

**PENGARUH VARIASI SUHU REAGEN TERHADAP STABILITAS
KADAR GLUKOSA PLASMA NATRIUM FLUORIDA (NaF)
MENGUNAKAN METODE ENZIMATIK (GOD-PAP)**

**REAGENT TEMPERATURE VARIATIONS AFFECT FOR STABILITY
OF NATRIUM FLUORID (NaF) PLASMA BLOOD GLUCOSE LEVELS
USING ENZYMATIC (GOD-PAP) METHODS**

Sholeha Rezekiyah¹, Wuni Sri Lestari², Eka Fitriana³, Witi Karwiti⁴, Dwi Martaliana Riska⁵

¹ Program Studi STr TLM Poltekkes Kemenkes Jambi

^{2,3,4,5} Program Studi D III Analisis Kesehatan AAK Provinsi Jambi

Email : sholeharezekiyah1969@gmail.com

ABSTRAK

Pemeriksaan glukosa darah metode enzimatis sangat dipengaruhi oleh suhu karena suhu mempengaruhi aktivitas enzim. Pada tahap praanalitik, kondisi reagen yang tidak pada suhu optimal dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh variasi suhu reagen terhadap kadar glukosa darah plasma NaF. Variasi suhu reagen yang digunakan adalah 10°C, 15°C, 20°C dan 25°C (kontrol). Metode penelitian yang digunakan bersifat eksperimen. Sampel penelitian sebanyak 5 orang mahasiswa Akademi Analisis Kesehatan Provinsi Jambi yang diambil darahnya dan dibuat plasma NaF. Metode pemeriksaan yang digunakan adalah enzimatis (GOD-PAP) dengan alat spektrofotometer. Metode enzimatis (GOD-PAP) merupakan metode yang paling baik karena hasilnya mendekati *true blood sugar*, tidak memerlukan suhu tinggi dan lebih spesifik.

Hasil penelitian didapat kadar glukosa darah pada suhu reagen 10°C, 15°C, 20°C dan 25°C (kontrol) masing-masing sebesar 69,729 mg/dl, 76,982 mg/dl, 85,937 mg/dl, dan 95,235 mg/dl. Hal ini menunjukkan setiap kenaikan suhu 5°C terjadi peningkatan kadar glukosa darah. Hasil uji Regresi Linear Sederhana didapatkan nilai *p-value* sebesar 0,0001 dengan α 0,05 yang dilanjutkan dengan uji Anova *One-way* dengan hasil *p-value* 0,017 menunjukkan ada hubungan antara variasi suhu reagen dan adanya pengaruh yang signifikan suhu reagen yang bervariasi terhadap kadar glukosa darah. Kemudian dilakukan Uji LSD atau BNT didapatkan hasil ada perbedaan yang nyata pada suhu 10°C - 20°C. Penelitian menyimpulkan ada pengaruh suhu reagen terhadap kadar glukosa darah plasma NaF, dimana perbedaan signifikan pada suhu 10°C - 20°C. Bagi peneliti selanjutnya disarankan untuk melakukan penelitian tentang pengaruh pH pada reaksi enzimatis.

Kata kunci: Suhu reagen, Glukosa darah, plasma NaF, metode enzimatis GOD-PAP

ABSTRAC

The glucose examination of the enzymatic method is affected significantly by temperature because temperatures affect enzyme activity. At the pre-analytic stage, reagent conditions not at optimum temperatures can affect the outcome of tests. Research aims to identify the effect of variations in reagent temperatures on NaF plasma blood glucose levels. Variations of reagent temperature used are 10°C, 15°C, 20°C, and 25°C (control). The methods of research used were experimental. A sample of study as many as five students at Academy of Health Analysts in the province of Jambi whose blood was extracted and made NaF plasma. The method of screening used was the enzymatic (GOD-PAP) with a spectrophotometer. The enzymatic (GOD-PAP) method was the best because the result was close to true blood sugar, requiring no higher temperature and specifics.

Research results show blood glucose levels at 10°C, 15°C, 20°C and 25°C (control) each one is 69.729 mg/dl, 76.982 mg/dl, 85.937 mg/dl, and 95,235 mg/dl. It shows that every temperature rise in 5°C glucose levels have increase. A simple linear regression test obtained a p-value 0,0001 with α 0.05, followed by a one way anova test, with a p-value 0.017, suggesting there is a link between the variations in reagent temperature and the effects of significant reagent temperatures varying in blood glucose levels. Then conducted LSD or BNT tests got the results no real difference at a temperature of 10°C - 20°C. Research has concluded that there is an effect of reagents' temperatures on NaF plasma glucose levels, where the difference is significant at 10°C - 20°C. Researchers are further encouraged to do research on the effects of pH in the enzymatic reactions.

Keywords: reagent temperature, blood glucose, NaF plasma, GOD-PAP enzymatic methods

© 2021 – Sholeha Rezekiyah, Wuni Sri Lestari, Eka Fitriana, Witi Karwiti, Dwi Martaliana Riska
Under the license CC BY-SA 4.0

1. PENDAHULUAN

Laboratorium klinik merupakan suatu sarana untuk melakukan pengukuran dan pemeriksaan sehingga pemeriksaan sehingga didapatkan data ilmiah yang bisa digunakan dalam menghadapi masalah yang diidentifikasi melalui pemeriksaan klinis dan merupakan bagian esensial dari data pokok pasien (1). Laboratorium dituntut untuk memberikan pelayanan yang optimal, karenanya perlu untuk selalu melakukan kontrol baik pada tahap pra analisa, analisa, dan post analisa segala kegiatan yang dilaksanakan (2). Menurut Marks, B.D., dkk (2000), persiapan reagen kerja adalah bagian dari tahap pra analisa. Pada tahap ini kualitas hasil pemeriksaan sampel sangat ditentukan dan dapat mempengaruhi proses berikutnya(3).

Pemeriksaan glukosa darah dilakukan laboratorium klinik, sebagian besar menggunakan metode enzimatik. Banyak faktor yang mempengaruhi aktivitas enzim, salah satunya adalah suhu. Perubahan suhu dapat mengakibatkan kesalahan dalam interpretasi hasil pemeriksaan (3). Reaksi kimia yang menggunakan katalis enzim sangat dipengaruhi oleh suhu dalam menentukan kecepatan suatu reaksi. Pada suhu rendah dibawah 10°C reaksi kimia berlangsung lambat, sedangkan pada suhu tinggi diatas 10°C reaksi berlangsung lebih cepat sampai pada suhu optimal (37°C) (4).

Metode enzimatik ada tiga macam yaitu heksokinase, oksidase dan dehydrogenase.

Metode glukose oksidase (GOD-PAP) merupakan metode pemeriksaan glukosa darah yang paling baik karena hasilnya mendekati *true blood sugar*, tidak memerlukan suhu tinggi dan lebih spesifik (1).

Hasil penelitian Noviyanti dkk (2012) tentang temperatur optimum reaksi enzimatik protease dari daun sansaking menunjukkan bahwa aktivitas ekstrak kasar mencapai temperatur optimum 50°C yaitu sebesar 1,1170 U/mL. Aktivitas enzim dibawah suhu optimum yaitu pada temperatur 30°C sebesar 0,8660 dan 40°C sebesar 0,9986 U/mL. Rendahnya aktivitas enzim pada kedua temperatur tersebut dibandingkan temperatur optimum, disebabkan rendahnya energi aktivasi yang tersedia(5).

Penelitian Kustiningsih dkk (2017) tentang pengaruh variasi suhu awal reagen terhadap kadar glukosa darah metode enzimatik, memperlihatkan adanya peningkatan kadar glukosa darah pada tiap perlakuan (suhu awal reagen 10°C, 13°C, 16°C, 19°C, 22°C dan 25°C(sebagai kontrol)(6).

Uji pendahuluan terhadap reagen glukosa setelah dikeluarkan dari lemari es sampai kondisi suhu kamar, diketahui bahwa suhu 4°C didapatkan pada 0 menit, suhu 10°C pada menit ke 17, suhu 15°C pada menit ke 23, suhu 20°C pada menit ke 41 dan suhu 25°C(suhu kamar) pada menit ke 49. Hasil uji menunjukkan bahwa untuk mendapatkan suhu kamar reagen (20 °C – 25°C) diperlukan waktu 40-60 menit.

Lamanya waktu yang dibutuhkan reagen untuk mencapai suhu kamar berakibat tertundanya pemeriksaan glukosa darah(7). Penundaan, lama penyimpanan dan suhu dapat menyebabkan terjadinya glikolisis diluar tubuh. Bila tanpa zat penghambat glikolisis (NaF) maka komponen yang ada dalam sampel darah seperti eritrosit, lekosit, dan juga kontaminasi bakteri dapat menyebabkan kadar glukosa darah menurun (8). NaF mencegah terjadinya glikolisis sehingga kadar glukosa dapat bertahan pada suhu kamar dalam waktu yang cukup lama (1). Tujuan penelitian yaitu untuk mengetahui pengaruh variasi suhu reagen terhadap stabilitas kadar glukosa darah plasma NaF metode enzimatik GOD-PAP.

2. METODE PENELITIAN

Metode yang digunakan dalam penelitian ini bersifat *quasi eksperimen*, dengan rancangan *posttest only control group design* yaitu mengukur pengaruh perlakuan pada kelompok uji dengan cara membandingkan dengan kelompok kontrol. Perlakuan yang diberikan adalah suhu reagen yang bervariasi dari suhu lemari es 10 °C, 15 °C, 20 °C dan 25°C (sebagai kontrol). Dalam penelitian ini, yang menjadi variabel bebas adalah variasi suhu reagen dan variabel terikat adalah kadar glukosa darah.

Sampel adalah lima orang responden yang diambil darahnya sebanyak 2 ml, selanjutnya dimasukkan kedalam tabung sentrifus yang berisi 60 µL anticoagulan NaF.

Sentrifus darah dengan kecepatan 3000 rpm selama 5 menit. Pisahkan plasma NaF ke dalam tabung serologis.

Persiapan reagen glukosa dengan cara mengeluarkan reagen dari kulkas, diukur suhunya dengan termometer, selanjutnya ditunggu sampai suhu tiap perlakuan tercapai, kemudian dilakukan pemeriksaan glukosa darah. Pada saat reagen mencapai suhu 10 °C, masukkan masing-masing 1000 µL reagen kedalam 7 tabung reaksi, dimana 1 tabung untuk blanko, 1 tabung untuk standar dan 5 tabung untuk sampel plasma NaF, kemudian lakukan pemeriksaan glukosa darah. Pada saat reagen mencapai suhu 15 °C, masukkan masing-masing 1000 µL reagen kedalam 7 tabung reaksi, dimana 1 tabung untuk blanko, 1 tabung untuk standar dan 5 tabung untuk sampel plasma NaF, kemudian lakukan pemeriksaan glukosa darah. Pada saat reagen mencapai suhu 20 °C, masukkan masing-masing 1000 µL reagen kedalam 7 tabung reaksi, dimana 1 tabung untuk blanko, 1 tabung untuk standar dan 5 tabung untuk sampel plasma NaF, kemudian lakukan pemeriksaan glukosa darah. Pada saat reagen mencapai suhu 25 °C, masukkan masing-masing 1000 µL reagen kedalam 7 tabung reaksi, dimana 1 tabung untuk blanko, 1 tabung untuk standar dan 5 tabung untuk sampel plasma NaF, kemudian lakukan pemeriksaan glukosa darah.

Pemeriksaan glukosa darah metode enzimatis kolorimetrik GOD-PAP dengan reagen glukosa Biosystem, dengan cara seperti pada tabel 1.

Tabel 1. Prosedur pemeriksaan glukosa darah metode GOD-PAP

Ke dalam tabung	Blanko	Standard	Sampel
Reagen glukosa	1000 µl	1000 µl	1000 µl
Standard	-	10 µl	
Sampel	-	-	10 µl

Homogenkan dan inkubasi selama 10 menit pada suhu kamar. Baca absorban standar dan sampel terhadap blanko pada panjang gelombang 546 nm dengan spektrofotometer. Pembacaan tidak boleh lebih dari 60 menit.

Kadar glukosa darah (mg/dL) = $\frac{A \text{ sampel}}{A \text{ standar}}$ x konsentrasi standar

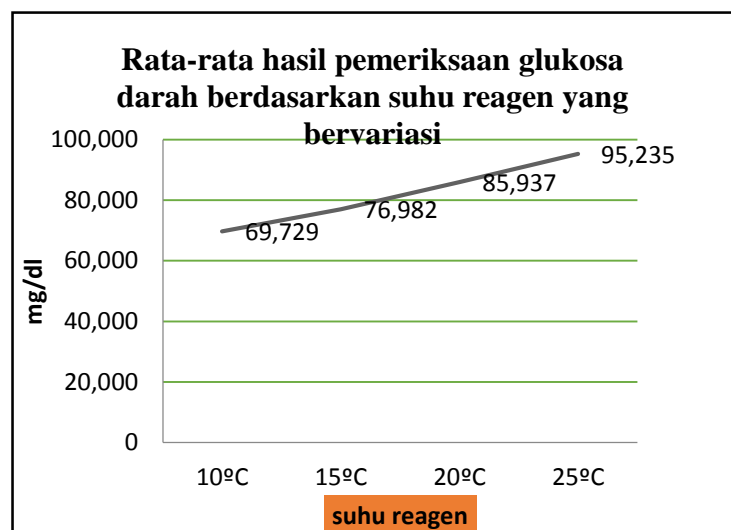
3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pemeriksaan glukosa darah dilakukan di laboratorium Kimia Klinik Akademi Analis Kesehatan pada bulan Mei 2018 dengan sampel plasma NaF yang didapat dari 5 orang responden yang diambil darah venanya, didapat hasil yang disajikan pada tabel 2.

Tabel 2. Gambaran hasil pemeriksaan glukosa darah plasma NaF berdasarkan suhu reagen yang bervariasi pada kelima responden

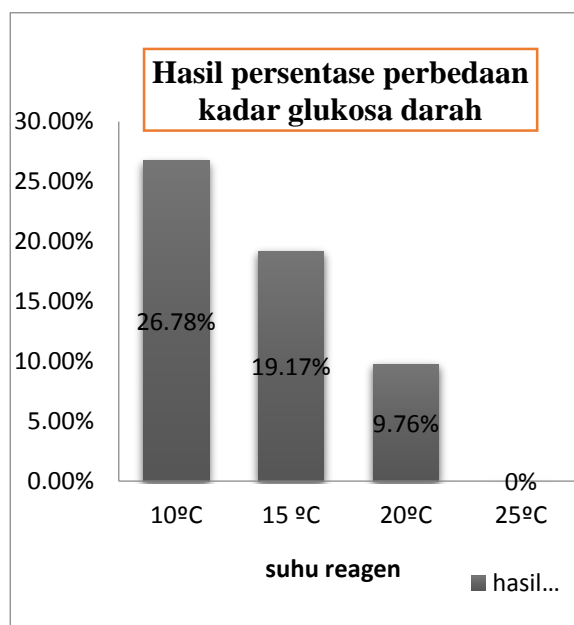
NO SAMPEL	SUHU REAGEN				MEAN
	10 ° C	15 ° C	20 ° C	25° C	
1	72,440	88,978	93,229	98,269	88,229
2	79,406	81,615	92,196	98,546	87,941
3	86,834	89,833	91,762	104,460	93,222
4	52,289	60,201	79,560	86,048	81,373
5	57,675	64,281	72,937	88,854	70,937
JUMLAH	348,644	384,908	429,684	476,177	421,702
RATA-RATA	69,729	76,982	85,937	95,235	84,340

Hubungan antara variasi suhu reagen terhadap kadar glukosa darah plasma NaF dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Grafik rata-rata hasil pemeriksaan glukosa darah plasma NaF berdasarkan suhu reagen yang bervariasi

Persentase perbedaan kadar glukosa darah plasma NaF metode enzimatis pada penggunaan reagen dengan variasi suhu 10°C, 15°C, 20°C dan 25°C, dapat dilihat pada gambar 2 berikut.



Gambar 2. Grafik persentase perbedaan kadar glukosa darah plasma NaF setiap kenaikan suhu reagen

Analisa statistik menggunakan uji Regresi Linier sederhana didapat nilai p -value 0,0001. Sesuai ketentuan jika nilai p -value $< \alpha = 0,05$, menunjukkan adanya hubungan linier antara penggunaan suhu reagen yang bervariasi dengan kadar glukosa darah plasma NaF. Nilai R -squared sebesar 0,460 menjelaskan bahwa 46,0 % kadar glukosa darah plasma NaF dipengaruhi oleh variabel suhu reagen yang bervariasi.

Analisis dilanjutkan dengan uji Anova *One-way* didapat hasil $F_{hitung}(4,582) > F_{tabel}(3,238872)$ dan p -value sebesar $0,017 < \alpha (0,05)$, dimana terjadi penolakan H_0 sehingga dapat disimpulkan secara statistik terdapat pengaruh yang signifikan variasi suhu reagen terhadap kadar glukosa darah plasma NaF. Untuk melihat suhu yang berpengaruh terhadap kadar

glukosa darah plasma NaF dilakukan uji LSD (*Least Significance Different*) atau uji BNT (*Beda Nyata terkecil*) yang menunjukkan terdapat beda nyata pada suhu $10^{\circ}\text{C} - 20^{\circ}\text{C}$.

Pada penelitian dilakukan pemeriksaan kadar glukosa darah plasma NaF menggunakan 5 sampel darah dengan 4 (empat) perlakuan yaitu pengukuran kadar glukosa darah plasma NaF masing-masing sampel dengan menggunakan reagen pada suhu 10°C , 15°C , 20°C dan 25°C (kontrol). Pemeriksaan dilakukan pada suhu kamar (20 - 25°C).

Penggunaan plasma NaF dalam penelitian ini karena adanya penundaan pemeriksaan untuk mendapatkan suhu perlakuan. Penundaan pemeriksaan dapat menyebabkan terjadinya glikolisis. Glikolisis dapat dicegah dengan penambahan NaF sebagai anticoagulan. Kerja NaF adalah menghambat kerja enzim enolase pada proses glikolisis. NaF juga mampu menghambat terjadinya glikolisis hingga 4 jam jika sampel dipisahkan dari bekuan darah.

Hasil pemeriksaan pada setiap perlakuan menunjukkan terjadinya peningkatan kadar glukosa darah. Hal ini disebabkan oleh adanya perubahan suhu pada setiap perlakuan, dimana suhu adalah salah faktor utama yang mempengaruhi aktivitas enzim. Enzim akan bekerja secara optimal pada suhu tertentu. Kecepatan reaksi akan meningkat seiring dengan kenaikan suhu pada setiap perlakuan sampai suhu optimal (9). Reaksi kimia akan berlangsung lambat pada suhu rendah, dan akan

berlangsung dengan cepat pada suhu lebih tinggi sampai pada suhu optimal (4).

Hasil penelitian ini sama dan sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Kustiningsih, Y. dkk., (2017) yang menunjukkan peningkatan kadar glukosa darah tiap perlakuan (menggunakan suhu awal reagen yaitu 10°C, 13°C, 16°C, 19°C, 22°C dan 25°C (sebagai kontrol)), dan hasil uji Regresi linier menyimpulkan adanya pengaruh suhu awal reagen terhadap kadar glukosa darah (6).

Hasil penelitian memperlihatkan perlunya melakukan persiapan reagen sesuai dengan petunjuk sebelum melakukan pemeriksaan terutama pemeriksaan metode enzimatik.

4. KESIMPULAN

Rata-rata kadar glukosa darah plasma NaF menggunakan reagen pada suhu 10°C = 69,729 mg/dL; suhu 15°C = 76,982 mg/dL; suhu 20°C = 85,937 mg/dL; dan suhu 25°C = 95,235 mg/dL. Persentase perbedaan kadar glukosa darah plasma NaF pada suhu 10°C = 26,78%; suhu 15°C = 19,17%; suhu 20°C = 9,76%; dan suhu 25°C = 0% (sebagai kontrol). Hasil Uji Regresi linier sederhana menunjukkan adanya hubungan antara variasi suhu reagen dengan kadar glukosa darah plasma NaF. Hasil uji *Anova Oneway* menyimpulkan terdapat pengaruh yang signifikan variasi suhu reagen terhadap kadar glukosa darah plasma NaF, dan dari hasil uji LSD atau uji BNt diketahui beda nyata terdapat pada suhu 10°C-20°C.

Penelitian menyimpulkan ada pengaruh suhu awal reagen terhadap kadar glukosa darah plasma NaF, dimana perbedaan signifikan pada suhu 10°C-20°C.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan penghargaan dan ucapan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Sacher, Ronald.A., & Mc Pherson RA. Tinjauan Klinis Hasil Pemeriksaan Laboratorium. Edisi 11. EGC, Jakarta.; 2004.
2. Puslabkes. Pedoman Praktek Laboratorium Yang Benar. Jakarta: Depkes RI.; 1999.
3. Marks, Dawn.B., Marks, Allan.D., & Smith CM. Biokimia Kedokteran Dasar: Sebuah Pendekatan Klinis. EGC, Jakarta.; 2000.
4. Poedjiadi, Anna., & Supriyanti F. Dasar-Dasar Biokimia. Jakarta: Universitas Indonesia.; 2006.
5. Noviyanti T, Ardiningsih P. Pengaruh Temperatur Terhadap Aktivitas Enzim Protease Dari Daun Sansakng (*Pycnarrhena cauliflora* Diels). J Kim Khatulistiwa [Internet]. 2013;1(1):1-6. Available from:

- <http://jurnal.untan.ac.id/index.php/jkkmi>
[pa/article/view/990](http://jurnal.untan.ac.id/index.php/jkkmi/pa/article/view/990)
6. Yayuk Kustiningsih, Nastiti Megawati, Jasmadi Joko Kartiko LL. Pengaruh Variasi Suhu Awal Reagen Terhadap Kadar Glukosa Darah Metode Enzimatik. 2017;3(1):103–7.
 7. Adimuntja NP. Determinan Aktivitas Self-Care Pada Pasien Dm Tipe 2 Di Rsud Labuang Baji. *J Heal Sci Gorontalo J Heal Sci Community*. 2020;2(2):8–17.
 8. Henry. *Pengertian Glikolisis*. Universitas Gajah Mada, Jakarta;
 9. Ahmad F, Bialangi S. Sedentari Terhadap Kejadian Diabetes Melitus Relationship Of Family History And Sedentari Behavior To The Incidence Of Diabetes Mellitus. *Jambura J*. 2021;3(1):103–14.