

sekali digunakan karena saat ini sudah banyak alat otomatis. Metode ini memiliki kelebihan yaitu kemungkinan kecil untuk terjadi human eror (kesalahan oleh manusia). Waktu inkubasi lebih cepat dan penggunaan reagen lebih irit dibandingkan dengan penggunaan metode GOD- PAP. Pemeriksaan kadar glukosa sudah diisyaratkan menggunakan metode enzimatis dan menghentikan penggunaan prinsip reduksi untuk menghindari pengukuran zat lain yang memberikan hasil tinggi atau rendah palsu (Susiwati, 2018).

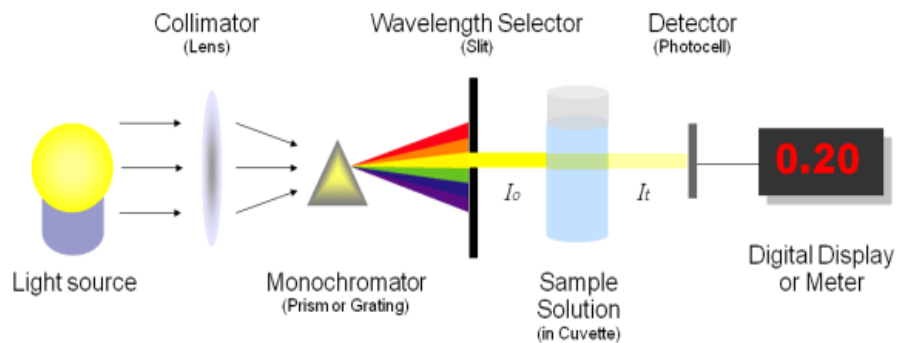
3. Point Of Care Testing (POCT) glukosa darah

Point Of Care Testing (POCT) menurut *College of American Pathologist* adalah pemeriksaan yang dilakukan diluar lokasi laboratorium, menggunakan peralatan yang dapat dibawa dekat dengan pasien untuk mendapatkan hasil segera. Cara pengambilan sampel pada dasarnya sama dengan uji klinis lainnya. Glukosa POCT umumnya digunakan di fasilitas medis, instalasi gawat darurat, bahkan di rumah pasien. Alat ini banyak digunakan selain mudah dan nyaman untuk digunakan, juga memberikan hasil pemeriksaan glukosa darah juga dapat diketahui dalam hitungan detik dan membutuhkan sampel yang sedikit. Secara umum prinsip kerja alat ini menggunakan teknologi biosensor, dimana muatan listrik yang dihasilkan oleh interaksi kimia antara zat tertentu dalam darah dan zat kimia pada reagen kering (strip) yang akan diukur dan dikonversi menjadi angka yang sesuai dengan jumlah muatan listrik. Nilai yang diperoleh dapat dianggap setara dengan kandungan zat yang diukur dalam darah. Beberapa penelitian menilai keakuratan pemeriksaan kadar glukosa darah menggunakan glukometer cukup baik dengan sensitivitas 70% dan spesivitas 90% (Afni Juhairia Laisouw, 2017)

F. Prinsip Fotometri

Fotometer adalah alat yang digunakan untuk mengukur kadar suatu zat secara kuantitatif. Sistem pencahayaan merupakan hal utama pada fotometer, untuk menjaga agar lampu stabil fungsinya dan tahan lama, maka sumber listrik harus

di jaga agar stabil tegangannya. filter merupakan bagian terpenting umumnya photometer di lengkapi 1 set filter standar dengan pilihan panjang gelombang tertentu. Prinsip dasar fotometri adalah pengukuran penyerapan sinar akibat interaksi sinar yang mempunyai panjang gelombang tertentu dengan larutan atau zat warna yang di lewatinya. Kebanyakan photometers mendeteksi cahaya dengan photoresistors, dioda atau photomultipliers untuk menganalisis cahaya, fotometer bisa mengukur cahaya setelah melalu filter atau melalui monokromator penentuan di tentukan panjang gelombang atau untuk analisis terhadap distribusi spektrum cahaya. (Ishak, 2018)



Gambar 2. Skematik Kerja Spektrofotometer

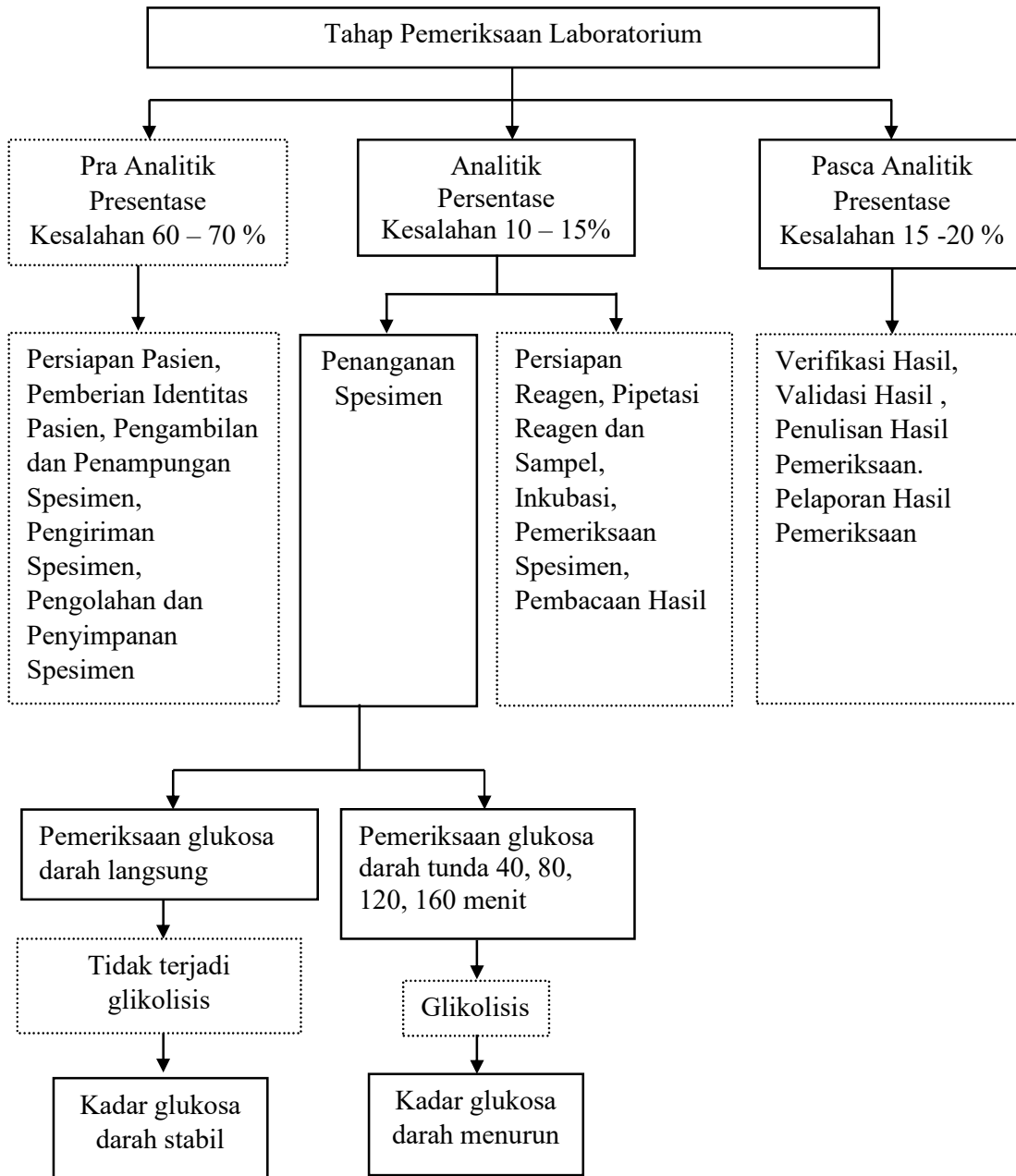
Berdasarkan range/kisaran dari panjang gelombang dari sumber cahaya, dapat dibedakan menjadi :

- Spektrofotometer UV-Visible adalah menggunakan cahaya dengan kisaran ultraviolet (185-400 nm) dan kisaran cahaya visible (terlihat) (400-700 nm). Spektrofotometri UV-Vis merupakan salah satu teknik analisis spektroskopi yang memakai sumber radiasi elektromagnetik ultraviolet dekat (185-400 nm) dan sinar tampak (400-700 nm) dengan memakai instrumen spektrofotometer. Spektrofotometri UV-Vis melibatkan energi elektronik yang cukup besar pada molekul yang dianalisis, sehingga spektrofotometri UV-Vis lebih banyak dipakai untuk analisis kuantitatif ketimbang kualitatif.
- Spektrofotometer IR (infra Red) adalah menggunakan cahaya pada kisaran (700-1500 nm) Spektrofotometri Infra Red adalah pengukuran dari interaksi dari radiasi infra red dengan material yang diabsorpsi, diemisikan atau refleksi.

G. Pengaruh Penundaan Sample Terhadap Hasil Pemeriksaan

Keterlambatan pengujian merupakan salah satu permasalahan yang dapat terjadi dilaboratorium. Hal ini disebabkan banyaknya sampel yang akan diuji, proses pengiriman yang lama, dan kapasitas staff yang terbatas. maupun reagen serta kerusakan alat. Selain itu, sampel darah pada pasien rawat inap biasanya tidak segera di uji, Namun dikumpulkan terlebih dahulu bersama sampel pasien lain untuk dilakukan pemeriksaan secara bersama-sama, sehingga pada sampel pertama seringkali terjadi penundaan waktu pemeriksaan. Hal ini dilakukan untuk mengefektifkan waktu pengujian, tenaga dan reagen (Apriani dan Umami, 2018). Pada pemeriksaan laboratorium seharusnya dilakukan segera, namun sampel harus disimpan bila digunakan untuk penyimpanan spesimen, pengiriman dan penundaan pemeriksaan seperti pemadaman listrik, kerusakan alat, reagen yang habis dan jumlah sampel yang banyak (Hartini, 2016). Namun penundaan pada pemeriksaan glukosa darah dapat mengakibatkan terjadinya glikolisis pada komponen darah seperti sel darah merah, sel darah putih dan trombosit. Glikolisis dapat terjadi karena pengaruh suhu, lama penyimpanan, dan juga disebabkan oleh kontaminasi bakteri (Kasimo, 2020).

H. Kerangka Berpikir



Gambar 3. Kerangka Berpikir

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Definisi Operasional

Berikut adalah definisi operasional dari kerangka berfikir :

Tabel 3.1 Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi Operasional	Indikator / Parameter	Instrument / Alat Ukur	Skala	Kategori
1	Pemeriksaan Langsung	Pemeriksaan kadar glukosa sewaktu serum yang dilakukan secara langsung setelah serum dipisahkan dari sel darah	Kadar glukosa sewaktu serum dalam satuan mg/dl	<i>Photometer</i>	ordinal	1. Rendah= <100 mg/dl 2. Normal= 100 mg/dl – 199 mg/dl 3. Tinggi= ≥ 200mg/dl
2	Pemeriksaan tidak langsung (ditunda selama 40, 80, 120, dan 160 menit di suhu ruangan)	Pemeriksaan kadar glukosa sewaktu serum yang dilakukan penundaan selama 40, 80, 120, dan 160 menit di suhu ruangan	Kadar glukosa sewaktu serum dalam satuan mg/dl	<i>Photometer</i>	ordinal	1. Rendah= <100 mg/dl 2. Normal= 100 mg/dl - 199 mg/dl 3. Tinggi= ≥ 200mg/dl

B. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Lokasi Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Klinik Pratama PT. Panasonic Manufacturing Indonesia

2. Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Juli 2024

C. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Para pasien perempuan dan laki-laki yang datang ke laboratorium dan sudah ditetapkan sebagai pasien Diabetes mellitus tipe 2 oleh yang berwenang.

2. Sampel

Dengan t adalah perlakuan yaitu 5 perlakuan (penentuan kadar glukosa sewaktu segera, 40 menit, 80 menit, 120 menit, dan 160 menit), maka akan dihitung r (pengulangan penelitian)

$$(t - 1)(r - 1) \geq 15$$

$$t=5$$

$$(5 - 1)(r - 1) \geq 15$$

$$4(r - 1) \geq 15$$

$$4r - 4 \geq 15$$

$$4r = 19$$

$$r = 5 \text{ pengulangan (dibulatkan) dari } 19/4$$

Sampel pada penelitian ini adalah serum yang didapatkan melalui pengambilan darah vena sebanyak 2,5 cc kemudian di lakukan *sentrifugasi* supaya didapatkan serum yang akan diperiksa.

D. Teknik Pengumpulan Data

1. Membuat surat perizinan untuk pengambilan sampel
2. Melakukan pengambilan sampel darah pada pasien.
3. Melakukan pemeriksaan sampel menggunakan serum yang sudah di *sentrifugasi* untuk mengetahui hasil dari glukosa langsung dan ditunda selama 24 jam.
4. Melakukan pengukuran suhu dan kelembaban udara disetiap ruangan.
5. Melakukan rekapitulasi data yang didapat dan menyajikanya dalam bentuk persentase ataupun gambar.

E. Instrument Penelitian

1. Alat yang digunakan :
 - a) *Spuit 3 cc*
 - b) Kapas alkohol
 - c) Tabung *Clot Activator*
 - d) *Micropore*
 - e) *Tourniquet*
 - f) *Sentrifugasi*
 - g) *Micropipet*
 - h) *Yellow tip*
 - i) Fotometer Selectra Pro S
2. Media dan bahan reagensia yang dibutuhkan :
 - a) Serum yang sudah di*sentrifuge*

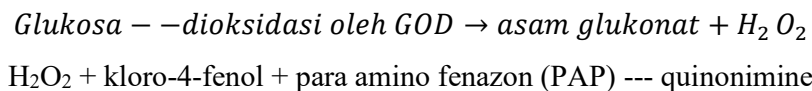
F. Prosedur Penelitian

a. Pembuatan serum

- 1) Alat dan bahan disiapkan oleh petugas laboratorium
- 2) Dilakukan pengambilan darah vena pada pasien.
- 3) Darah yang sudah diambil dimasukkan ke *tabung clot activator* secara perlahan melalui dinding tabung
- 4) Tabung *clot activator* yang sudah berisi sampel darah dimasukkan ke dalam *sentrifuge*
- 5) Sampel darah diputar menggunakan *sentrifuge* dengan kecepatan 4500 rpm selama 5 menit.
- 6) Serum yang sudah di *sentrifuge* diambil menggunakan pipet tetes dan dimasukkan ke dalam *micro* tabung dan diberi nama.

b. Prinsip Pemeriksaan Glukosa

Glukosa dioksidase secara enzimatik menggunakan enzim GOD (Glukosa darah oksidase), sehingga menghasilkan asam glukonat dan H_2O_2 kemudian bereaksi dengan fenol dan 4-aminoantipirin dengan enzim peroksidase (POD) sebagai katalisator membentuk quinonimine. Metode glukosa oksidase (GOD-PAP) merupakan metode pemeriksaan yang spesifik untuk melakukan pengukuran kadar glukosa dalam serum melalui reaksi dengan glukosa oksidase. Kemudian terbentuk intensitas warna merah violet yang diukur dengan fotometer pada Panjang gelombang 546 nm (Faridah, dkk, 2011).



Tabel 3.2. Isi Reagen Glukosa Metoda GOD-PAP

Reagen	Isi	Jumlah
R1	Buffer fosfat	150 mmol/L
	Glucose oxidase	≥ 20.000 IU/L
	Peroksidase	≥ 1000 IU/L
	4 amino antipirin/para amino fenazon (PAP)	0,8 mmol/L
R2	Kloro-4-fenol (kromogen)	2 mmol/L
R3	Standar glukosa	100 mg/dl

Jumlah reagen dan sampel untuk satu kali pengukuran:

Tabel 3.3. Prosedur Pemeriksaan Glukosa Metoda GOD-PAP

Larutan standar atau sampel	10 μ L
Reagen kerja (campuran R1 + R2)	1000 μ L
Campur. Diamkan selama 10 menit pada 37°C atau 20 menit pada suhu ruangan. Baca absorbansi pada kisaran 500 nm (460-560 nm) Pewarnaan stabil selama 15-20 menit pada 37°C, kemudian perlahan-lahan memudar.	

c. Cara kerja

- 1) Alat dinyalakan terlebih dahulu dengan menekan tombol power on/off pada bagian belakang alat Selectra Pro S

- 2) Ditunggu sampai alat dalam posisi stand by
- 3) Dilakukan scan barcode pada reagen sebelum digunakan
- 4) Kemudian pilih menu pada tampilan layar monitor dengan cara klik F8 (*Request Sampel*)
- 5) Setelah itu pilih Routine untuk sampel umum apabila pasien dalam keadaan cito ASAP
- 6) Tunggu beberapa saat dan kemudian masukkan ID/Data Sampel
- 7) Dipilih parameter Glucose
- 8) Klik F9 (*Sampel handling*), kemudian klik ENTER pada SAMPEL untuk mengetahui dimana posisi sampel akan ditaruh pada sampel tray.
- 9) Sampel diletakkan sesuai dengan posisi yang tertera pada monitor
- 10) Kemudian klik F3 (*Start Measurement*) untuk memulai pemeriksaan
- 11) Setelah selesai diklik F7 (*Evaluate Result*) untuk melihat hasil pemeriksaan

G. Teknik Analisis Data

Pada saat penelitian, peneliti memberi penilaian dari hasil penelitian yang didapatkan dengan cara melihat perbedaan hasil pada pemeriksaan gula darah yang langsung dikerjakan dengan ditunda selang waktu 40 menit sampai menit ke-160.

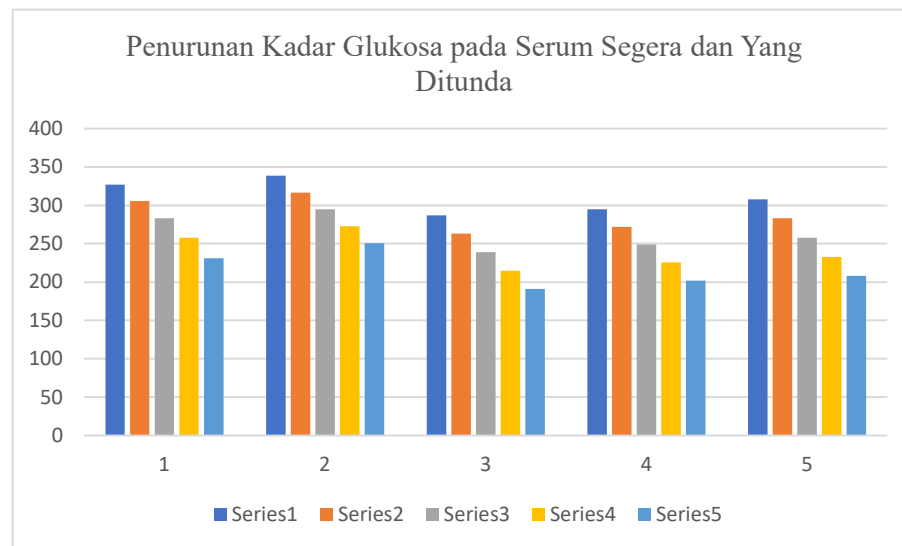
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

Hasil penelitian berupa informasi pasien dan kadar glukosa tiap waktu yang diteliti dituliskan pada table di bawah ini:

Tabel 4.1. Kadar glukosa pasien pada tiap waktu yang diteliti

No	Nama	Jenis Kelamin	Usia	Lama Menderita DM	Obat yang dikonsumsi	Segera	Ditunda 40 menit	Ditunda 80 menit	Ditunda 120 menit	Ditunda 160 menit
			Tahun			mg/dl				
1	T	L	42	Sejak 2016	Metformin	327	306	283	258	231
2	A	L	40	Sejak 2015	Metformin	339	317	295	273	251
3	C	P	52	Sejak 2019	Metformin	287	263	239	215	191
4	L	L	48	Sejak 2018	Metformin	295	272	249	226	202
5	M	P	45	Sejak 2016	Metformin	308	283	258	233	208



Serum segera

Serum ditunda 80 menit

Serum ditunda 40 menit

Serum ditunda 120 menit

Serum ditunda 160 menit

Tabel 4.2. Nilai Rata-Rata dan Prosentase Penurunan Kadar Glukosa Sewaktu

Sampel	Segera	ditunda 40 menit	ditunda 80 menit	ditunda 120 menit	ditunda 160 menit
	mg/dl				
T	327	306	283	258	231
A	339	317	295	273	251
C	287	263	239	215	191
L	295	272	249	226	202
M	308	283	258	233	208
	311,2	288,2	264,8	241	216,6
Prosentase penurunan (%)		7,39	14,91	22,56	30,40

Statistika Deskriptif:

Tabel 4.3 Statistika Deskriptif Untuk Tiap Kelompok Pemeriksaan Glukosa (Lampiran)

Tes Normalitas Tiap Kelompok Data

Tabel 4.4 Uji Normalitas Tiap Kelompok Data Pemeriksaan Glukosa

Uji Normalitas Kelompok Data							
	Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Skor	Segera	.172	5	.200*	.951	5	.742
	Ditunda 40 menit	.190	5	.200*	.939	5	.659
	Ditunda 80 menit	.214	5	.200*	.936	5	.637
	Ditunda 120 menit	.231	5	.200*	.940	5	.665
	Ditunda 160 menit	.239	5	.200*	.942	5	.679

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Uji yang digunakan adalah Uji Shapiro-Wilk karena jumlah data sedikit (kurang dari 30 data)

* nilai Sig. (P value) <0,05 berkesimpulan data tidak terdistribusi secara normal

* nilai Sig. (P value) >0,05 berkesimpulan data terdistribusi secara normal

Tes Homogenitas Varians Tiap Kelompok Data

Tabel 4.5 Uji Homogenitas Tiap Kelompok Data Pemeriksaan Glukosa

Uji Homogenitas Varians Kelompok Data					
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Skor	Based on Mean	.045	4	20	.996
	Based on Median	.006	4	20	1.000
	Based on Median and with adjusted df	.006	4	18.713	1.000
	Based on trimmed mean	.042	4	20	.996

* nilai Sig. (P value) <0,05 berkesimpulan varians tiap kelompok data diasumsikan tidak homogen

* nilai Sig. (P value) >0,05 berkesimpulan varians tiap kelompok data diasumsikan homogen.

Dapat disimpulkan bahwa nilai variansi tiap kelompok data adalah homogen.

Uji ANOVA

Tabel 4.6 Uji ANOVA Untuk Kelompok Pemeriksaan Glukosa

ANOVA					
Skor					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	27946.160	4	6986.540	12.977	.000
Within Groups	10767.600	20	538.380		
Total	38713.760	24			

* nilai Sig. (P value) <0,05 berkesimpulan tiap kelompok data berbeda secara signifikan.

* nilai Sig. (P value) >0,05 berkesimpulan data tidak berbeda secara signifikan.

Dapat disimpulkan: ada data yang berbeda secara signifikan karena nilai signifikan adalah $0,000 < 0,05$

Dapat disimpulkan bahwa ada kelompok data yang berbeda secara signifikan

Tabel 4.7 Uji Berganda Bonferroni Untuk Mencari Kelompok Data Yang Berbeda Signifikan

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Skor

Bonferroni

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Serum Segera	Ditunda 40 menit	23.00000	14.67488	1.000	-23.2758	69.2758
	Ditunda 80 menit	46.40000*	14.67488	.051	.1242	92.6758
	Ditunda 120 menit	70.20000*	14.67488	.001	23.9242	116.4758
	Ditunda 160 menit	94.60000*	14.67488	.000	48.3242	140.8758
Ditunda 40 menit	Serum Segera	-23.00000	14.67488	1.000	-69.2758	23.2758
	Ditunda 80 menit	23.40000	14.67488	1.000	-22.8758	69.6758
	Ditunda 120 menit	47.20000*	14.67488	.043	.9242	93.4758
	Ditunda 160 menit	71.60000*	14.67488	.001	25.3242	117.8758
Ditunda 80 menit	Serum Segera	-46.40000*	14.67488	.051	-92.6758	-.1242
	Ditunda 40 menit	-23.40000	14.67488	1.000	-69.6758	22.8758
	Ditunda 120 menit	23.80000	14.67488	1.000	-22.4758	70.0758
	Ditunda 160 menit	48.20000*	14.67488	.037	1.9242	94.4758
Ditunda 120 Menit	Serum Segera	-70.20000*	14.67488	.001	-116.4758	-23.9242
	Ditunda 40 menit	-47.20000*	14.67488	.043	-93.4758	-.9242
	Ditunda 80 menit	-23.80000	14.67488	1.000	-70.0758	22.4758
	Ditunda 160 menit	24.40000	14.67488	1.000	-21.8758	70.6758
Ditunda 160 Menit	Serum Segera	-94.60000*	14.67488	.000	-140.8758	-48.3242
	Ditunda 40 menit	-71.60000*	14.67488	.001	-117.8758	-25.3242
	Ditunda 80 menit	-48.20000*	14.67488	.037	-94.4758	-1.9242
	Ditunda 120 menit	-24.40000	14.67488	1.000	-70.6758	21.8758

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

* nilai Sig. (P value) <0,05 berkesimpulan ada perbedaan secara signifikan

* nilai Sig. (P value) >0,05 berkesimpulan tidak ada perbedaan secara signifikan

Dapat disimpulkan bahwa:

- a. Kelompok data 'Segera' tidak berbeda secara signifikan dengan kelompok data 'Ditunda 40 menit'
- b. Kelompok Data 'Ditunda 40 menit' tidak berbeda signifikan dengan kelompok data 'Ditunda 80 menit'
- c. Kelompok data 'Ditunda 80 menit' berbeda signifikan dengan kelompok data 'Ditunda 120 menit' dan kelompok data 'Ditunda 160 menit'
- d. Kelompok data 'Ditunda 120 menit' dan kelompok data 'Ditunda 160 menit' tidak berbeda signifikan'

Arti secara klinik: Kadar glukosa sewaktu pada serum bisa bertahan sampai penundaan 80 menit (sebelum 120 menit). Untuk penundaan di atas 120 menit dan 160 menit, penurunan kadar glukosa di dalam serum sudah mengalami penurunan yang signifikan.

B. Pembahasan

Dari hasil pemeriksaan didapatkan bahwa terjadi penurunan kadar glukosa pada semua sampel serum yang diperiksa. Pada menit ke-40 terjadi penurunan kadar glukosa dari nilai glukosa yang diperiksa pada serum segera sebesar 7,39%. Untuk selanjutnya terjadi penurunan kadar glukosa, yaitu pada 80 menit terjadi penurunan sebesar 14,91 % dan untuk menit ke 120 terjadi penurunan sebesar 22,56%, dan menit ke 160 terjadi penurunan 30,40%.

Hasil ini kemudian dianalisis dengan menggunakan Uji ANOVA dan uji lanjut Benferroni, didapatkan bahwa hasil kadar glukosa dari serum segera sampai menit ke 80 tidak berbeda nyata, tetapi mulai dari menit ke 120 dan seterusnya (sampai menit ke 160), hasil kadar glukosa ini berbeda nyata dengan hasil kadar glukosa pada serum segera. Sehingga untuk pemeriksaan glukosa sewaktu pada serum, waktu yang disarankan adalah tidak lebih dari 120 menit jika sampel ditunda pada suhu ruangan. Suhu ruangan di laboratorium saat penelitian berkisar 23-25°C.

Hasil ini sesuai dengan penelitian dari Muksin Ishak (2018) menunjukkan bahwa ada penurunan kadar glukosa pada serum yang disimpan di suhu ruangan. Penundaan pemeriksaan glukosa darah menyebabkan glikolisis 5 - 7 % kadar

glukosa darah sampel per jam. Pemeriksaan glukosa darah yang ditunda dapat disebabkan terhambatnya pengiriman sampel ke laboratorium, keterbatasan tenaga analis, alat dan bahan.(Kasimo, 2020)

Juga sesuai dengan penelitian Santi OD, 2011. Yaitu ada beberapa penelitian dilaporkan menggunakan sampel darah utuh didapatkan glukosa darah menurun pada lama penundaan waktu pemeriksaan 24 jam dan penyimpanan pada suhu $>22^{\circ}\text{C}$.

Penentuan kadar glukosa serum darah secara akurat adalah tujuan utama dalam pengujian laboratorium. Faktor utama yang mempengaruhi kadar glukosa adalah keberadaan sel, terutama eritrosit, yang mengonsumsi glukosa, terutama melalui glikolisis. Faktor ini mempengaruhi kadar glukosa tidak hanya pada darah lengkap yang tidak disentrifugasi segera setelah pengambilan, namun juga pada sampel darah yang disentrifugasi dimana serum tetap bersentuhan dengan lapisan sel dalam tabung penampung. Untuk tujuan ini, tabung khusus telah dirancang untuk memblokir konsumsi glukosa glikolitik. Tabung atas bertutup kuning mengandung gel pemisah serum yang secara fisik menghalangi kontak serum di lapisan atas dengan lapisan sel di bawahnya.

Pemeriksaan gula darah yang dianjurkan adalah metode enzimatik menggunakan bahan plasma darah yang diambil dari vena disekitar lipatan siku. Metode enzimatik bersifat lebih spesifik karena yang diukur hanya glukosa, teknik dan metode pengambilan serum darah sangat berperan dalam tingkat ketelitian nilai glukosa darah penderita DM. Beberapa teknik mendapatkan serum yaitu dengan metode pengendapan dan metode pemusingan (sentrifuge). Pengumpulan darah dalam tabung bekuan untuk analisis kimiawi serum memungkinkan terjadinya metabolisme glukosa dalam sampel oleh sel-sel darah sampai terjadinya proses pemisahan melalui pemusingan. Hitung sel darah yang sangat tinggi dapat menyebabkan glikolisis berlebihan dalam sampel sehingga terjadi penurunan kadar glukosa yang bermakna. Penurunan ini tidak bermakna untuk laboratorium yang melakukan pemrosesan darah segera setelah diterima. Namun, apabila sampel darah dikirim ke laboratorium rujukan yang terletak jauh, dapat terjadierjadi penurunan glukosa yang substansial akibat glikolisis oleh sel- sel darah (Hilda, 2011).