

**PERBEDAAN KADAR HbA1c DARAH EDTA LANGSUNG
DIPERIKSA DENGAN DISIMPAN SELAMA 2 DAN
10 HARI SUHU 2-8°C MENGGUNAKAN
METODE SEMI OTOMATIS**

TUGAS AKHIR

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan
Pendidikan Diploma IV Kesehatan
Bidang Analis Kesehatan**



Disusun Oleh :

**Puguh Adiwibowo
G1C220101**

**PROGRAM STUDI D IV ANALIS KESEHATAN
FAKULTAS ILMU KEPERAWATAN DAN KESEHATAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SEMARANG
2022**

HALAMAN PERSETUJUAN

Tugas Akhir dengan judul

**PERBEDAAN KADAR HbA1c DARAH EDTA LANGSUNG DIPERIKSA
DENGAN DISIMPAN SELAMA 2 DAN 10 HARI SUHU 2-8°C
MENGUNAKAN METODE SEMI OTOMATIS**

**Puguh Adiwibowo
G1C220101**

Telah disetujui oleh :

Pembimbing I

Herlisa Anggraini, SKM, M.Si, Med
NIK 28.6.1026.014
Tanggal : 14 Juli 2022

Pembimbing II

Tulus Ariyadi, SKM, M.Si
NIK. 28.6.1026.030
Tanggal: 14 Juli 2022

Mengetahui

Ketua Program Studi D IV Analis Kesehatan
Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan






Fandri Adi Wardoyo, M.Sc
NIK 28.6.1026.277

HALAMAN PENGESAHAN

Tugas Akhir ini telah diajukan pada sidang Ujian Jenjang Pendidikan Tinggi
Diploma IV Kesehatan Bidang Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan
dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang.

Tanggal Sidang, Februari 2022

Susunan Tim Penguji

No.	Nama	Nara Sumber	Tanda Tangan	Tanggal Tanda Tangan
1.	Fitri Nuroini, M.Sc NIK 28.6.1026.312	Penguji I		14/2022 07
2.	Herlisa Anggraini, SKM, M.Si, Med NIK 28.6.1026.014	Penguji II		14/2022 07
3.	Tulus Ariyadi, SKM, M.Si NIK. 28.6.1026.030	Penguji III		14/2022 07

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini menyatakan dengan sungguh-sungguh bahwa Tugas Akhir ini adalah karya sendiri, disusun tanpa tindakan plagiarisme sesuai dengan peraturan yang berlaku di Universitas Muhammadiyah Semarang.

Nama : Puguh Adiwibowo
NIM : G1C220110
Fakultas : Ilmu Keperawatan dan Kesehatan
Program Studi : D IV Analis Kesehatan
Judul : Perbedaan Kadar Hb_{1c} Darah EDTA Langsung Diperiksa dengan Disimpan 2 dan 10 hari Suhu 2-8°C Menggunakan Metode Semi Otomatis

Jika dikemudian hari ternyata saya melakukan tindakan plagiarisme, saya akan bertanggungjawab dan menerima sanksi yang dijatuhkan Universitas Muhammadiyah Semarang kepada saya.

Semarang, Februari 2022



(Puguh Adiwibowo)

**PERBEDAAN KADAR HbA1c DARAH EDTA LANGSUNG DIPERIKSA
DENGAN DISIMPAN 2 DAN 10 HARI SUHU 2-8°C
MENGUNAKAN METODE SEMI OTOMATIS**

Puguh Adiwibowo¹, Herlisa Anggraini², Tulus Ariyadi²

^{1,2,3} Program Studi D IV Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang.

Pemeriksaan HbA1c menggunakan darah EDTA sebaiknya dilakukan selambatnya 2 jam setelah pengambilan. Darah EDTA yang tidak segera diperiksa dapat disimpan dalam lemari pendingin suhu 2-8°C selama 10 hari sebelum dilakukan pemeriksaan. Masa penyimpanan darah akan menyebabkan perubahan komponen darah terutama eritrosit akan berubah bentuk cukup bermakna seiring lamanya waktu penyimpanan darah. Penyimpanan darah EDTA untuk pemeriksaan kadar HbA1c dalam lemari pendingin suhu 2-8°C selama 2 hari karena pemeriksaan tidak selalu dilakukan setiap hari. Penelitian dilakukan dengan tujuan mengetahui perbedaan kadar HbA1c langsung diperiksa dengan disimpan dan 10 hari suhu 2-8°C. Jenis penelitian analitik pendekatan *cross sectional*. Populasi penelitian semua pasien DM tipe 2 yang diperiksa di RSD K.R.M.T Wongsonegoro pada bulan Januari 2021. Sampel penelitian sebanyak 9 sampel yang memenuhi kriteria inklusi. Kadar HbA1c darah EDTA langsung diperiksa antara 5,10-12,80%, disimpan 2 hari suhu 2-8°C antara 6,20-11,20%, rerata 7,72%, dan disimpan 10 hari suhu 2-8°C antara 6,4-11,2%, rerata 7,90%. Hasil uji statistik disimpulkan tidak ada perbedaan kadar HbA1c darah EDTA langsung diperiksa dengan disimpan 2 dan 10 hari suhu 2-8°C menggunakan metode semi otomatis ($p=0,262$).

Kata kunci : HbA1c, langsung, disimpan

***THE DIFFERENCE IN HbA1c LEVEL OF EDTA BLOOD WHICH
DIRECTLY EXAMINED BY STORED FOR 2 AND 10 DAYS AT
2-8°C TEMPERATURE USING THE SEMI AUTOMATIC METHOD***

Puguh Adiwibowo¹, Herlisa Anggraini², Tulus Ariyadi²

^{1,2} Study Program of D IV Health Analyst, Faculty of Nursing and Health, University of Muhammadiyah Semarang.

HbA1c examination using EDTA blood should be performed no later than 2 hours after collection. EDTA blood which is not tested immediately could be stored in a refrigerator at 2-8°C temperature for 10 days prior to examination. The storage period of blood will cause changes in blood components, especially erythrocytes which will change shape quite significantly with the length of time the blood is stored. The storage of EDTA blood for examination of HbA1c levels in a refrigerator at 2-8°C temperature for 2 days, because the examination is not always carried out every day. The research was conducted with the aim to know the difference in HbA1c levels which directly examined by stored and 10 days at 2-8°C temperature. The research type was analytic with cross sectional approach. The research population was all patients with DM type 2 who were examined at RSD K.R.M.T Wongsonegoro in January 2021. The research sample consisted of 9 samples which met the inclusion criteria. The HbA1c level of EDTA blood were directly examined between 5,10-12,80%, stored for 2 days at a temperature of 2-8°C between 6.20-11.20%, an average of 7.72%, and stored for 10 days at a temperature of 2-8° C between 6,4-11,2%, average 7,90%. The result of statistical test concluded that there was no difference in HbA1c level of EDTA blood which directly examined by stored for 2 and 10 days 2-8°C temperature using the semi automatic method ($p=0,262$).

KATA PENGANTAR

Segala puji syukur kepada Allah SWT, karena atas rahmatNya tugas akhir berjudul "Perbedaan Kadar Hb_{1c} Darah EDTA Langsung Diperiksa dengan Disimpan 2 dan 10 hari Suhu 2-8°C Menggunakan Metode Semi Otomatis" telah terselesaikan. Tugas akhir merupakan syarat untuk menyelesaikan Program D IV Bidang Analis Kesehatan di Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang. Terimakasih kepada semua pihak yang telah berperan dalam pembuatan tugas akhir, khususnya :

1. Herlisa Anggraini, SKM,M.Si.Med selaku Pembimbing I yang telah memberikan bimbingan dalam penulisan.
2. Tulus Ariyadi, SKM,M.Si selaku Pembimbing II yang telah meluangkan waktu, tenaga, pikiran untuk membimbing dalam penulisan.
3. Keluargaku tercinta atas dukungan moril maupun materiil.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam penulisan proposal tugas akhir ini, oleh karenanya kritik dan saran sangat penulis harapkan. Harapan penulis, tugas akhir ini dapat bermanfaat bagi pembaca.

Semarang, Agustus 2022

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.5 Keaslian Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 HbA1c	6
2.2 Metode Pengukuran Kadar HbA1c	9
2.3 Spesimen Pemeriksaan HbA1c	11
2.4 Faktor-faktor yang Berpengaruh Terhadap Kadar HbA1c	14
2.5 Kerangka Teori	16
2.6 Kerangka Konsep	17
2.7 Hipotesis	17
BAB III METODE PENELITIAN	
3.1 Jenis Penelitian.....	18
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	18
3.3 Variabel Penelitian	18
3.4 Definisi Operasional.....	18
3.5 Populasi dan Sampel	19
3.6 Alat dan Bahan.....	20
3.7 Prosedur Penelitian	20
3.8 Alur Penelitian	22
3.9 Teknik Pengumpulan Data dan Analisis Data	21

BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Hasil Penelitian	24
4.2 Pembahasan	28
BAB V. SIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Simpulan	31
5.2 Saran	31
DAFTAR PUSTAKA	32
LAMPIRAN	34

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Keaslian Penelitian	5
2. Definisi Operasional	18
3. Karakteristik Sampel Penelitian	24
4. Deskripsi Hasil Penelitian Kadar HbA1c	26
5. Hasil Uji Statistik	27

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Skema Kerangka Teori	16
2. Skema Kerangka Konsep	17
3. Skema Alur Penelitian	22
4. Grafik Kadar HbA1c Langsung Diperiksa, Disimpan 2 dan 10 hari Suhu 2-8°C	25

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Data Hasil Penelitian Kadar HbA1c	34
2. Hasil Uji Statistik	35

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pemeriksaan kadar HbA1c merupakan salah satu pemeriksaan untuk pemantauan diabetes mellitus (DM). Pemeriksaan HbA1c menjadi sangat penting karena dapat mengetahui rata-rata kadar glukosa darah dalam waktu 1-3 bulan sebelumnya, sekaligus untuk menilai efektivitas pengobatan setelah 2-3 bulan (Kemenkes, 2019).

HbA1c atau Hemoglobin A1c disebut glikohemoglobin (GHb) merupakan zat yang terbentuk dari reaksi antara glukosa dan hemoglobin melalui reaksi non-enzimatik. Reaksi terjadi antara glukosa dengan *N-terminal valine* pada rantai beta hemoglobin A (Anselmus, 2019). Proses non enzimatis yang lambat antara hemoglobin A dan berbagai jenis gula di dalam setiap eritrosit terjadi secara terus-menerus menghasilkan hemoglobin terglukasi, atau glikohemoglobin. Analisis HbA1c dapat diketahui hasilnya dalam waktu 3,5 menit (Abbott, 2019).

Bahan pemeriksaan HbA1c adalah *whole blood* atau darah lengkap yang berasal dari darah kapiler dan darah vena dengan antikoagulan (sitrat, EDTA, heparin atau oksalat). *Whole blood* merupakan komponen darah seutuhnya yang mengandung komponen seluler maupun non seluler yang telah dicampur dengan antikoagulan. *Whole blood* yang disimpan dalam almari pendingin 2-8°C masih mempunyai fungsi oksigenasi jaringan sampai masa simpan 3-5 minggu tergantung antikoagulan yang digunakan (Freise *et al.*, 2015).

Antikoagulan *Ethylene Diamine Tetra Acetate* (EDTA) merupakan antikoagulan yang sering digunakan di laboratorium klinik untuk proses pencegahan pembekuan sampel darah. Darah yang diperoleh dari pembuluh darah vena ditambah dengan antikoagulan EDTA dapat disimpan dalam lemari pendingin (suhu 2-8°C) atau pada suhu ruang (18-30°C). Batas penyimpanan 2°C disebabkan eritrosit sangat sensitif terhadap pembekuan. Eritrosit yang membeku menyebabkan sifat dinding sel darah akan pecah dan hemoglobin akan keluar atau hemolisis (Serti, 2018). Penyimpanan terlalu dingin atau *freezing* hingga mencapai -3°C menyebabkan eritrosit akan membeku dan proses penghangatan kembali akan terjadi hemolisis (Cora *et al.*, 2012). Darah EDTA untuk pemeriksaan HbA1c, menurut *insert kit* reagen sebaiknya dilakukan selambatnya 2 jam setelah pengambilan, namun secara umum darah EDTA dapat stabil sampai 10 hari pada suhu 2-8°C (Abbott, 2019).

Metode pemeriksaan kadar HbA1c yang saat ini banyak digunakan adalah metode semi otomatis afinitas boronat. Metode afinitas boronat merupakan uji diagnostik *in vitro* untuk penentuan kuantitatif hemoglobin terglukasi (hemoglobin A1c, HbA1c) dalam darah lengkap. Menurut penelitian Tuti Asryani (2018), metode afinitas boronat merupakan metode yang baik karena hasil uji perbedaan dengan metode ion *exchange*-HPLC menunjukkan perbedaan tidak bermakna. Salah satu alat pemeriksaan metode afinitas boronat adalah Epithod 616 memiliki kelebihan efisiensi waktu pemeriksaan, yaitu kurang dari 3 menit. Nilai rujukan kadar HbA1c menggunakan Epithod 616 antara 3-15%.

Penelitian mengenai penundaan pemeriksaan HbA1c telah dilaporkan Prihandono (2019). Penelitian dilakukan pada darah EDTA tanpa penyimpanan, penyimpanan suhu 2-8°C selama 5 jam dan 10 jam menyebabkan kadar HbA1c mengalami kenaikan namun kenaikan tidak signifikan 0,929 ($p>0,05$). Meski terdapat kenaikan kadar HbA1c disimpulkan tidak ada pengaruh lama penyimpanan 5 jam dan 10 jam pada suhu 2-8°C terhadap kadar HbA1c.

Pemeriksaan kadar HbA1C di laboratorium RSD K.R.M.T Wongsonegoro Semarang tidak setiap hari dilakukan. Pemeriksaan dilakukan hanya dilakukan pada hari-hari tertentu, sehingga darah EDTA yang sudah diambil disimpan dalam lemari pendingin. Waktu penyimpanan darah EDTA sampai dengan dilakukan pemeriksaan diperkirakan paling lama dua hari. *Insert kit* reagen menyebutkan bahwa pemeriksaan kadar HbA1c dapat dilakukan pada darah EDTA yang disimpan dalam lemari pendingin (suhu 2-8°C) selama 10 hari.

Penelitian mengenai kadar HbA1c pada darah EDTA selama 2 hari dan 10 hari seperti tertera pada *insert kit* belum dilaporkan. Penulis memandang perlu dilakukan penelitian kadar HbA1c pada darah EDTA disimpan 2 hari dan 10 hari suhu 2-8°C menggunakan metode semi otomatis dengan *gold standar* darah EDTA langsung diperiksa.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian pada latar belakang maka dapat dirumuskan permasalahan adalah sebagai berikut : Bagaimanakah perbedaan kadar HbA1c darah EDTA langsung diperiksa dengan disimpan 2 dan 10 hari suhu 2-8°C menggunakan metode semi otomatis ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian bertujuan mengetahui perbedaan kadar HbA1c darah EDTA langsung diperiksa dengan disimpan 2 dan 10 hari suhu 2-8°C menggunakan metode semi otomatis.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengukur kadar HbA1c darah EDTA langsung diperiksa menggunakan metode semi otomatis.
2. Mengukur kadar HbA1c darah EDTA disimpan 2 hari suhu 2-8°C menggunakan metode semi otomatis.
3. Mengukur kadar HbA1c darah EDTA disimpan 10 hari suhu 2-8°C menggunakan metode semi otomatis.
4. Menganalisis perbedaan kadar HbA1c darah EDTA langsung diperiksa dengan disimpan 2 hari dan 10 hari suhu 2-8°C menggunakan metode semi otomatis.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi Peneliti

Menambah wawasan, pengetahuan dan ketrampilan dalam melakukan pemeriksaan kadar HbA1c.

1.4.2 Bagi ATLM

Penelitian diharapkan dapat menjadi informasi mengenai perbedaan kadar HbA1c menggunakan darah EDTA.

1.4.3 Bagi Institusi Pendidikan

Menambah perbendaharaan skripsi di perpustakaan Fakultas Ilmu Kesehatan dan Keperawatan Universitas Muhammadiyah Semarang.

1.5 Keaslian Penelitian

Penelitian ini bukan yang pertama namun ditemukan beberapa penelitian yang hampir sama, tercantum pada tabel 1.

Tabel 1. Keaslian Penelitian

Penelitian	Judul	Hasil Penelitian
Tuti Asryani, 2018	Perbandingan Kadar Hemoglobin Terglikasi Metode <i>Boronate Affinity</i> dengan Ion <i>Exchange High Performance Liquid Chromatography</i> Pada Diabetes Melitus Tipe 2	Rerata kadar HbA1c metode <i>boronate affinity</i> POCT 8,0% (1,7) dan metode ion <i>exchange</i> -HPLC 8,3% (1,8). Uji t menunjukkan perbedaan tidak bermakna antara kadar HbA1c metode <i>boronate affinity</i> POCT dengan metode ion <i>exchange</i> -HPLC ($p > 0,05$).
Prihandono, DS. 2019	Pengaruh Lama Penyimpanan 5 Jam dan 10 Jam pada Suhu 2-8°C Terhadap Kadar <i>Glycated Hemoglobin</i> (HbA1c)	Nilai HbA1c tanpa penyimpanan, penyimpanan suhu 2-8°C selama 5 jam dan 10 jam secara berturut-turut 6,76%, 6,87%, dan 6,88%. Uji Kruskal Wallis menunjukkan nilai signifikan 0,929, disimpulkan tidak ada pengaruh lama penyimpanan 5 jam dan 10 jam pada suhu 2-8°C terhadap kadar HbA1c.

Penelitian yang dilakukan bersifat orisinal. Perbedaan dengan penelitian sebelumnya adalah variabel dan metode penelitian. Variabel dalam penelitian Tuti (2018) adalah kadar HbA1c metode POCT, dan kadar HbA1c metode HPLC. Variabel dalam penelitian Prihandono adalah kadar HbA1c langsung diperiksa, penyimpanan 5 jam dan 10 jam. Variabel dalam penelitian adalah kadar HbA1c langsung diperiksa, dan kadar HbA1c disimpan 10 hari suhu 2-8°C.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 HbA1c

HbA_{1c} disebut hemoglobin terglikasi atau glikohemoglobin atau hemoglobin terglukosilasi (GHb) merupakan glukosa yang berkombinasi dengan protein hemoglobin dalam darah. HbA_{1c} adalah zat yang terbentuk dari reaksi antara glukosa dengan hemoglobin, melalui reaksi non-enzimatik antara glukosa dengan *N-terminal valine* pada rantai beta hemoglobin A (Anselmus, 2019). Hemoglobin merupakan bagian dari sel darah merah yang bertugas mengangkut oksigen ke seluruh bagian tubuh (Perkeni, 2015).

HbA_{1c} merupakan istilah secara internasional untuk *glycosylated hemoglobin/glycated hemoglobinum* yang direkomendasikan oleh *American Diabetes Association (ADA)*. HbA_{1c} (*Hemoglobin Adulf 1c*) merupakan derivat *adulf hemoglobin* (HbA), dengan penambahan monosakarida (fruktosa atau glukosa) merupakan subtipe utama dan fraksi terpenting yaitu sekitar 4-5% dari total hemoglobin. Hemoglobin glikosilat atau HbA₁ terdiri dari tiga fraksi yaitu HbA_{1a}, HbA_{1b} dan HbA_{1c}. HbA_{1c} merupakan ikatan antara glukosa dengan hemoglobin total. Fraksi-fraksi lain merupakan ikatan antara hemoglobin dengan heksosa yang lain. HbA_{1c} yang terbentuk dalam tubuh akan disimpan dalam sel darah merah dan akan terurai secara bertahap bersama berakhirnya masa hidup sel darah merah 120 hari (Suryaatmadja, 2013).

2.1.1 Struktur HbA1c

Struktur molekuler HbA1c adalah *N-(1-deoxy)-fructosyl-hemoglobin* atau *N-(1-deoxyfructose-1-yl) hemoglobin beta chain*. Hemoglobin A1c adalah glukosa stabil yang terikat pada gugus N-terminal pada rantai HbA0, membentuk suatu modifikasi post translasi sehingga glukosa bersatu dengan kelompok amino bebas pada residu valin N-terminal rantai β hemoglobin. *Schiff base* yang dihasilkan bersifat tidak stabil, kemudian melalui suatu penyusunan ulang yang ireversibel membentuk suatu ketoamin yang stabil. Glikasi dapat terjadi pada residu lisin tertentu dari hemoglobin rantai α dan β , glikohemoglobin total atau total hemoglobin terglykasi yang dapat diukur, dikenal dengan HbA1c. Glikasi hemoglobin tidak dikatalisis oleh enzim, tetapi melalui reaksi kimia akibat paparan glukosa yang beredar dalam darah pada sel eritrosit. Laju sintesis HbA1c merupakan fungsi konsentrasi glukosa yang terikat pada eritrosit selama pemaparan. Konsentrasi HbA1c tergantung pada konsentrasi glukosa darah dan usia eritrosit (Sri Rahayu P, 2014).

2.1.2 Pembentukan HbA1c

Hemoglobin A (HbA) terdiri atas 91-95% dari jumlah hemoglobin total. Molekul glukosa berikatan dengan HbA₁, yang merupakan bagian dari hemoglobin A. Proses pengikatan ini disebut glikosilasi atau hemoglobin terglykosilasi atau hemoglobin A₁, dalam proses ini terdapat ikatan antara glukosa dan hemoglobin. Pembentukan Hb A₁ terjadi dengan lambat, yaitu selama 120 hari yang merupakan rentang hidup sel darah merah. Hb A₁ terdiri atas tiga molekul hemoglobin, Hb A_{1a}, Hb A_{1b}, Hb A_{1c}, sebesar 70% Hb A_{1c} dalam

bentuk terlikosilasi (mengabsorpsi glukosa). Jumlah hemoglobin yang terlikosilasi bergantung pada jumlah glukosa darah yang tersedia. Terbentuknya glikohemoglobin apabila terjadi peningkatan kadar glukosa darah dalam waktu lama, sel darah merah akan mengalami saturasi dengan glukosa (Kee, 2014).

HbA1c terbentuk melalui dua fase. Fase pertama reaksi antara gugus aldehid bebas dari glukosa atau gula lainnya dengan gugus amino bebas (*N-terminal valine*) pada rantai β hemoglobin, yang membentuk basa *Schiff*, ikatan bersifat reversibel. Fase kedua adalah perubahan HbA1c labil (melalui perubahan non-enzimatik Amadori) menjadi HbA1c stabil. Proses glikasi berpengaruh terhadap struktur molekul hemoglobin dan menurunkan muatan positifnya. HbA1c tidak seperti fraksi hemoglobin terlikasi lainnya, HbA1c dapat dengan mudah dipisahkan berdasarkan pada prinsip perubahan muatan pada IE-HPLC. HbA1c merupakan 60-80% dari total hemoglobin terlikasi (Papatungan, 2015).

2.1.3 Manfaat Pemeriksaan HbA1c

Pemeriksaan HbA1c merupakan salah satu pemeriksaan untuk monitoring diabetes mellitus. HbA1c memberikan gambaran status glikemik jangka panjang, mencerminkan kadar glukosa darah rata-rata 8-12 minggu sebelumnya sesuai dengan rata-rata umur eritrosit 120 hari. Pemeriksaan HbA1c tidak dipengaruhi oleh penggunaan insulin, dan jenis kelamin (Suryaatmadja, 2013).

Pengukuran HbA1c secara teratur bermanfaat untuk mengetahui perkembangan kontrol penyakit DM (Amriyani, 2018). Pengukuran juga berguna untuk menilai pengendalian DM dengan tujuan mencegah komplikasi dan menilai efektifitas perubahan terapi setelah 2-3 bulan (Miharja, 2009).

2.1.4 Faktor Berpengaruh Terhadap Kadar HbA1c

HbA_{1c} pada beberapa keadaan tidak dapat mencerminkan kontrol glukosa darah. Hal ini penting diketahui karena dapat menyebabkan *under* atau *over treatment* yang dapat meningkatkan kadar HbA_{1c} dari nilai sebenarnya yaitu anemia defisiensi besi, usia, polisitemia rubra/vera, kadar ureum darah yang tinggi, hipertrigliseridemia berat. Faktor yang dapat menurunkan kadar HbA_{1c} dari nilai sebenarnya adalah setelah transfusi darah, kehilangan darah, penyakit ginjal, hemolisis, thalassemia (Papatungan, 2014).

2.2 Metode Pengukuran Kadar HbA1c

Pengukuran HbA_{1c} dapat dilakukan dengan beberapa metode, yaitu metode HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*), enzimatik, *immunoassay*, dan metode semi otomatis *boronate affinity chromatography*. Metode HPLC memisahkan Hb berdasarkan perbedaan muatan antara molekul hemoglobin. Metode HPLC mengukur total hemoglobin yang terglifikasi termasuk HbA_{1c}, dan tidak dipengaruhi oleh adanya hemoglobin varian. Metode enzimatik mengukur HbA_{1c} menggunakan enzim yang memecah *N-terminal valine* secara spesifik, dan tidak dipengaruhi oleh adanya hemoglobin varian. Metode *immunoassay*, HbA_{1c} dalam darah akan bereaksi dengan antibodi anti HbA_{1c} membentuk kompleks antigen antibodi. Antibodi akan mengenali struktur *N-terminal* dari asam amino terglifikasi dari rantai β hemoglobin. Namun metode *immunoassay* dipengaruhi oleh keberadaan hemoglobin varian (Sartika, 2019).

2.2.1 Metode Semi Otomatis

Metode semi otomatis untuk pemeriksaan kadar HbA1c yaitu *boronate affinity*, *m-aminophenylboranic acid* bereaksi secara spesifik dengan kelompok *cis-diol* glukosa yang terikat Hb. Metode *boronate affinity* atau afinitas boronat merupakan metode glikasi spesifik didasarkan pada pengikatan boronat yang dibentuk oleh glukosa secara stabil pada Hb. Metode afinitas boronat mengukur keempat spesies secara stabil yang disebut sebagai Total HbA1c atau *True HbA1c*. Fraksi yang ada yaitu fraksi glikasi dan *non-gklikasi* dibandingkan secara total dan hasilnya dinyatakan sebagai % HbA1c (Gupta *et al.*, 2017).

Metode afinitas boronat merupakan uji diagnostik *in vitro* untuk penentuan kuantitatif hemoglobin terglykasi (hemoglobin A1c, HbA1c) dalam darah lengkap manusia. Menurut Sacks DB (2002) eritrosit dapat ditembus secara bebas oleh glukosa. Proses non enzimatis di dalam setiap eritrosit yang lambat antara hemoglobin A dan berbagai jenis gula terjadi secara terus-menerus. Produk yang terbentuk dikenal sebagai hemoglobin terglykasi, atau glikohemoglobin. Peningkatan kadar glukosa darah kronis pada penderita DM akan menyebabkan kerusakan pada pembuluh kecil dalam tubuh seiring dengan berjalannya waktu. Kerusakan ini berkembang secara perlahan selama bertahun-tahun dan diketahui dapat menyebabkan penundaan komplikasi. Kontrol metabolik yang baik, yaitu menurunkan tingkat konsentrasi HbA1c, telah terbukti bisa menunda dan memperlambat perkembangan komplikasi diabetes akhir.

Epitod ®616 merupakan salah satu alat pemeriksaan HbA1c metode semi otomatis. Epithod®616 secara kuantitatif mengukur kadar HbA1c yang mudah

digunakan. Hasil pembacaan HbA1c pada Epitod ®616 dapat diketahui maksimal 3 menit. Kadar HbA1C dapat dibaca antara 3-15% *Cartridge* uji HbA1c mengandung semua reagen untuk menentukan konsentrasi HbA1c. Bahan sampel dikumpulkan menggunakan perangkat pengambilan sampel yang terintegrasi dan cartridge uji ditempatkan dalam penganalisis Epitod. Sampel darah diencerkan dan dicampur secara otomatis dengan cairan yang melepaskan hemoglobin dari eritrosit. Hemoglobin mengendap, kemudian campuran sampel dipindahkan ke konjugat asam boronat biru, yang mengikat *cis-diol* hemoglobin terglykasi. Campuran reaksi ini direndam melalui suatu membran filter dan semua hemoglobin yang diendapkan, konjugat yang terikat dan tidak terikat (yaitu hemoglobin terglykasi dan tidak terglykasi) akan tertahan pada membran. Setiap kelebihan konjugat dihilangkan dengan reagen pembersih (DxGen, 2020).

2.3 Spesimen Pemeriksaan HbA1c

Spesimen pemeriksaan HbA1c adalah darah lengkap atau *whole blood* yang berasal dari darah kapiler atau vena dengan penambahan antikoagulan. *Whole blood* merupakan komponen darah utuh yang mengandung komponen seluler maupun non seluler yang telah dicampur dengan antikoagulan. Antikoagulan yang digunakan adalah *Ethylene Diamine Tetra Acetate* (EDTA) menggunakan garam-garam EDTA yang mengubah ion kalsium dari darah menjadi bentuk bukan ion. Tiap 1 miligram EDTA menghindarkan membekunya 1 mililiter darah (Gandasoebrata, 2013).

2.3.1 Darah vena

Pembuluh darah vena adalah pembuluh darah yang membawa darah rendah oksigen (teroksigenasi atau miskin oksigen) kecuali untuk vena paru, yang membawa darah beroksigen dari paru-paru kembali ke jantung. Katup pada vena terdapat di sepanjang pembuluh darah. Katup tersebut berfungsi untuk mencegah darah tidak kembali lagi ke sel atau jaringan. Pembuluh darah vena adalah pembuluh berdinding tiga lapis seperti arteri, tetapi lapisan tengah berotot lebih tipis, kurang kuat, lebih mudah kempes dan kurang elastis dibandingkan dengan arteri (Syarifuddin, 2009).

Pengambilan darah vena orang dewasa dilakukan pada *vena difossa cubiti*, dilakukan dengan hati-hati dan seksama karena bahaya yang terjadi lebih besar daripada pengambilan darah kapiler. Daerah vena yang akan ditusuk harus diperiksa dengan seksama antara lain letak dan ukuran vena (Riswanto, 2013).

2.3.2 Antikoagulan EDTA

Antikoagulan EDTA merupakan suatu bahan kimia yang ditambahkan ke dalam sampel darah yang mempunyai efek untuk mencegah sampel darah membeku. Pada proses pembekuan darah diperlukan ion kalsium untuk dapat mengaktivasi kerja *prothrombin* membentuk *thrombin*. Selanjutnya peranan ion kalsium diperlukan kembali pada proses aktivasi fibrin lunak menjadi fibrin dengan gumpalan keras. Proses ini tidak memerlukan waktu yang begitu lama, jika semua faktor pembekuan dalam keadaan normal maka proses akhir pembekuan dapat terjadi dalam waktu 5-15 menit. Mekanisme kerja EDTA adalah dengan mengkhelat atau mengikat ion kalsium dari darah dalam bentuk tidak

terionisasi sehingga tidak dapat berperan aktif dalam proses aktivasi lebih lanjut yang kemudian mencegah proses pembekuan darah (Desnanto, 2012).

Tabung vakum yang sudah berisi antikoagulan EDTA dalam bentuk K_2EDTA dan K_3EDTA . K_3EDTA berupa garam yang mempunyai stabilitas yang lebih baik dari garam EDTA yang lain karena menunjukkan pH yang mendekati pH darah yaitu sekitar 6,4. Tabung EDTA merupakan tabung yang direkomendasikan oleh *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS) karena mempunyai ketepatan kadar antikoagulan dibandingkan dengan EDTA konvensional dalam bentuk Na_2EDTA (Wahdaniah, 2018)

2.3.3 Penyimpanan Darah EDTA

Pemeriksaan HbA1c menggunakan darah EDTA sebaiknya dilakukan selambatnya 2 jam setelah pengambilan. Tabung darah yang digunakan harus berisi antikoagulan EDTA sebagaimana manufaktur dari metode pemeriksaan HbA1c. Kestabilan sampel tergantung dari metode yang dipakai. Secara umum, *whole blood* dapat stabil sampai 10 hari pada suhu 2-8°C (Abbott, 2019).

Penyimpanan sangat penting diperhatikan, karena kemungkinan lokasi pengambilan sampel dan tempat analisis sampel bukan berada pada satu daerah, sehingga cara penyimpanan dan transportasinya akan mempengaruhi kondisi sampel. Salah satu cara untuk penyimpanan sampel adalah dengan pendinginan (WHO, 2011). Suhu merupakan salah satu faktor penting yang harus diperhatikan pada proses penyimpanan sampel yang akan dianalisis. Perubahan suhu juga dapat mempengaruhi kondisi sampel dan dapat mengakibatkan kesalahan dalam interpretasi hasil pemeriksaan (Prihandono, 2019).

Darah EDTA yang tidak segera diperiksa, dapat disimpan selama 10 hari pada suhu 2-8°C sebelum dilakukan pemeriksaan HbA1c (Ekanem, 2012). Darah EDTA yang disimpan dalam lemari pendingin 2-8°C memiliki fungsi oksigenasi jaringan sampai masa simpan 3-5 minggu (Freise *et al.*, 2015). Penyimpanan darah EDTA pada suhu 2-8°C bertujuan menjaga kemampuan darah dalam menyalurkan oksigen dan mengurangi pertumbuhan bakteri yang dapat menyebabkan kontaminasi darah simpan. Batas penyimpanan 2°C disebabkan eritrosit sangat sensitif terhadap pembekuan, eritrosit yang membeku menyebabkan sifat dinding sel darah akan pecah dan hemoglobin akan keluar atau hemolisis (Serti, 2018). Penyimpanan atau pengolahan yang tidak tepat akan menyebabkan sampel darah rusak. Penyimpanan terlalu dingin atau *freezing* hingga -3°C menyebabkan eritrosit akan membeku dan proses penghangatan kembali akan terjadi hemolisis (Cora *et al.*, 2012).

2.4 Faktor-faktor yang Berpengaruh Terhadap Pengukuran HbA1c

Pengukuran HbA1c dipengaruhi oleh faktor-faktor dalam setiap tahapan pemeriksaan, yaitu tahap pra analitik, analitik, dan paska analitik. Tahap pra analitik merupakan tahap persiapan awal sebelum dilakukan pemeriksaan spesimen laboratorium. Tahap pra analitik sangat menentukan kualitas sampel yang nantinya akan dihasilkan dan mempengaruhi proses kerja berikutnya. Proses pra analitik memberikan kontribusi sekitar 61% dari seluruh kesalahan laboratorium. Tahap analitik memberikan kontribusi kesalahan 25%, dan tahap paska analitik dengan kesalahan 14% (Tuntun, 2018).

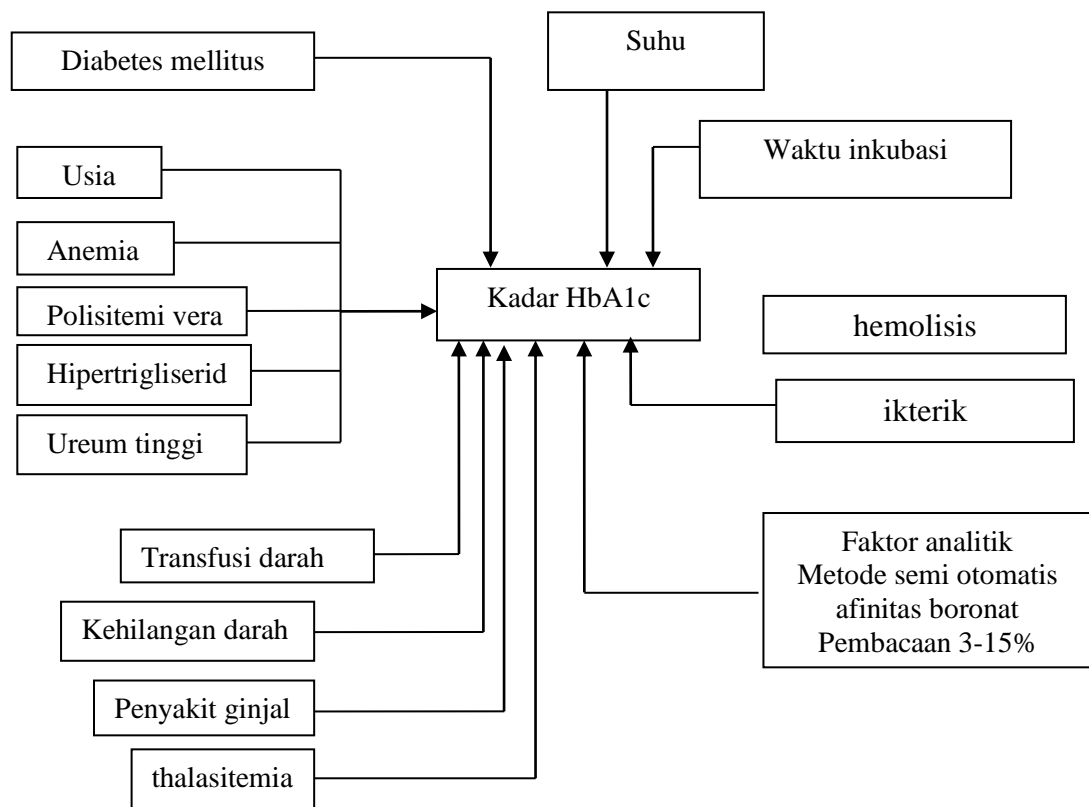
Tahap pra analitik pemeriksaan HbA1c meliputi kondisi pasien, cara dan waktu pengambilan darah, perlakuan terhadap spesimen, proses penyimpanan spesimen sampai spesimen siap diperiksa. Pemeriksaan HbA1c tidak memerlukan puasa, jadi pengambilan darah dapat dilakukan tanpa puasa. Pengambilan darah vena orang dewasa dilakukan pada *vena difossa cubiti*, dilakukan dengan hati-hati dan seksama karena bahaya yang terjadi lebih besar daripada pengambilan darah kapiler. Daerah vena yang akan ditusuk harus diperiksa dengan seksama antara lain letak dan ukuran vena (Riswanto, 2013). Kesalahan pengambilan darah vena menggunakan spuit antara lain jarum masih basah, mengenakan ikatan pembendung terlalu lama atau terlalu keras sehingga mengakibatkan hemokonsentrasi. Tenaga ATLM lambat melakukan sampling sehingga terjadi bekuan darah dalam spuit, atau darah tidak tercampur (Gandasoebrata, 2013).

Spesimen pemeriksaan yang berpengaruh terhadap kadar HbA1c adalah spesimen ikterik (kadar bilirubin >5.0 mg/dL), hemolisis, dan penurunan eritrosit. Warna kekuningan pada serum akibat penimbunan bilirubin dalam tubuh menandakan terjadinya gangguan fungsi dari hepar. Spesimen hemolisis pada destruksi eritrosit, membran sel pecah sehingga hemoglobin keluar dari sel. Hemolisis menunjukkan destruksi eritrosit yang terlalu cepat, baik kelainan intrinsik maupun ekstrinsik terhadap eritrosit dan serum berwarna merah atau kemerahan. Penurunan eritrosit pada anemia, thalasemia, dan kehilangan darah jangka panjang memberikan kadar HbA1c palsu (Kee, 2014).

Kegiatan pencatatan dan pelaporan di laboratorium harus dilaksanakan dengan cermat dan teliti karena dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan dan

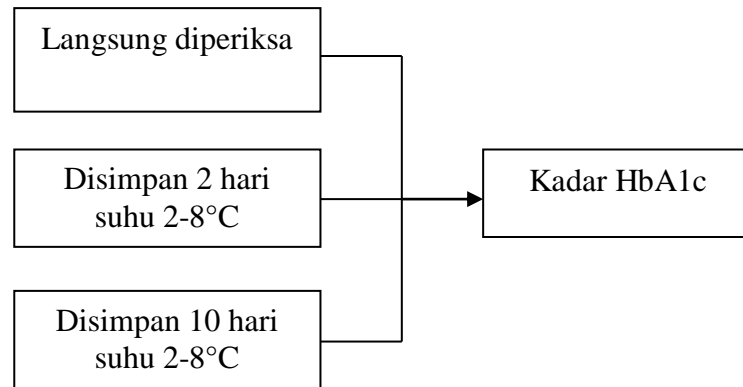
mengakibatkan kesalahan dalam penyampaian hasil pemeriksaan. Kesesuaian antara pencatatan dan pelaporan hasil pasien dengan spesimen yang sesuai. Penulisan angka dan satuan yang digunakan, bila diperlukan satu angka bulat cukup dilaporkan dalam angka bulat tanpa desimal dibelakang koma. Satuan yang digunakan sebaiknya adalah satuan internasional. Nilai normal perlu dicantumkan, karena alat dan metode pemeriksaan yang berbeda (Tuntun, 2018).

2.5 Kerangka Teori



Gambar 1. Skema Kerangka Teori

2.6 Kerangka Konsep



Gambar 2. Skema Kerangka Konsep

2.7 Hipotesis

Ada perbedaan kadar HbA1c pada darah EDTA langsung diperiksa dengan disimpan 2 hari dan 10 hari suhu 2-8°C menggunakan metode semi otomatis.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian adalah analitik pendekatan *cross sectional*.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di laboratorium RSD K.R.M.T Wongsonegoro Kota Semarang. Penelitian dilaksanakan pada bulan Desember 2021-Januari 2022.

3.3 Variabel Penelitian

Variabel bebas dalam penelitian adalah darah EDTA langsung diperiksa, disimpan 2 hari dan disimpan 10 hari suhu 2-8°C.

Variabel terikat adalah kadar HbA1c.

3.4 Definisi Operasional

Tabel 2. Definisi Operasional

Variabel	Definisi	Skala Ukur
Darah EDTA langsung diperiksa	darah EDTA yang diukur kadar HbA1c menggunakan metode semi otomatis segera setelah dilakukan pengambilan darah	Nominal
Darah EDTA disimpan 2 hari suhu 2-8°C	darah EDTA yang diukur kadar HbA1c menggunakan metode semi otomatis setelah disimpan dalam lemari pendingin selama 2 hari pada suhu 2-8°C	Nominal
Darah EDTA disimpan 10 hari suhu 2-8°C	darah EDTA yang diukur kadar HbA1c menggunakan metode semi otomatis setelah disimpan dalam lemari pendingin selama 10 hari pada suhu 2-8°C	Nominal
Kadar HbA1c	kandungan hemoglobin terglukasi dalam darah EDTA langsung diperiksa dan disimpan 10 hari suhu 2-8°C diperiksa menggunakan metode semi otomatis afinitas boronat, hasil dinyatakan dalam %	Rasio

3.5 Populasi dan Sampel Penelitian

1. Populasi penelitian adalah seluruh pasien DM tipe 2 yang periksa HbA1c di RSUD K.R.M.T Wongsonegoro Kota Semarang pada bulan Desember 2021-Januari 2022.
2. Sampel pada penelitian adalah darah vena dari pasien dewasa yang periksa kadar HbA1c, diambil secara acak sebanyak 9 sampel yang dihitung dengan rumus Federer sebagai berikut (Supranto, 2010) :

$$\begin{array}{rcl}
 (t-1)(r-1) & \geq & 15 \\
 (3-1)(r-1) & \geq & 15 \\
 2(r-1) & \geq & 15 \\
 2r & \geq & 15 + 2 \\
 r & \geq & 17 : 2 \\
 r & \geq & 8,5
 \end{array}$$

keterangan :

- t = banyaknya kelompok perlakuan
 r = jumlah replikasi.

Sampel penelitian dipilih yang memenuhi kriteria inklusi. Kriteria inklusi :

1. pasien DM tipe 2 dewasa yang bersedia diambil spesimennya
2. kadar HbA1c antara 3-15%

Kriteria eksklusi :

1. sampel kurang dari 1 mL
2. sampel lisis
3. sampel ikterik
4. sampel lipemik.

3.6 Alat dan Bahan

Alat penelitian adalah alat semi otomatis HbA1c Epithod 616.

Bahan penelitian adalah darah EDTA.

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Pengambilan Darah Vena Menggunakan Sduit

Daerah yang akan diambil darahnya (vena mediana cubiti) dibersihkan dengan kapas alkohol dan dibiarkan sampai kering. Pembendung dipasang pada lengan bagian atas kira-kira di atas siku, dan pasien diminta mengepalkan tangan agar vena terlihat jelas. Kulit diatas vena ditegangkan dengan jari tangan kiri supaya vena tidak bergerak, kemudian ditusuk menggunakan jarum sduit steril sampai masuk ke dalam lumen vena, posisi lubang jarum menghadap ke atas.

Pembendungan diregangkan dan penghisap semprit ditarik secara perlahan sampai jumlah darah yang dikehendaki. Pembendung yang masih terpasang dilepaskan dan kapas diletakkan diatas jarum sduit dan sduit dicabut secara perlahan. Luka tusukan ditutup selama beberapa menit dengan kapas, jarum dari semprit dilepaskan dan darah dimasukkan melalui dinding secara perlahan ke dalam tiga tabung EDTA. Tabung I untuk langsung diperiksa, dan tabung II disimpan dalam lemari pendingin suhu 2-8°C selama 2 hari, dan tabung III disimpan dalam lemari pendingin suhu 2-8°C selama 10 hari.

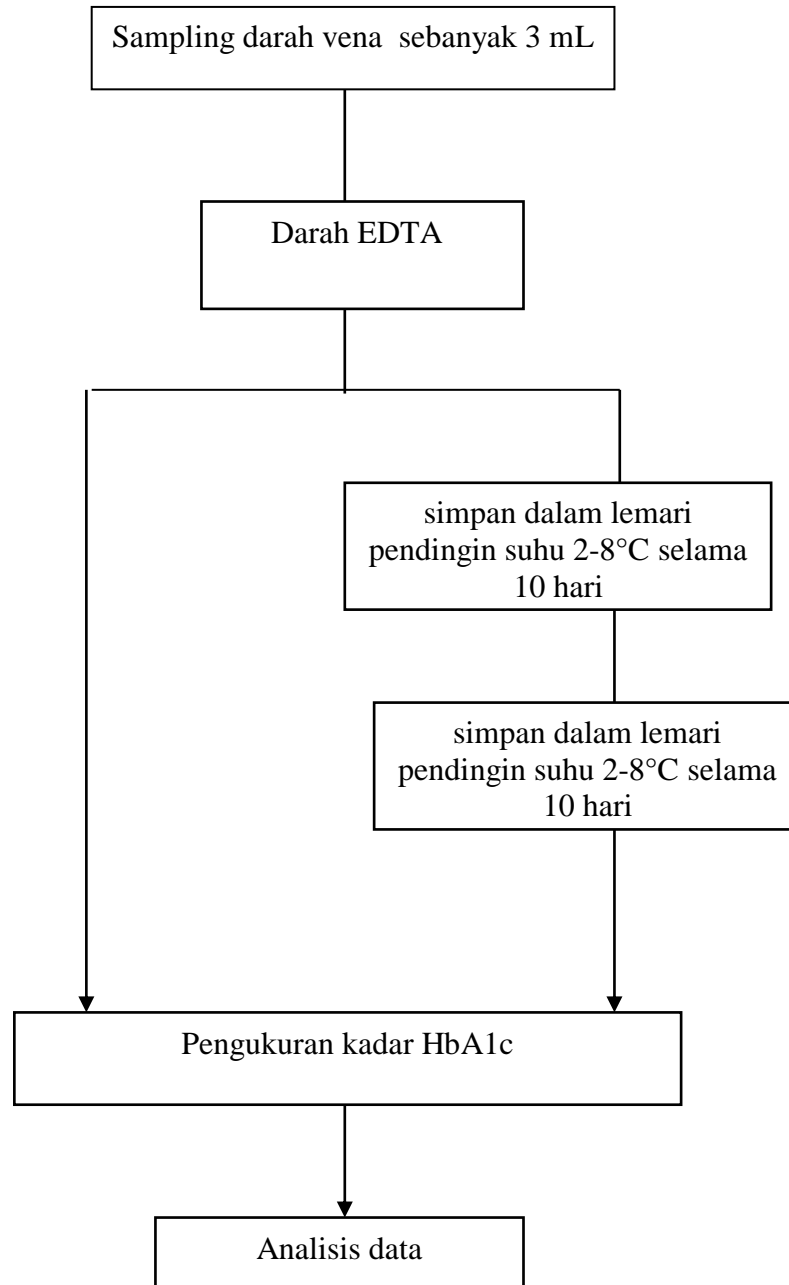
3.7.2 Prosedur Pengukuran HbA1c Semi Otomatis (Epidod 616)

Alat Epidod 616 dihidupkan dengan cara menekan tombol *ON/OFF* pada bagian belakang alat. Tombol *Test* ditekan untuk memulai pemeriksaan. Nama pasien, jenis kelamin dan umur dimasukkan pada P-ID (No.RM), sesuai barcode pasien lalu tekan *Enter* dan pilih *Save*. Pengaturan pada sampel dipilih *WB*, inkubasi dipilih *Default* lalu ditekan *Start*.

Analisis sampel dilakukan dengan sebanyak 5 μL darah EDTA dipipet dengan menggunakan mikro pipet. Sisa darah diluar dihapus dengan *tissue* kemudian dimasukkan dalam tabung R1, selanjutnya dihomogenkan dengan cara dibolak-balik sebanyak 10x. Tombol *Incubation* ditekan untuk inkubasi sampel pada tabung R1, setelah inkubasi selesai, sampel dalam tabung R1 sebanyak 25 μL diteteskan pada *cartridge*. Reagen W1 sebanyak 25 μL diteteskan pada *cartridge*, ditunggu menyerap sepenuhnya. *Cartridge* dimasukkan pada wadah yang tersedia lalu ditekan tombol *Analyzed*. Hasil analisis akan dikeluarkan alat (*print out*) dipilih *Save*.

Pengulangan pemeriksaan dilakukan darah EDTA yang disimpan dalam lemari pendingin suhu 2-8°C selama 2 hari (Tabung II) dan 10 hari (Tabung III).

3.8 Alur Penelitian



Gambar 3. Skema Alur Penelitian

3.9 Teknik Pengumpulan dan Analisis Data

Data dalam penelitian adalah data primer yang merupakan hasil pengukuran kadar HbA1c darah EDTA langsung diperiksa dan darah EDTA disimpan dalam lemari pendingin selama 2 hari dan 10 hari suhu 2-8°C. Data penelitian dikumpulkan dan disajikan dalam bentuk tabel, kemudian dilakukan perhitungan statistik menggunakan *software computer*.

Analisis data dilakukan dengan menganalisis variabel kadar HbA1c langsung diperiksa, kadar HbA1c disimpan 2 hari suhu 2-8°C, dan kadar HbA1c disimpan 10 hari suhu 2-8°C. Pengujian statistik diawali dengan uji normalitas menggunakan *Shapiro Wilk*. Hasil uji normalitas $p\text{-value} \leq 0,05$ berarti data terdistribusi tidak normal sehingga dilakukan transformasi data selanjutnya dilakukan uji beda *Kruskall Wallis*.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

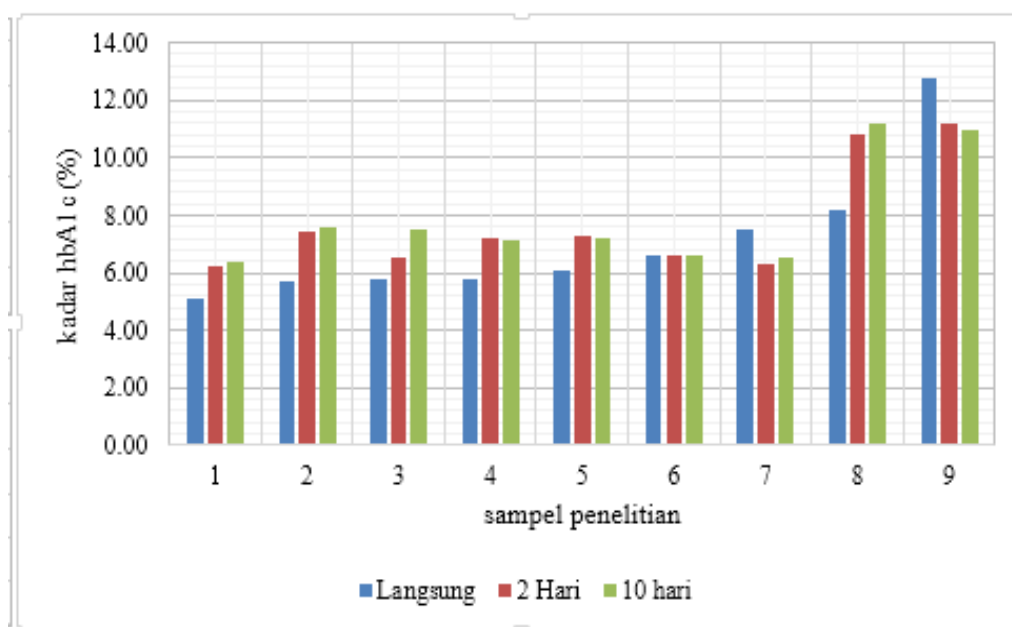
Penelitian perbedaan kadar HbA1c pada darah EDTA langsung diperiksa dengan disimpan 2 hari dan 10 hari suhu 2-8°C dilakukan di RSD K.R.M.T Wongsonegoro Kota Semarang pada bulan Desember 2021-Januari 2022. Hasil penelitian data sekunder meliputi jenis kelamin, usia dan kadar glukosa darah sewaktu (GDS). Bahan pemeriksaan darah EDTA langsung diperiksa kadar HbA1c. disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Karakteristik Sampel Penelitian

	n (9)	Persentase (%)
Jenis kelamin		
Laki-laki	2	22,22
perempuan	7	77,78
Usia (tahun)		
Minimal-maksimal = 45-57		
Rerata = 50,89		
Median = 50		
< 50 tahun	3	33,33
50 tahun	2	22,22
>50 tahun	4	44,44
Kadar glukosa darah sewaktu (mg/dL)		
Minimal-maksimal = 72-453		
Rerata = 178,33		
Standar deviasi = 121,08		
Kadar HbA1c (%) langsung diperiksa		
Minimal-maksimal = 5,10-12,80		
Rerata = 7,07		
Standar deviasi = 2,34		
Normal (4-6%)	4	44,44
Kendali baik (<6,5%)	1	11,11
Kendali sedang (6,5-8%)	2	22,22
Kendali buruk (>8%)	2	22,22

Berdasarkan Tabel 3 diketahui sampel penelitian atau responden berjenis kelamin laki-laki sebanyak 2 orang (22,22%), dan perempuan 7 orang (77,78%). Responden berusia 45-57 tahun, usia <50 tahun sebanyak 3 orang (33,33%), 50 tahun sebanyak 2 orang (22,22%), dan >50 tahun sebanyak 4 orang (44,44%). Kadar glukosa darah sewaktu (GDS) 72,00-453,00 mg/dL, dan kadar HbA1c antara 5,10-12,80% dengan rerata 7,07%. Berdasar nilai rujukan HbA1c dijumpai HbA1c normal 4 sampel (44,4%), kendali baik 1 sampel (11,1%), kendali sedang dan kendali buruk masing-masing 2 sampel (22,2%).

Bahan pemeriksaan berupa darah EDTA kemudian disimpan 2 hari dan 10 hari suhu 2-8°C sebelum dilakukan pemeriksaan kadar HbA1c. Hasil pemeriksaan disajikan pada Gambar 4 dan Tabel 4.



Gambar 4. Grafik Kadar HbA1c Langsung Diperiksa dengan Disimpan 2 dan 10 Hari

Gambar 4 memperlihatkan sampel penelitian nomor 1-4 dengan kadar HbA1c < 6% (normal) ketika disimpan pada suhu 2-8°C selama 2 hari dijumpai kadar HbA1c mengalami kenaikan. Sampel disimpan suhu 2-8°C selama 10 hari kadar HbA1c mengalami kenaikan dibanding darah EDTA langsung diperiksa.

Sampel nomor 5 dengan kadar HbA1c 6,1% (kendali baik) mengalami kenaikan ketika disimpan pada suhu 2-8°C selama 2 hari, namun mengalami sedikit penurunan saat disimpan 10 hari suhu 2-8°C. Kadar HbA1c mengalami kenaikan dibanding darah EDTA langsung diperiksa.

Sampel nomor 6 kadar HbA1c 6,60% (kendali sedang) tetap sama ketika disimpan pada suhu 2-8°C selama 2 hari, dan 10 hari. Sampel nomor 7 dengan kadar HbA1c 7,50% (kendali sedang) mengalami penurunan ketika disimpan pada suhu 2-8°C selama 2 hari dan 10 hari.

Sampel nomor 8 dengan kadar HbA1c 8,20% (kendali buruk) mengalami kenaikan ketika disimpan pada suhu 2-8°C selama 2 hari dan 10 hari. Sampel nomor 9 dengan kadar HbA1c 12,80% (kendali buruk) mengalami penurunan ketika disimpan pada suhu 2-8°C selama 2 hari dan 10 hari

Tabel 4. Deskripsi Hasil Penelitian Kadar HbA1c

Kadar HbA1c (%)	N	Minimal	Maksimal	Rerata	Simpang baku
Langsung diperiksa	9	5,1	12,8	7,07	2,36
Disimpan 2 hari	9	6,2	11,2	7,72	1,91
Disimpan 10 hari	9	6,4	11,2	7,90	1,86

Tabel 4 menyebutkan kadar HbA1c darah EDTA langsung diperiksa 5,1-12,8%, rerata 7,07%. Kadar HbA1c pada darah EDTA disimpan 2 hari suhu 2-8°C antara 6,2-11,2%, rerata 7,72%. Kadar HbA1c darah EDTA disimpan 10 hari suhu 2-8°C antara 6,4-11,2%, rerata 7,90%.

Kadar HbA1c pada darah EDTA disimpan 2 hari dan 10 hari suhu 2-8°C dilakukan analisis statistik untuk mengetahui perbedaan dengan menggunakan Kadar HbA1c darah EDTA langsung diperiksa sebagai baku emas. Analisis statistik dimulai dengan uji normalitas *Shapiro Wilk* diperoleh hasil $p=0,000$ yang diartikan data tidak terdistribusi normal. Uji beda kemudian dilakukan menggunakan *uji Kruskal Wallis*, hasil uji statistik disajikan pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil Uji Statistik Data Penelitian

Penyimpanan darah EDTA	n	rerata	Hasil uji <i>Kruskal Wallis</i>
langsung diperiksa	9	10,61	P =0,262
disimpan 2 hari suhu 2-8°C	9	14,83	
disimpan 10 hari suhu 2-8°C	9	16,56	

Tabel 5 menunjukkan peringkat rata-rata kadar HbA1c pada darah EDTA disimpan 2 hari suhu 2-8°C lebih tinggi dibanding kadar HbA1c darah EDTA langsung diperiksa. Peringkat rata-rata kadar HbA1c darah EDTA disimpan 10 hari suhu 2-8°C lebih tinggi dibanding kadar HbA1c disimpan 2 hari suhu 2-8°C dan langsung diperiksa. Hasil uji beda *Kruskal Wallis* $p=0,262$ yang diartikan tidak ada perbedaan yang bermakna pada kadar HbA1c pada darah EDTA langsung diperiksa dengan disimpan 2 hari dan 10 hari suhu 2-8°C.

4.2 Pembahasan

Penelitian kadar HbA1c darah EDTA langsung diperiksa dengan disimpan selama 2 dan 10 hari pada suhu 2-8° menggunakan metode semi otomatis secara statistik menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna. Kadar HbA1c disimpan

selama 2 hari suhu 2-8°C dijumpai 6 sampel mengalami kenaikan 0,70-2,60%, 2 sampel mengalami penurunan 1,20-1,60% dibanding kadar HbA1c langsung diperiksa, dan 1 sampel kadar HbA1c tetap sama. Darah EDTA disimpan 10 hari suhu 2-8°C, dijumpai 6 sampel mengalami kenaikan kadar HbA1c antara 1,10-3,00% dibanding kadar HbA1c langsung diperiksa, 2 sampel mengalami penurunan kadar HbA1c antara 1,0-1,80%, 1 sampel kadar HbA1c tetap sama. Kadar HbA1c disimpan 2 hari suhu 2-8°C mengalami kenaikan rerata dibanding langsung diperiksa. Kadar HbA1c disimpan 10 hari suhu 2-8°C mengalami kenaikan dibanding langsung diperiksa, dan disimpan 2 hari suhu 2-8°C.

Sampel penelitian berasal dari pasien rawat jalan di RSD K.R.M.T Wongsonegoro. Data sekunder catatan medis pasien menyebutkan kadar glukosa darah sewaktu antara 72-453 mg/dL menunjukkan adanya pasien hiperglikemi. Kadar HbA1c langsung diperiksa berdasarkan kendali HbA1c dijumpai HbA1c normal 4 sampel (44,4%), kendali baik 1 sampel (11,1%), kendali sedang dan kendali buruk masing-masing 2 sampel (22,2%). Berdasarkan data penelitian, dijumpai pasien dengan kadar HbA1c normal memiliki kadar glukosa darah 87-210 mg/dL, kadar HbA1c kendali baik memiliki kadar glukosa darah 72 mg/dL. Kadar HbA1c kendali sedang memiliki kadar glukosa darah 99-103 mg/dL, dan kendali buruk memiliki kadar glukosa darah 269-453 mg/dL.

HbA1c pada beberapa keadaan tidak dapat mencerminkan kontrol glukosa darah, terbukti pada sampel penelitian HbA1c normal ditemukan kadar glukosa darah lebih dari normal. Menurut Papatungan (2014) kadar HbA1c dapat meningkat dari nilai sebenarnya disebabkan usia, anemia defisiensi besi,

polisitemia rubra/vera, kadar ureum darah yang tinggi, hipertrigliseridemia berat. Kadar HbA_{1c} dapat lebih rendah dari nilai sebenarnya pada keadaan setelah transfusi darah, kehilangan darah, penyakit ginjal, hemolisis, dan thalassemia. Data sekunder atau catatan medis tidak memberikan informasi mengenai hal ini.

Pengukuran HbA_{1c} dipengaruhi oleh faktor-faktor pada setiap tahapan pemeriksaan. Tahap pra analitik meliputi proses pengambilan darah, persiapan, dan penyimpanan spesimen. Pengambilan darah menggunakan spuit 3 mL dibagi dalam tiga tabung EDTA masing-masing 1 mL untuk langsung diperiksa, disimpan pada lemari pendingin suhu 2-8°C selama 2 hari dan 10 hari. Berdasarkan teori, darah EDTA disimpan pada suhu 2-8°C mempunyai fungsi oksigenasi jaringan sampai masa simpan 3-5 minggu. Penyimpanan darah EDTA pada suhu 2-8°C dimaksudkan menjaga kemampuan darah dalam menyalurkan oksigen dan mengurangi pertumbuhan bakteri yang menyebabkan kontaminasi darah simpan. Batas penyimpanan 2°C disebabkan eritrosit sangat sensitif terhadap pembekuan, eritrosit menyebabkan sifat dinding sel darah akan pecah dan hemoglobin akan keluar atau hemolisis. Pecahnya sel eritrosit menyebabkan hemoglobin masuk ke dalam plasma sehingga mengakibatkan terjadinya perubahan warna pada plasma menyebabkan gangguan kromoforik pada analisa fotometri sehingga berpengaruh terhadap pemeriksaan kimia darah.

Kendala dalam penelitian, lemari pendingin yang digunakan merupakan lemari pendingin di instalasi laboratorium yang tidak khusus digunakan untuk penelitian ini. Suhu lemari pendingin selama penelitian dimungkinkan tidak terjaga dengan baik karena lemari pendingin sering dibuka tutup oleh petugas

yang lain untuk kepentingan laborat. Darah dalam tabung EDTA yang disimpan dalam lemari pendingin ketika akan dilakukan pemeriksaan HbA1c melalui proses penghangatan kembali yang mungkin dapat menyebabkan hemolisis.

Kadar HbA1c darah EDTA simpan suhu 2-8°C selama 2 hari dan 10 hari pada penelitian memberikan hasil HbA1c mengalami kenaikan, menurun dan tetap sama, meski secara statistik memberikan hasil tidak bermakna. Perbedaan hasil dimungkinkan disebabkan faktor-faktor yang mempengaruhi HbA1c yang membutuhkan penelitian tersendiri.

Hasil penelitian dikuatkan Prihandono (2019) menyebutkan proses penundaan pemeriksaan dan penyimpanan sampel darah EDTA pada lemari pendingin suhu 2-8°C tidak berpengaruh secara bermakna terhadap kadar HbA1c. Kadar HbA1c pada darah EDTA penundaan pemeriksaan selama 5 jam dan 10 jam dengan penyimpanan darah EDTA dalam lemari pendingin menyebabkan kadar HbA1c mengalami kenaikan meski secara statistik kenaikan tersebut tidak memberikan pengaruh yang bermakna. Kadar HbA1c segera diperiksa, disimpan 5 hari dan 10 hari secara berturut-turut adalah 6,76%, 6,87%, dan 6,88%. Hasil ini menunjukkan terjadi kenaikan rata-rata.

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Penelitian perbedaan kadar HbA1c darah EDTA langsung diperiksa dengan disimpan 2 dan 10 hari suhu 2-8°C menggunakan metode semi otomatis disimpulkan :

1. Kadar HbA1c darah EDTA langsung diperiksa antara 5,10-12,80%, rerata 7,07% dan simpang baku 2,36%.
2. Kadar HbA1c darah EDTA disimpan 2 hari suhu 2-8°C antara 6,20-11,20%, rerata 7,72%, dan simpang baku 1,91
3. Kadar HbA1c darah EDTA disimpan 10 hari suhu 2-8°C antara 6,4-11,2%, rerata 7,90% dan simpang baku 1,86.
4. Tidak ada perbedaan bermakna kadar HbA1c darah EDTA langsung diperiksa dengan disimpan 2 dan 10 hari suhu 2-8°C menggunakan metode semi otomatis ($p=0,262$).

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian maka disarankan bagi penelitian selanjutnya agar memperhatikan faktor-faktor yang berpengaruh terhadap HbA1c (anemia, hemodialysis, transfusi darah, dan lain-lain), dan suhu penyimpanan darah EDTA.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbott, 2019. Afinion HbA1c. Abbott Diagnostics Technologies AS
- American Diabetes Association. 2014. Position statement: Standards of Medical Care In Diabetes. *Diab Care*; 33(Suppl.1)
- Anselmus, Ake. 2017. *Glycated Albumin* Sebagai Penanda Kontrol Glikemik Pada Penderita Diabetes Melitus Tipe 2. Vol 1(1)
- Cora, M. C. *et al.* (2012). Artifactual Changes in Sprague–Dawley Rat Hematologic Parameters after Storage of Samples at 3 °C and 21 °C', *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science : JAALAS*. American Association for Laboratory Animal Science, 51(5), p. 616.
- Destanto, GD. 2012. Pengaruh Volume Darah Pada Tabung Vakum dengan Antikoagulan EDTA Terhadap Indeks Eritrosit Pada Pasien Anemia. Universitas Hasanuddin Makassar.
- Dahlan S. 2014. Statistika untuk Kedokteran dan Kesehatan. Arkans. Jakarta.
- Ekanem, A. P., Udoh, A. J. and Inyang-Etoh, A. P. (2012) *Effect of Different Anticoagulants on Hematological Parameters of Oreochromis Niloticus*, *International Journal of Science and Advanced Technology*. Available at: <http://www.ijstat.com> (Accessed: 4 September 2019)
- Freise, K. J. *et al.* 2015. The effect of anticoagulant, storage temperature and dilution on cord blood hematology parameters over time. doi: 10.1111/j.1751-553X.2008.01066.x.
- Gandasoebrata, R, 2013. *Penuntun Laboratorium Klinik*. Dian Rakyat. Jakarta
- Kee, J.L. 2014. *Pedoman Pemeriksaan Laboratorium & Diagnostik*. EGC. Jakarta
- Prihandono, Dwi. 2019. *Pengaruh Lama Penyimpanan 5 Jam dan 10 Jam pada Suhu 2-8°C Terhadap Kadar Glycated Hemoglobin (HbA1c)*. Jurnal Manajemen Kesehatan Yayasan RS. Dr. Soetomo Vol.5(2) : 125 – 133
- Paputungan SR, Sanusi H. 2014. Peranan pemeriksaan HbA1c Pada Pengelolaan Diabetes Mellitus. Sub Bagian Endokrin Metabolik Diabetes Bagian Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Hasanudin Makasar.
- Perkeni, 2015. Konsensus Pengelolaan dan Pencegahan Diabetes Melitus Tipe 2 di Indonesia 2015. PB Perkeni. Hal: 1-79.

- Riswanto, 2013. Hemoglobin A1c (HbA1c). Diunduh 2 Mei 2020.
(<http://Labkesehatan.blogspot.com/2010/03/hemoglobin-a1c-HbA1c>).
- Sacks DB et al., Guidelines and Recommendations for Laboratory Analysis in the Diagnosis and Management of Diabetes Mellitus. Clin Chem 2002; 48:436-472.
- Sartika, Fera. 2019. Kadar Hba1c Pada Pasien Wanita Penderita Diabetes Mellitus Tipe di RSUD Dr. Doris Sylvanus Palangka Raya. Borneo Journal Of Medical Laboratory Technology. Vol 2(1)
- Syaifuddin, 2009. Anatomi Fisiologi Untuk Siswa Perawat. Edisi 2. EGC. Jakarta
- Tuti Asryani, 2018. Perbandingan Kadar Hemoglobin Terглиkasi Metode *Boronate Affinity* dengan Ion *Exchangehigh Performance Liquid Chromatography* Pada Diabetes Melitus Tipe 2
- Suryaatmadja, M. 2013. Peran Pemeriksaan kadar HbA1c untuk Diagnosis Pradiabetes. Buku Pendidikan Berkesinambungan. edisi 12 Departemen Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia . p : 68
- Sri Rahayu,P., Harsinem,S.2014. Peranan Pemeriksaan Hemoglobin A1c pada Pengelolaan Diabetes Melitus. Sub bagian Endoktrin Metabolik Diabetes Bagian Ilmu Penyakit Dalam. Fakultas Kedokteran universitas Hasanudin,Makasar.
- Wahdaniah, 2018. Perbedaan Penggunaan ANtikoagulan K2EDTA dan K3EDTA Terhadap Hasil Pemeriksaan Eritrosit. JLK 2(2) : 114-118.
- WHO, 2016. *Global Report On Diabetes*. In: WHO Library Cataloguing-in-Publication Data. P: 1-84.

Lampiran 1. Data Penelitian kadar HbA1c darah EDTA Langsung Diperiksa dengan Disimpan 2 dan 10 hari suhu 2-8°C

No. Sampel	Jenis kelamin	Usia (tahun)	GDS (mg/dL)	Kadar HbA1c		
				Langsung	2 Hari	10 hari
1	Perempuan	55	453	8.20	10.80	11.20
2	Perempuan	45	155	5.80	6.50	7.50
3	Laki-laki	46	103	7.50	6.30	6.50
4	Perempuan	45	99	6.60	6.60	6.60
5	Perempuan	50	72	6.10	7.30	7.20
6	Perempuan	56	157	5.80	7.20	7.10
7	Perempuan	54	87	5.10	6.20	6.40
8	Laki-laki	50	269	12.80	11.20	11.00
9	Perempuan	57	210	5.70	7.40	7.60

Lampiran 2. Hasil Uji Statistik

		jenis kelamin pasien			
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	laki-laki	2	22.2	22.2	22.2
	perempuan	7	77.8	77.8	100.0
	Total	9	100.0	100.0	

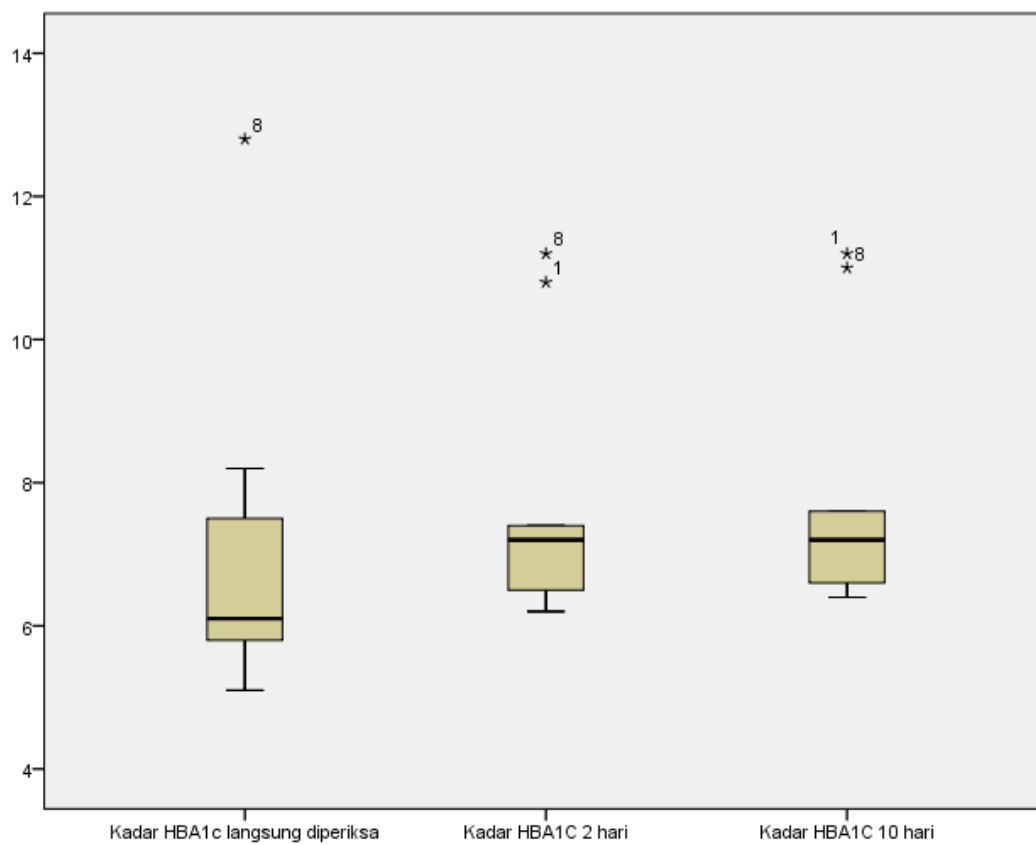
Descriptive Statistics					
	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
kadar gula darah sewaktu	9	72.00	453.00	178.3333	121.07952
kadar HbA1c	9	5.10	12.80	7.0667	2.35690

		kriteria HbA1c			
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	normal (4-6%)	4	44.4	44.4	44.4
	kendali baik (<6,5%)	1	11.1	11.1	55.6
	kendali sedang (6,5-8%)	2	22.2	22.2	77.8
	kendali buruk (>8%)	2	22.2	22.2	100.0
	Total	9	100.0	100.0	

kadar gula darah sewaktu * kriteria HbA1c Crosstabulation							
		kriteria HbA1c				Total	
		normal (4-6%)	kendali baik (<6,5%)	kendali sedang (6,5-8%)	kendali buruk (>8%)		
kadar gula darah sewaktu	72.00	Count	0	1	0	0	1
		% of Total	0.0%	11.1%	0.0%	0.0%	11.1%
	87.00	Count	1	0	0	0	1
		% of Total	11.1%	0.0%	0.0%	0.0%	11.1%
	99.00	Count	0	0	1	0	1
		% of Total	0.0%	0.0%	11.1%	0.0%	11.1%
	103.00	Count	0	0	1	0	1
		% of Total	0.0%	0.0%	11.1%	0.0%	11.1%
	155.00	Count	1	0	0	0	1
		% of Total	11.1%	0.0%	0.0%	0.0%	11.1%
	157.00	Count	1	0	0	0	1
		% of Total	11.1%	0.0%	0.0%	0.0%	11.1%
	210.00	Count	1	0	0	0	1
		% of Total	11.1%	0.0%	0.0%	0.0%	11.1%
	269.00	Count	0	0	0	1	1
		% of Total	0.0%	0.0%	0.0%	11.1%	11.1%
453.00	Count	0	0	0	1	1	
	% of Total	0.0%	0.0%	0.0%	11.1%	11.1%	
Total	Count	4	1	2	2	9	
	% of Total	44.4%	11.1%	22.2%	22.2%	100.0%	

Statistics

		Kadar HbA1c langsung diperiksa	Kadar HbA1c 2 hari	Kadar HbA1c 10 hari
N	Valid	9	9	9
	Missing	0	0	0
Mean		7.0667	7.7222	7.9000
Median		6.1000	7.2000	7.2000
Std. Deviation		2.35690	1.91101	1.86346
Minimum		5.10	6.20	6.40
Maximum		12.80	11.20	11.20



Explore

	Tests of Normality					
	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kadar HBA1c	.270	27	.000	.810	27	.000

a. Lilliefors Significance Correction

NPar Tests

Kruskal-Wallis Test

	Ranks		
	Perlakuan	N	Mean Rank
Kadar HBA1c	Langsung diperiksa	9	10.61
	2 hari	9	14.83
	10 hari	9	16.56
	Total	27	

Test Statistics ^{a,b}	
Kadar HBA1c	
Chi-Square	2.680
df	2
Asymp. Sig.	.262

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Perlakuan

Kadar HBA1c	Descriptives							
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Langsung diperiksa	9	7.0667	2.35690	.78563	5.2550	8.8783	5.10	12.80
2 hari	9	7.7222	1.91101	.63700	6.2533	9.1912	6.20	11.20
10 hari	9	7.9000	1.86346	.62115	6.4676	9.3324	6.40	11.20
Total	27	7.5630	2.00866	.38657	6.7684	8.3576	5.10	12.80

Means Plots

