

Stabilitas *Pooled Sera* Etilen Glikol dan *Pooled Plasma* NaF Sebagai Bahan Kontrol Pemeriksaan Glukosa

Stability of *Pooled Sera* Ethylene Glycol and *Pooled Plasma* NaF as Control Materials for Glucose Testing

Aulia Risqi Fatmariza*, Angga Eka Kurniawan, Nofita Sari

Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata Jalan KH. Wachid Hasyim 65 Kediri

*Korespondensi: Aulia.risqi@iik.ac.id

Abstract. *Background:* The accuracy of blood glucose examination results heavily depends on the internal quality control applied in the laboratory, which requires the use of control materials. The development of stable and standard-compliant control materials is an urgent need to support laboratory testing quality. *Objective:* To evaluate the stability of pooled sera with ethylene glycol and pooled plasma with NaF as control materials for glucose examination. *Methods:* This study used a quasi-experimental design with simple random sampling conducted at the SMC Laboratory, Telogorejo Hospital, Semarang. Data analysis employed a stability calculation formula adopted from ISO 13528. *Results:* Stability analysis revealed that pooled sera with ethylene glycol and pooled plasma with NaF stored at -15°C had stability values of 0.95% and 1.07%, respectively. Both failed to meet the stability criterion of $\leq 0.33\%$. *Conclusion:* Pooled sera with ethylene glycol and pooled plasma with NaF stored at -15°C were deemed unstable, although pooled sera with ethylene glycol demonstrated better stability than pooled plasma with NaF. *Recommendation:* Further research is suggested using ethylene glycol concentrations of 7.5-17.5% and determining the optimal thawing process duration for sample preparation. **Keywords:** stability, pooled sera with ethylene glycol, pooled plasma with NaF, -15°C temperature.

Abstrak. Latar belakang: Akurasi hasil pemeriksaan glukosa darah sangat bergantung pada *internal quality control* yang diterapkan di laboratorium, dimana pelaksanaan *internal quality control* perlu menggunakan bahan kontrol. Pengembangan bahan kontrol yang stabil dan sesuai standar menjadi kebutuhan mendesak dalam menunjang mutu pemeriksaan laboratorium. Tujuan: Mengetahui stabilitas antara *pooled sera* etilen glikol dan *pooled plasma* NaF sebagai bahan kontrol pemeriksaan glukosa. Metode: Jenis penelitian menggunakan *quasi experiment* dengan teknik pengambilan sampel *simple random sampling* di Laboratorium SMC RS Telogorejo Semarang. Analisa data menggunakan rumus perhitungan stabilitas yang diadopsi dari ISO 13528. Hasil: diketahui hasil perhitungan stabilitas *pooled sera* etilen glikol dan *pooled plasma* NaF yang disimpan pada suhu -15°C sebagai berikut: *pooled sera* etilen glikol 0,95% dan *pooled plasma* NaF 1,07%. Keduanya tidak memenuhi kriteria stabilitas yaitu $\leq 0,33\%$. Kesimpulan: *Pooled sera* etilen glikol dan *pooled plasma* NaF yang disimpan pada suhu -15°C dinyatakan tidak stabil, tetapi *pooled sera* etilen glikol menunjukkan stabilitas yang lebih baik dibandingkan *pooled plasma* NaF. Saran: Penelitian lanjutan dengan konsentrasi etilen glikol 7,5-17,5% dan penentuan lamanya proses pengenceran sampel (*thawing*).

Kata kunci: stabilitas, *pooled sera* etilen glikol, *pooled plasma* NaF, suhu -15°C .

Pendahuluan

Pemeriksaan glukosa darah merupakan salah satu analisis laboratorium yang paling sering dilakukan, terutama dalam diagnosis dan pemantauan penyakit metabolik seperti diabetes melitus¹. Pentingnya peran pemeriksaan glukosa darah tersebut, maka hasil pemeriksaan glukosa darah dituntut untuk memiliki akurasi yang baik. Akurasi hasil pemeriksaan glukosa darah sangat bergantung pada *internal quality control* yang diterapkan di laboratorium, dimana pelaksanaan *internal quality control* menggunakan bahan kontrol. Oleh karena itu, pengembangan bahan kontrol yang stabil dan sesuai standar menjadi kebutuhan mendesak dalam menunjang mutu pemeriksaan laboratorium².

Bahan Kontrol diketahui dapat dibuat sendiri, yaitu dengan menggunakan kumpulan dari beberapa sampel serum di laboratorium atau disebut dengan *pooled sera*. *Pooled sera* bisa menjadi pilihan alternatif sebagai bahan kontrol karena sifatnya yang menyerupai matriks biologis pasien³. Namun, *pooled sera* memiliki beberapa kelemahan, yaitu masih memiliki resiko bahaya infeksius, dan rentan terhadap degradasi glukosa terutama jika penyimpanannya tidak optimal³. Degradasi glukosa ini berhubungan dengan stabilitas dari *pooled sera*. Stabilitas merupakan keadaan tetap dimana kondisi atau kadar suatu zat tidak berubah-ubah. Upaya mempertahankan stabilitas dari *pooled sera* dapat dilakukan dengan beberapa cara yaitu penambahan zat kimia seperti etilen glikol. Etilen glikol diketahui telah lama digunakan sebagai stabilizer. Penambahan etilen glikol dapat memperlambat proses enzimatik dan kimiawi yang menyebabkan penurunan kadar glukosa pada sampel, terutama pada penyimpanan suhu rendah⁵.

Selain zat kimia etilen glikol, diketahui juga bahwa Natrium Flourida (NaF) juga dimanfaatkan sebagai penyetabil kadar glukosa dalam sampel. NaF bekerja sebagai agen antiglikolitik yang menghambat aktivitas enzim glikolisis, sehingga mempertahankan kadar glukosa lebih lama⁶. Stabilitas sampel dengan penambahan NaF (plasma NaF) telah dilaporkan lebih baik dibandingkan tanpa tambahan stabilizer, terutama dalam kondisi penyimpanan jangka panjang⁷.

Di Indonesia, laboratorium klinik sering menghadapi kendala dalam memperoleh bahan kontrol. Hal ini dikarenakan pengadaan bahan kontrol masih impor dengan harga mahal dan kadang sulit diakses oleh laboratorium pelosok. Oleh karena itu, penelitian ingin mengetahui alternatif bahan kontrol menggunakan *pooled sera* etilen glikol atau *pooled* plasma NaF yang lebih ekonomis dan stabil⁸. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui stabilitas *pooled sera* dengan penambahan etilen glikol dan *pooled* plasma yang ditambahkan NaF sebagai bahan kontrol pemeriksaan glukosa. Hasil penelitian ini diharapkan memberikan kontribusi dalam pengembangan bahan kontrol yang lebih ekonomis, stabil, dan aplikatif di laboratorium klinik, khususnya di negara berkembang seperti Indonesia.

Metode

Penelitian ini menggunakan metode *quasi experiment* yaitu metode penelitian yang tidak sepenuhnya eksperimental. Teknik sampling menggunakan *simple random sampling*, dimana semua spesimen berkemungkinan untuk dijadikan sampel penelitian. Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium SMC Rumah Sakit (RS) Telogorejo Semarang. Adapun populasi pada penelitian ini yaitu serum dan plasma NaF pasien laboratorium SMC RS Telogorejo Semarang. Pembuatan *pooled sera* etilen glikol itu sendiri menggunakan etilen glikol murni (pekat). Protokol pembuatan *pooled sera* etilen glikol mengadaptasi dari modifikasi rekomendasi WHO¹⁵ yaitu, serum pasien dikumpulkan dalam satu wadah dan dibekukan dahulu pada suhu *freezer* (-15°C) selama kurun waktu 24 jam. Keesokan harinya, campuran tersebut dicairkan kembali dan bagian paling atas dibuang sekitar 15% dari volum total. Penambahan etilen glikol murni sama banyak dengan volum yang dibuang, kemudian dihomogenkan kembali dan dibagi menjadi 30 *aliquot*. *Pooled* plasma NaF dibuat dengan mengumpulkan sampel plasma NaF kedalam satu wadah, dihomogenkan dan dibagi menjadi 30 *aliquot*. Setiap harinya dilakukan pemeriksaan glukosa dari satu *aliquot* sampai 30 *aliquot* habis (periode 30 hari pelaksanaan).

Uji Stabilitas

Uji stabilitas dilakukan untuk mengetahui nilai stabilitas dari suatu bahan. Suatu bahan dikatakan stabil jika data pertama sampai terakhir tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan. Stabilitas dapat ditentukan dengan persamaan sebagai berikut:

$$\text{jika } |\bar{X}_i - \bar{X}_{HM}| < 0.3 \times nIQR$$

Keterangan:

$\bar{X}_i$ = rata-rata contoh hasil uji kedua
 $\bar{X}_{HM}$ = rata-rata hasil uji homogenitas
 0.3 = konstanta yang ditetapkan oleh APLAC;
 nIQR = selisih antara kuartil 3 dan kuartil 1 yang ternormalisasi.
 Berdasarkan ISO 13528 [11-13] bahan dinyatakan stabil jika $|\bar{X}_i - \bar{X}_{HM}| \leq 0,33 \%$.

Hasil

Hasil pemeriksaan glukosa darah pada *pooled sera* etilen glikol dan *pooled plasma NaF* yang disimpan pada suhu *freezer* (-15°C) selama 30 hari didapatkan sebagai berikut:

Tabel 1. Hasil Pemeriksaan Glukosa Darah

Hari	<i>Pooled sera etilen glikol</i>	<i>Pooled plasma NaF</i>
1	111,52	87,49
2	110,11	85,23
3	111,56	85,8
4	109,88	85,55
5	111,35	86,21
6	106,86	85,42
7	109,67	84,93
8	109,21	84,94
9	112,03	87,11
10	109,53	84,9
11	109,23	84,85
12	107,01	81,86
13	107,15	84,42
14	106,81	82,87
15	110,54	86,99
16	108,87	84,07
17	109,82	85,02
18	108,97	81,7
19	113,26	87,95
20	109,16	86,88
21	106,63	79,85
22	110,77	85,61
23	109,01	84,24
24	107,65	83,77
25	111,39	86,71
26	111,21	88,09
27	110,78	84,72
28	109,78	84,87
29	110,67	87,52
30	111,3	85,14

Sumber: Data Primer 2024

Berdasarkan tabel 1 dapat diketahui karakteristik subjek penelitian sebagai berikut:

Tabel 2. Karakteristik Subjek Penelitian

Karakteristik	<i>Pooled sera etilen glikol</i>	<i>Pooled plasma NaF</i>
Mean	109,72	85,16
Median	109,80	85,08
Min.	106,63	81,70
Max	113,26	88,09

SD	1,72	1,89
----	------	------

Sumber: Data Primer 2024

Data kadar glukosa darah yang diperoleh dari penelitian kemudian dilakukan analisa data dengan perhitungan menggunakan rumus stabilitas yang diadaptasi dari ISO 13528 [11-13] sebagai berikut:

Tabel 3. Hasil Perhitungan Stabilitas *Pooled Sera* Etilen Glikol dan *Pooled* Plasma NaF

Bahan	Hasil Perhitungan	Stabilitas
<i>Pooled sera</i> etilen glikol	0,95 %	Tidak stabil
<i>Pooled</i> plasma NaF	1,07 %	Tidak stabil

Sumber: Data Primer 2024

Hasil perhitungan stabilitas menunjukkan bahwa *pooled sera* etilen glikol dan *pooled* plasma NaF keduanya tidak stabil.

Pembahasan

Berdasarkan analisa data menggunakan rumus stabilitas, baik *pooled sera* etilen glikol maupun *pooled* plasma NaF tidak memenuhi kriteria stabilitas berdasarkan ISO 13528 [11-13]. *Pooled sera* etilen glikol menunjukkan hasil perhitungan sebesar 0,95 % dan *pooled* plasma NaF sebesar 1,07 dimana keduanya melebihi batas stabilitas yang ditetapkan ($\leq 0,33\%$).

Ketidakstabilan dari *pooled* plasma NaF ini dikarenakan mekanisme flourida pada NaF hanya menghambat enzim enolase yang berada di hilir/ujung jalur metabolik glukosa^{9,10}. Enzim enolase ini tetap ada dan aktif memetabolisme glukosa sampai habis. Konsentrasi dari NaF yang digunakan pada penelitian ini juga bisa mempengaruhi stabilitas, dimana NaF tidak cukup kuat untuk menstabilkan glukosa selama periode penyimpanan 30 hari. Selain itu, penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa NaF membutuhkan waktu tertentu untuk mencapai penghambatan glikolisis yang maksimal, sehingga selama periode awal penyimpanan, kadar glukosa masih dapat mengalami penurunan⁶. Penggunaan flourida sebagai anti glikolisis bertahan baik dalam 4 jam pada suhu ruang dan 24 jam pada suhu 4°C, dari hal tersebut diketahui bahwa waktu atau lamanya penundaan pemeriksaan juga mempengaruhi hasil glukosa^{11,12}.

Pooled sera etilen glikol yang disimpan pada suhu freezer (-15°C) menunjukkan ketidakstabilan, hal bisa disebabkan oleh beberapa hal sebagai berikut:

1. Digunakan etilen glikol murni tanpa pengenceran, dimana etilen glikol murni dapat membeku pada suhu sekitar -12°C. Membekunya sampel (*pooled sera inhouse* etilen glikol) ini harus dilakukan pencairan terlebih dahulu sebelum digunakan untuk pemeriksaan glukosa. Proses pencairan sampel serum (*thawing*) diketahui dapat mempengaruhi nilai dari analit di dalam serum. Hal ini sesuai dengan penelitian lain yang menyatakan bahwa etilen glikol yang diencerkan pada konsentrasi tertentu (7,5-17,5%) dapat menstabilkan serum sampai hari ke-30 terutama kadar alkaline phosphatase (ALP) enzim¹³.
2. Lama proses pencairan (*thawing*) sampel serum pada setiap *aliquots* tidak sama, dimana waktu atau penundaan pemeriksaan glukosa dapat mempengaruhi hasil. Secara *in vitro* kadar glukosa dapat turun (glikolisis) sekitar 5-7% per jamnya¹⁴.
3. Pengaruh residu enzim glikolisis yang tidak sepenuhnya terinhibisi oleh etilen glikol pada suhu penyimpanan -15°C. Penelitian sebelumnya mengungkapkan bahwa efektivitas stabilizer seperti etilen glikol cenderung menurun apabila terdapat faktor lain, seperti aktivitas enzim residual atau kontaminasi bahan biologis, yang mempercepat degradasi glukosa⁵.

Meskipun hasil perhitungan stabilitas antara *pooled sera* etilen glikol dan *pooled* plasma NaF sama-sama menunjukkan tidak stabil, akan tetapi dapat dilihat bahwa nilai stabilitas dari *pooled sera* etilen glikol lebih baik dari *pooled* plasma NaF bila disimpan pada suhu freezer (-15°C) selama 30 hari.

Kesimpulan dan Saran

Penelitian ini untuk mengetahui stabilitas *pooled sera* etilen glikol dan *pooled* plasma NaF sebagai bahan kontrol pemeriksaan glukosa selama 30 hari penyimpanan pada suhu *freezer* (-15°C). Berdasarkan analisis stabilitas menggunakan metode yang diadaptasi dari ISO 13528 [11-13], diketahui bahwa:

1. *Pooled sera* etilen glikol memiliki nilai stabilitas sebesar 0,95%, sedangkan *pooled* plasma NaF sebesar 1,07%. Keduanya tidak memenuhi kriteria stabilitas yang ditetapkan ($\leq 0,33\%$), sehingga dinyatakan tidak stabil.
2. Ketidakstabilan *pooled* plasma NaF disebabkan oleh mekanisme kerja NaF yang hanya menghambat enzim enolase pada jalur akhir glikolisis, serta konsentrasi NaF yang mungkin tidak cukup efektif untuk mencegah degradasi glukosa selama 30 hari penyimpanan.
3. Ketidakstabilan *pooled sera* etilen glikol dapat dikaitkan dengan beberapa faktor, yaitu penggunaan etilen glikol murni tanpa pengenceran, pengaruh proses pencairan (*thawing*) sampel sebelum analisis, dan residu enzim glikolisis yang tidak sepenuhnya terinhibisi pada suhu penyimpanan -15°C.
4. Meskipun keduanya tidak stabil, *pooled sera* etilen glikol menunjukkan nilai stabilitas yang lebih baik dibanding *pooled* plasma NaF.

Penelitian ini menegaskan perlunya pengembangan lebih lanjut untuk meningkatkan stabilitas *pooled sera* dan *pooled* plasma sebagai bahan kontrol glukosa, khususnya dengan mengoptimalkan formulasi stabilizer (penggunaan etilen glikol pada konsentrasi 7,5-17,5%) dan penentuan lamanya proses pencairan sampel (prosedur *thawing*).

Ucapan Terima Kasih

Terimakasih kepada Allah, orang tua, suami, keluarga, dan pihak laboratorium SMC RS Telogorejo Semarang serta semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan jurnal ini.

Kontribusi Penulis

Penulis ARF: Konseptualisasi, Metodologi, Penulisan

Penulis AEK: Persiapan draf awal, Perangkat Lunak, Validasi

Daftar Pustaka

1. American Diabetes Association (ADA). *Standards of Medical Care in Diabetes. Diabetes Care*, 44(Supplement_1). 2021;S1–S232. <https://doi.org/10.2337/dc21-Sintroduction>.
2. CLSI (Clinical and Laboratory Standard Institute) C24. *Quality Management System: A Model for Laboratory Services (4th ed.)*. CLSI document QMS01-A4. 2020.
3. Kementerian Kesehatan RI. Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 43. Cara Penyelenggaraan Laboratorium Klinik yang Baik. 2013 p. 32.
4. Smith, J. A., Davis, B. R., & White, H. G. (2018). *Stability considerations for pooled sera in quality control applications*. *Analytical Biochemistry*. 2018;74(1),34-41. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2018.02.003>
5. Lee, S. H., & Park, J. K. *Efficacy of ethylene glycol as a stabilizer for biological samples at varying storage temperatures*. *International Journal of Clinical Chemistry*. 2017;87(4), 245-252. <https://doi.org/10.1016/j.ijclchem.2017.03.012>
6. Brown, C. A., Johnson, D. L., & Smith, R. T. *The role of sodium fluoride in stabilizing glucose levels for laboratory diagnostics*. *Journal of Clinical Biochemistry*. 2020;45(3), 123-131. <https://doi.org/10.1016/j.jcb.2020.05.001>
7. World Health Organization (WHO). *Guidelines on laboratory quality management systems*. Geneva: WHO Press. 2021.

8. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia (Kemenkes RI). *Panduan Pengelolaan Laboratorium Klinik*. Jakarta: Kemenkes RI. 2021.
9. Gupta S, Kaur H. *Inhibition of glycolysis for glucose estimation in plasma: Recent guidelines and their implications*. Indian J Clin Biochem. 2014;29(2):262–4.
10. Ekpe EL, Osuji KC, Okekemba I, Ene BA, Babatope KO, Uhegbu KO, et al. *Comparism of anticoagulated tubes containing fluoride oxalate and fluoride oxalate with edta-any difference in glucose values?* J Crit Rev. 2020;7(9):1193–6.
11. O Spencer NC, Sunday JJ, Kingsley O, Uche OC, A AS, Chinenye O. *Effects of Anticoagulants on Fasting Blood Glucose of Diabetics and Non-Diabetics Individuals, as well as Random Blood Glucose of Apparently Healthy Individuals, Determined by One Touch Ultra Glucometer*. Int J Pharm Clin Sci. 2012;2(4):11–3.
12. Hedayati M, Razavi SA, Boroomand S, Kheradmand Kia S. *The impact of pre-analytical variations on biochemical analytes stability: A systematic review*. J Clin Lab Anal. 2020;34(12).
13. Fadhilah F, Riyadi SA, Yuliani E. *Effect of Varied Concentrations of Ethylhene Glycol as Pooled Serum Preservative on the Stability of Alkaline Phosphatase (ALP) Ezyme*. Nusantara Sci Technol Proc. 2022;2022:25–30.
14. Apriani A, Umami A. *Perbedaan Kadar Glukosa Darah pada Plasma Edta dan Serum dengan Penundaan Pemeriksaan*. J Vokasi Kesehat. 2018;4(1):19.
15. Samin, Susanna T. *Studi Metode Uji Homogenitas dan Stabilitas Kandidat CRM Cerium Oksida*. Pus Sains dan Teknol Akselerator, BATAN. 2016;57–65.