA dengan bantuan enzim peroksidase membentuk senyawa *quinoneimine* berwarna merah. Intensitas warna yang terbentuk sebanding dengan kadar asam urat dalam sampel dan diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang sekitar 546 nm (Proline, 2024).

Metode TBHBA termasuk metode endpoint sehingga reaksi memerlukan waktu inkubasi tertentu agar pembentukan warna berlangsung sempurna. Menurut insert kit Proline, waktu inkubasi optimal pada suhu ruang ($20-25^{\circ}C$) adalah 30 menit. Pada suhu ruang, enzim bekerja lebih lambat dibandingkan pada suhu optimal tubuh manusia ($37^{\circ}C$). Oleh karena itu, enzim membutuhkan waktu inkubasi yang lebih lama agar reaksi mencapai fase stabil sehingga absorbansi yang terbentuk mencapai intensitas puncak dan hasil kadar asam urat menjadi akurat (Burtis & Bruns, 2019).

Modifikasi waktu inkubasi menjadi 10 menit menyebabkan enzim belum selesai bekerja secara keseluruhan. Akibatnya, senyawa berwarna (*quinoneimine*) yang terbentuk lebih sedikit dari yang semestinya. Hal ini secara langsung menyebabkan nilai absorbansi yang terbaca di fotometer menjadi lebih rendah, yang akhirnya memberikan hasil kadar asam urat yang tidak akurat (Phuadraksa, T., *et al.*, 2020).

Secara teknis, percepatan waktu inkubasi di fasilitas kesehatan seperti puskesmas sering dilakukan demi efisiensi waktu pelayanan. Namun, hasil ini sejalan dengan penelitian Sya'bania (2019) yang menyatakan terdapat perbedaan signifikan antara waktu inkubasi 10, 60, dan 90 menit; di mana durasi yang lebih lama menghasilkan kadar yang lebih tinggi. Hal ini membuktikan bahwa durasi inkubasi merupakan variabel kritis yang harus diperhatikan untuk menjaga akurasi hasil laboratorium (Bishop *et al.*, 2020).

Analisis kesesuaian menggunakan metode Bland-Altman menunjukkan nilai bias sebesar 0,53 mg/dL (10,6%), yang menandakan bahwa waktu inkubasi 30 menit secara sistematis menghasilkan kadar asam urat lebih tinggi dibandingkan inkubasi 10 menit. Nilai bias tersebut telah melebihi batas kesalahan yang dapat diterima secara klinis menurut standar Clinical Laboratory Improvement Amendments (CLIA) yaitu $\pm 10\%$ atau setara $\pm 0,5$ mg/dL, sehingga modifikasi waktu inkubasi 10 menit tidak memenuhi kriteria akurasi klinis yang dapat diterima (CLIA, 2024). Selain itu, rentang Limit of Agreement (LoA) sebesar -0,15 hingga 1,22 mg/dL menunjukkan variasi perbedaan yang cukup lebar antara kedua metode inkubasi dan telah melampaui batas toleransi klinis $\pm 0,5$ mg/dL (Mansournia *et al.*, 2020), sehingga waktu inkubasi 10 menit tidak memiliki kesesuaian yang baik serta tidak dapat digunakan secara bergantian dengan waktu inkubasi standar 30 menit.

Kesalahan dalam tahap analitik ini beresiko besar bagi penanganan pasien. Bias dan LoA pemeriksaan telah melewati batas yang diizinkan oleh *Clinical*

Laboratory Improvement Amendments (CLIA). Kesalahan ini berpotensi menyebabkan pasien dengan *hiperurisemia* terdiagnosis normal (salah diagnosis) sehingga pasien tidak mendapatkan pengobatan yang semestinya (Burtis & Bruns, 2019).

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat diketahui bahwa tidak terdapat kesesuaian yang baik antara modifikasi waktu inkubasi 10 menit dengan 30 menit dalam pemeriksaan asam urat. Hal ini ditunjukkan oleh nilai bias yang telah melewati batas kesalahan yang dapat diterima secara klinis serta nilai rentang LoA yang dianggap terlalu lebar, di mana inkubasi 10 menit cenderung menghasilkan nilai yang lebih rendah (*underestimation*) akibat belum tercapainya titik kesetimbangan (*end-point*) reaksi enzimatik yang sempurna pada suhu ruang (Phuadraksa, *et al.*, 2020).

Penelitian ini memiliki keterbatasan, dimana kondisi suhu ruang (20-25°C) tidak dikontrol secara ketat dengan termometer digital ($\pm 2^\circ\text{C}$) selama inkubasi, enzim uricase dalam metode TBHBA sensitif terhadap fluktuasi suhu 3-5°C yang dapat mengubah reaction rate 10-20% (Proline, 2024). Oleh karena itu, penelitian lebih lanjut bisa dilakukan dengan pemantauan suhu yang lebih ketat untuk memastikan bahwa percepatan waktu inkubasi benar-benar diuji berdasarkan efisiensi kinetika enzim, bukan dipengaruhi oleh perubahan suhu lingkungan laboratorium.