

PERBANDINGAN KUALITAS ANALITIK METODE *BERTHELOT* DAN METODE *GLUTAMATE DEHYDROGENASE* (GLDH) TERHADAP PEMERIKSAAN KADAR UREUM NORMAL DAN ABNORMAL

Yeyen Yuliyanti

Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Surabaya; yeyen.yuli9@gmail.com

Anik Handayati

Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Surabaya; Anik_handayati@yahoo.co.id

Anita Dwi Anggraini

Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Surabaya; anita.anggraini40@yahoo.com

ABSTRACT

Kidney is one of organ that play an important role in metabolism process such as excretion function, water and electrolite balance, and endocrine function. Ureum test is able to identify kidney function disease earlier, so that it could help physician to prevent kidney failure. Enzimatic colorimetric method Berthelot and UV GLDH (Glutamate Dehydrogenase) are methods often used in Indonesia due to its convenience in operational; its affordable reagent, and its enzyme specificity that only react to only one substrate. The purpose of this research is to compare analytical quality between Berthelot method and GLDH method in order to be used as ureum test method reference. This research was done on October 2020 until June 2021 at Clinical Chemistry Laboratory Analis Kesehatan Politeknik Kesehatan Surabaya College using Photometer 5010. Sample of this research used serum obtained from Rumah Sakit Umum Haji Surabaya patient with normal and abnormality ureum level and normal and abnormality control serum. Analitical quality measurement was done with observing several factors such as accuracy, precision, linearity, analitical sensitivity, detection limit, and limit of quantitation. Result shows GLDH method has better analitical sensitivity, accuracy, detection limit and limit of quantitation, whereas berthelot method has better linearity and precision. According to the result, this research concludes that GLDH method has better analytical quality than Berthelot method of normal and abnormality ureum level test.

Keywords: *Analytical Quality; Berthelot; GLDH (Glutamate Dehydrogenase)*

ABSTRAK

Ginjal merupakan organ yang berperan dalam metabolisme tubuh seperti fungsi ekskresi, keseimbangan air dan elektrolit, serta fungsi endokrin. Pemeriksaan ureum dapat mengidentifikasi gangguan fungsi ginjal lebih awal sehingga dapat membantu dokter dalam melakukan tindakan untuk mencegah progresivitas gangguan ginjal menjadi gagal ginjal. Di Indonesia, metode yang paling banyak digunakan untuk pemeriksaan ureum adalah metode enzimatik kolorimetrik *berthelot* dan metode enzimatik UV GLDH (*Glutamate Dehydrogenase*) karena mudah, cepat, dan sederhana dalam hal pengoperasian; memiliki harga reagen yang terjangkau; dan spesifik karena enzim hanya mempunyai satu substrat tertentu. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan kualitas analitik antara metode *berthelot* dan metode GLDH sehingga dapat digunakan sebagai rujukan dalam hal memilih metode yang lebih baik untuk pemeriksaan ureum. Penelitian ini dilakukan pada bulan Oktober 2020 sampai Juni 2021 di Laboratorium Kimia Klinik Kampus Analis Kesehatan Politeknik Kesehatan Surabaya menggunakan alat fotometer 5010 dan sampel yang berupa serum pasien dengan kadar ureum normal dan abnormal yang berasal dari pasien di Rumah Sakit Umum Haji Surabaya, kemudian serum kontrol normal dan abnormal, selanjutnya dilakukan pengukuran kualitas analitik yaitu akurasi, presisi, linieritas, sensitivitas analitik, batas deteksi, dan batas kuantitasi. Hasil penelitian menunjukkan metode GLDH memiliki sensitivitas analitik, akurasi, batas deteksi dan batas kuantitasi yang lebih baik daripada metode *berthelot*. Sedangkan metode *berthelot* memiliki linieritas dan presisi yang lebih baik daripada metode GLDH. Oleh sebab itu, dapat disimpulkan bahwa metode GLDH (*Glutamate Dehydrogenase*) memiliki kualitas analitik yang lebih baik daripada metode *berthelot* terhadap pemeriksaan kadar ureum normal dan abnormal.

Kata Kunci: *Kualitas Analitik, Berthelot, GLDH (Glutamate Dehydrogenase)*

PENDAHULUAN

Ginjal merupakan salah satu organ tubuh manusia yang penting dan berperan dalam metabolisme tubuh seperti fungsi ekskresi, keseimbangan air dan elektrolit, serta fungsi endokrin. Pemeriksaan laboratorium dapat mengidentifikasi gangguan fungsi ginjal lebih awal sehingga dapat membantu dokter dalam melakukan tindakan

(pengobatan/terapi) lebih awal untuk mencegah progresivitas gangguan ginjal menjadi gagal ginjal. Beberapa metode pemeriksaan laboratorium dapat digunakan untuk mengevaluasi fungsi ginjal, salah satu contohnya adalah pemeriksaan kadar urea.⁽²⁴⁾ Fungsi ginjal yang abnormal ditandai dengan penurunan laju filtrasi glomerulus (GFR), peningkatan kadar ureum dan peningkatan kadar kreatinin.⁽⁴⁾ Urea adalah produk akhir dari siklus nitrogen di dalam hati. Urea di dalam darah atau di dalam urine merupakan penanda penting untuk diagnosis penyakit ginjal.⁽¹⁹⁾ Urea dibentuk dari hasil siklus urea di dalam tubuh yang berasal dari amonia atau oleh oksidasi asam amino di dalam hati. Ekskresi urea dilakukan oleh ginjal melalui urine atau keringat.⁽⁷⁾ Urea merupakan hasil akhir metabolisme protein di dalam hati. Amonia yang merupakan hasil katabolisme protein akan bereaksi dengan karbon dioksida yang merupakan hasil respirasi sel di dalam tubuh dan akan menghasilkan urea yang mencapai ginjal dan diekskresi rata-rata 30 gram sehari.⁽⁶⁾ Penilaian uji di laboratorium klinik memerlukan akurasi, presisi dan keandalan dari kualitas analitik. Reliabilitas data atau keandalan suatu data merupakan syarat yang harus dimiliki oleh suatu laboratorium.⁽²³⁾ Istilah “Kualitas Analitik” dapat di definisikan dalam beberapa cara tergantung pada konteksnya. Dalam hal standar laboratorium klinik, ini berarti kualitas dalam karakteristik kinerja; keakuratan metode yang digunakan untuk penetapan dan penggunaan interval referensi; stabilitas jangka panjangnya; dan penerapannya pada berbagai instrumen.⁽¹⁵⁾

Validasi metode adalah konfirmasi suatu metode melalui pengujian dan pemberian bukti bahwa syarat-syarat tertentu dari suatu metode telah dipenuhi.⁽²³⁾ Validasi metode analisis dilakukan untuk mendapatkan hasil pemeriksaan yang valid dan dapat dipertanggung jawabkan secara ilmiah.⁽⁸⁾ Sebelum dapat diusulkan untuk menggantikan metode analisis yang lama atau digunakan sebagai metode analisis standar, suatu metode analisis yang baru atau metode analisis yang dimodifikasi, harus dibuktikan validitasnya.⁽²⁾ Memilih suatu metode harus berdasarkan tinjauan literatur ilmiah yang relevan; pengumpulan sampel, penyimpanan sampel, pengiriman sampel, dan volume sampel yang dibutuhkan untuk pemeriksaan; pembuangan limbah berbahaya; ketersediaan instrumen serta dukungan teknis.⁽¹⁵⁾ Verifikasi merupakan pengujian kinerja suatu metode standar sebelum diterapkan di suatu laboratorium.⁽²³⁾ Verifikasi metode uji bertujuan sebagai jaminan mutu, evaluasi kesesuaian metode, kompetensi laboratorium dan pemenuhan peraturan (sistem manajemen mutu).⁽²²⁾ Data yang berkaitan dengan akurasi, presisi dan lain-lain merupakan bagian dari standarisasi metode pada tes eksperimental dalam validasi atau verifikasi.⁽²⁰⁾

Prinsip pemeriksaan urea dengan metode *berthelot* adalah urea dihidrolisis oleh enzim *urease* menjadi amonia dan karbon dioksida (CO₂). Kemudian amonia bereaksi dengan alkali hipoklorit dan natrium salisilat, dan dengan adanya natrium nitropusida membentuk warna kompleks berwarna hijau. Intensitas warna yang terbentuk sebanding dengan kadar urea dalam sampel. Pengukuran dilakukan pada panjang gelombang 578 nm.⁽⁶⁾ Pada metode GLDH, urea dihidrolisis oleh enzim *urease* membentuk amonia dan karbon dioksida (CO₂). Amonia yang dihasilkan bereaksi dengan *2-oxoglutarate* dan dengan adanya enzim *glutamate dehydrogenase* akan membentuk *glutamate*. Dalam prosesnya NADH teroksidasi menjadi NAD⁺. Pengukuran dilakukan pada panjang gelombang 340 nm.⁽¹⁵⁾

Patke & Kansara pada tahun 2018 melaporkan bahwa metode *DAM* menunjukkan hasil kualitas analitik (*analytical range, percentage recovery, sensitivity, accuracy, precision dan detection limit*) yang lebih baik daripada metode *berthelot* dalam pengukuran *blood urea nitrogen*.⁽¹⁵⁾ Penelitian ini dilakukan di India. Sedangkan di Indonesia saat ini, metode yang paling banyak digunakan di laboratorium klinik baik di rumah sakit maupun di laboratorium klinik swasta untuk mengukur ureum adalah metode *berthelot* dan metode GLDH (*Glutamate Dehydrogenase*) karena mudah, cepat, dan sederhana dalam hal pengoperasian; memiliki harga reagen yang terjangkau; dan spesifik karena enzim hanya mempunyai satu substrat tertentu. Metode *berthelot* memiliki harga reagen yang lebih murah daripada metode GLDH, namun dalam pemeriksaan dengan menggunakan metode *berthelot* membutuhkan waktu penyelesaian (*turn around time*) yang lebih lama daripada metode GLDH. Walaupun metode *berthelot* membutuhkan waktu yang lama dalam inkubasi, namun metode *berthelot* lebih stabil daripada metode GLDH. Berdasarkan hasil pemeriksaan, menurut Utami pada tahun 2014 kadar ureum yang diperiksa menggunakan metode *berthelot* dan metode GLDH tidak menunjukkan adanya perbedaan secara bermakna.

Berdasarkan uraian tersebut, mendorong peneliti untuk melakukan penelitian tentang perbandingan kualitas analitik antara metode *berthelot* dan metode GLDH. Kualitas analitik dari kedua metode tersebut dievaluasi dengan penentuan akurasi, presisi, linieritas, sensitivitas analitik, batas deteksi dan batas kuantitasi. Dengan demikian, tujuan utama dari penelitian ini adalah untuk membandingkan kualitas analitik dari dua metode yaitu metode *berthelot* dan metode GLDH terhadap pemeriksaan kadar ureum normal dan abnormal, sehingga dapat digunakan sebagai rujukan dalam hal memilih metode yang lebih baik untuk pemeriksaan ureum.

METODE

Jenis penelitian ini adalah penelitian komparatif yang membandingkan satu variabel atau lebih pada dua atau lebih sampel yang berbeda dengan pendekatan *cross sectional* yaitu dalam satu tahapan atau satu periode waktu.⁽²¹⁾ Penelitian ini dilakukan untuk membandingkan kualitas analitik antara metode *berthelot* dan metode GLDH terhadap pemeriksaan kadar ureum normal dan abnormal. Populasi yang digunakan adalah sampel serum yang diperiksa kadar urea di Rumah Sakit Umum Haji Surabaya pada periode tahun 2021 bulan Februari. Teknik pengambilan sampel yang digunakan adalah *purposive sampling*, yaitu teknik penentuan sampel dengan pertimbangan tertentu atau seleksi khusus. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah bagian dari populasi yang memenuhi kriteria inklusi yaitu sampel darah tidak lipemik, tidak hemolisis, dan tidak ikterik dengan jumlah sampel adalah 25 serum pasien dengan kadar ureum normal dan 25 serum pasien dengan kadar ureum abnormal (tinggi). Penelitian dilakukan di bulan Oktober tahun 2020 sampai bulan Juni tahun 2021 di Laboratorium Kimia Klinik Kampus Analis Kesehatan Politeknik Kesehatan Surabaya.

Variabel bebas pada penelitian ini adalah metode *berthelot* dan metode GLDH (*Glutamate Dehydrogenase*), kemudian variabel terikatnya adalah kualitas analitik yang akan diukur yaitu akurasi, presisi, linieritas, sensitivitas analitik, batas deteksi dan batas kuantitasi, dan variabel kontrolnya adalah alat untuk pemeriksaan ureum, suhu pemeriksaan, suhu ruang, waktu pemeriksaan dan waktu inkubasi. Data yang dikumpulkan dalam penelitian ini adalah data primer dan data tambahan. Data primer dikumpulkan dengan menggunakan metode *individualizing comparison contrast* yang membandingkan di setiap parameter-parameter yang di ukur yaitu akurasi, presisi, linieritas, sensitivitas analitik, batas deteksi, dan batas kuantitasi. Data tambahan diperoleh dari hasil pemeriksaan ureum metode *glutamate dehydrogenase* menggunakan alat *automatic* di Laboratorium Patologi Klinik Rumah Sakit Umum Haji Surabaya. Data dianalisis dengan teknik statistik pada masing-masing parameter yaitu akurasi, presisi, linieritas, sensitivitas analitik, batas deteksi dan batas kuantitasi. Penelitian ini telah disetujui oleh Komite Etik Penelitian Kesehatan Poltekkes Kemenkes Surabaya dengan nomor Surat Keterangan Laik Etik No.EA/403/KEPK-Poltekkes_Sby/V/2021.

HASIL

Akurasi

Akurasi menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya⁽⁸⁾ atau seberapa jauh hasil menyimpang dari nilai yang sebenarnya (*true value*). Akurasi dapat ditentukan melalui uji bias atau *error test* dengan mengukur bahan kontrol yang telah diketahui konsentrasinya.⁽¹⁶⁾ Perbedaan antara hasil pengukuran dengan nilai benar bahan kontrol merupakan indikator inakurasi pemeriksaan. Perbedaan ini disebut sebagai bias (*d*%). Semakin kecil *d* (%), maka semakin tinggi akurasi pemeriksaan.

Tabel 1. Hasil pengukuran nilai bias metode *berthelot* dan metode GLDH

	METODE BERTHELOT		METODE GLDH	
	Serum Kontrol Normal	Serum Kontrol Abnormal	Serum Kontrol Normal	Serum Kontrol Abnormal
Rata-Rata	33,7 mg/dL	76,3 mg/dL	32,8 mg/dL	74,5 mg/dL
True Value (NA)	32,3 mg/Dl	72,0 mg/dL	32,6 mg/dL	75,1 mg/dL
d% (Bias)	4,33%	5,97%	0,60%	0,79%

Presisi

Presisi merupakan kemampuan metode analitik untuk menghasilkan nilai yang sama saat pengukuran berulang dari sampel yang sama. Presisi memiliki 3 komponen berbeda yaitu *within run precision* (menentukan ketidaktepatan dalam proses) adalah nilai presisi yang diperoleh dengan metode yang sama, pereaksi yang sama, oleh operator yang sama, peralatan yang sama, pada sampel yang sama di laboratorium yang sama dan dalam interval waktu yang singkat. *Between run precision* (menentukan ketidaktepatan proses pada hari yang sama) berkaitan dengan variasi hasil yang diamati pada satu atau lebih faktor seperti waktu, peralatan, operator, dan variasi dalam laboratorium. *Between day precision* (menentukan ketidaktepatan pada hari yang berbeda) adalah hasil dari variasi *inter-laboratory* karena peristiwa acak seperti hari yang berbeda, laboran yang berbeda, peralatan yang berbeda dan lain-lain.⁽¹⁵⁾ Tingkat presisi biasanya diekspresikan berdasarkan pengukuran statistik impresisi, seperti SD atau CV, yang berbanding terbalik dengan presisi.⁽³⁾

Tabel 2. Hasil pengukuran nilai presisi metode *berthelot*

	<i>Within Run Precision</i>		<i>Between Run Precision</i>		<i>Between Day Precision</i>	
	Serum Kontrol Normal	Serum Kontrol Abnormal	Serum Kontrol Normal	Serum Kontrol Abnormal	Serum Kontrol Normal	Serum Kontrol Abnormal
Rata-Rata (mg/dL)	47,9	118,4	44,5	101	39,2	78,6
Standar Deviasi (SD)	0,87	4,19	3,60	18,22	0,91	1,64
Koefisien Variasi (CV)	1,82%	3,54%	8,09%	18,04%	2,34%	2,09%

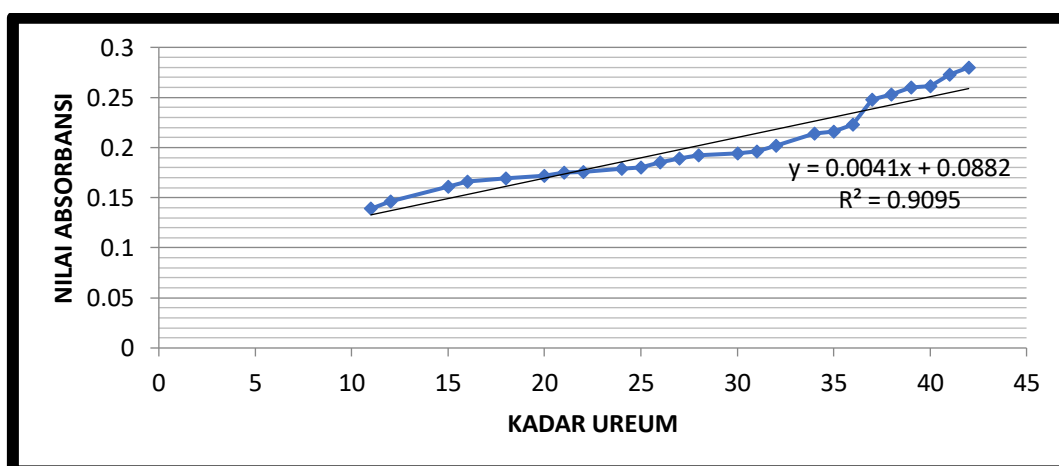
Tabel 3. Hasil pengukuran nilai presisi metode GLDH

	<i>Within Run Precision</i>		<i>Between Run Precision</i>		<i>Between Day Precision</i>	
	Serum Kontrol Normal	Serum Kontrol Abnormal	Serum Kontrol Normal	Serum Kontrol Abnormal	Serum Kontrol Normal	Serum Kontrol Abnormal
Rata-Rata (mg/dL)	31,9	77,5	35,5	75,4	38,1	60
Standar Deviasi (SD)	1,28	6,25	4,01	5,62	1,96	5,09
Koefisien Variasi (CV)	4,03%	8,07%	11,32%	7,45%	5,16%	8,49%

Linieritas dan Sensitivitas Analitik

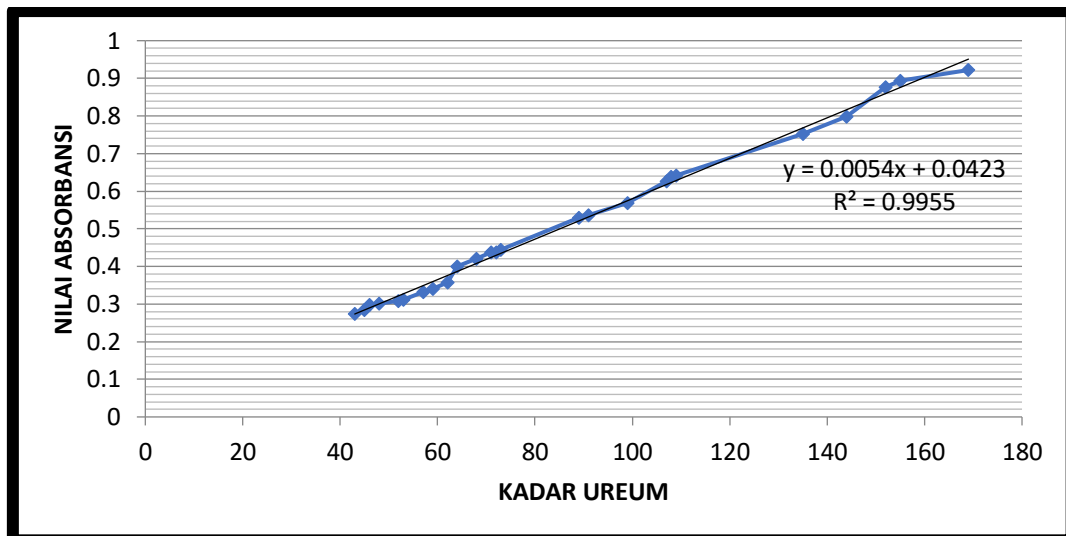
Nilai linieritas menunjukkan bahwa hasil pemeriksaan sebanding dengan konsentrasi analit yang diukur.⁽⁵⁾ Linearitas biasanya dinyatakan dalam istilah variansi sekitar arah garis regresi yang dihitung berdasarkan persamaan matematik data yang diperoleh dari hasil uji analit dalam sampel dengan berbagai konsentrasi analit.⁽¹⁸⁾

Nilai sensitivitas analitik merupakan kemampuan suatu metode analisis untuk menilai variasi-variasi kecil dalam konsentrasi analit. Semakin kecil variasi acak dan semakin curam kemiringannya, semakin besar kemampuan untuk membedakan perbedaan kecil dalam konsentrasi analit.⁽³⁾



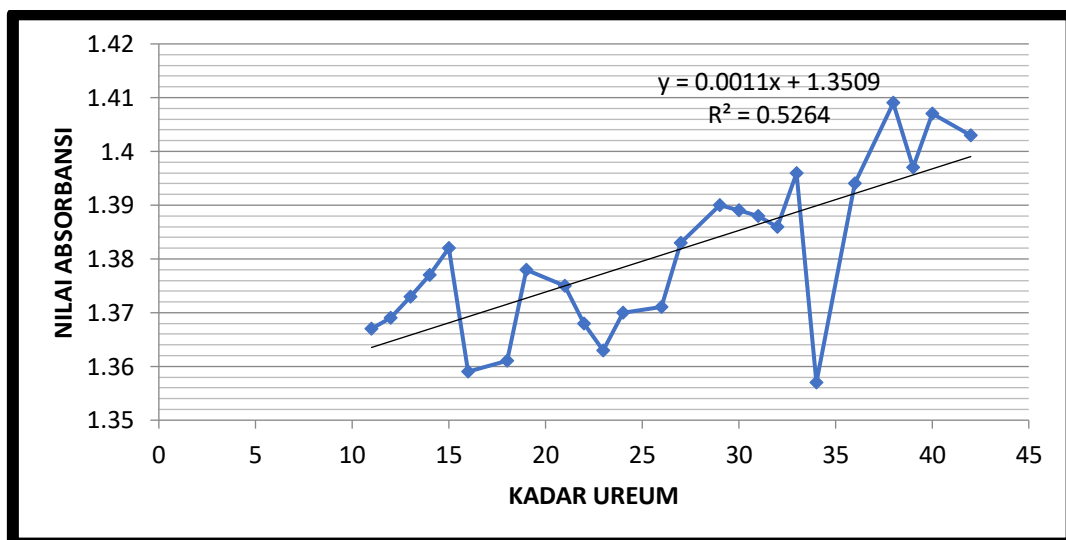
Gambar 1. Gravik kurva ureum normal metode *berthelot*

Pembuatan kurva kalibrasi digunakan sebagai penentuan hubungan kadar ureum dengan hasil pembacaan absorbansi sampel sehingga dapat diketahui kadar ureum (x) yang ada dalam sampel dengan nilai absorbansi (y) yang terukur. Berdasarkan gambar tersebut hasil persamaan $y = 0,004x + 0,088$ didapat nilai R^2 sebesar 0,909. Hal ini menunjukkan bahwa nilai linieritas metode *berthelot* pada ureum normal adalah 0,909 dan nilai sensitivitas analitiknya adalah 0,004.



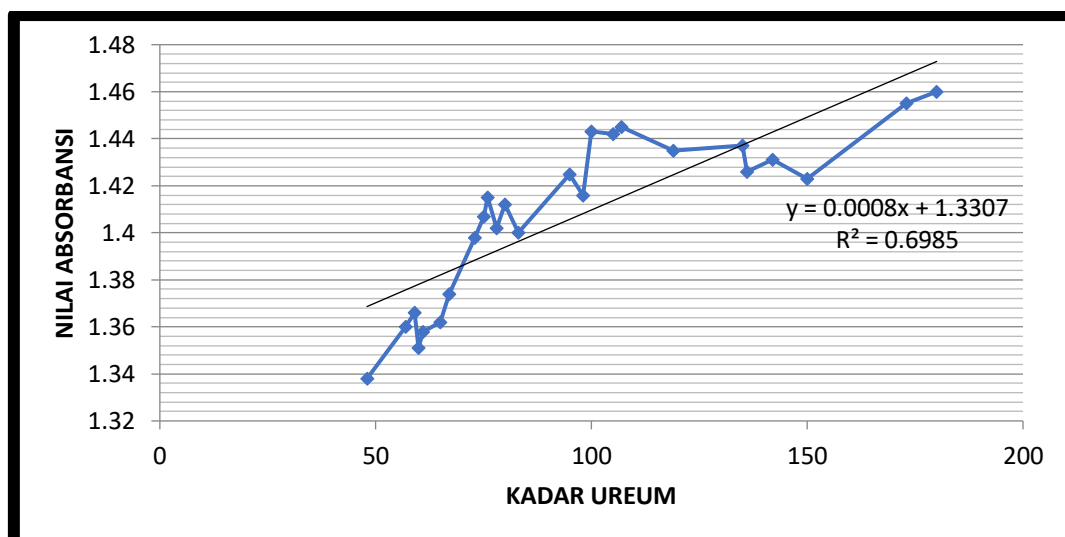
Gambar 2. Gravitik kurva ureum abnormal metode *berthelot*

Pembuatan kurva kalibrasi digunakan sebagai penentuan hubungan kadar ureum dengan hasil pembacaan absorbansi sampel sehingga dapat diketahui kadar ureum (x) yang ada dalam sampel dengan nilai absorbansi (y) yang terukur. Berdasarkan gambar 5.2 hasil persamaan $y = 0,005x + 0,042$ didapat nilai R^2 sebesar 0,995. Hal ini menunjukkan bahwa nilai linieritas metode *berthelot* pada ureum abnormal adalah 0,995 dan nilai sensitivitas analitiknya adalah 0,005.



Gambar 3. Gravitik kurva ureum normal metode GLDH

Pembuatan kurva kalibrasi digunakan sebagai penentuan hubungan kadar ureum dengan hasil pembacaan absorbansi sampel sehingga dapat diketahui kadar ureum (x) yang ada dalam sampel dengan nilai absorbansi (y) yang terukur. Berdasarkan gambar 5.3 hasil persamaan $y = 0,001x + 1,350$ didapat nilai R^2 sebesar 0,526. Hal ini menunjukkan bahwa nilai linieritas metode GLDH pada ureum normal adalah 0,526 dan nilai sensitivitas analitiknya adalah 0,001.



Gambar 4. Gravitik kurva ureum abnormal metode GLDH

Pembuatan kurva kalibrasi digunakan sebagai penentuan hubungan kadar ureum dengan hasil pembacaan absorbansi sampel sehingga dapat diketahui kadar ureum (x) yang ada dalam sampel dengan nilai absorbansi (y) yang terukur. Berdasarkan gambar 5.4 hasil persamaan $y = 0,000x + 1,330$ didapat nilai R^2 sebesar 0,698. Hal ini menunjukkan bahwa nilai linieritas metode GLDH pada ureum abnormal adalah 0,698 dan nilai sensitivitas analitiknya adalah 0,000.

Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi

Batas deteksi adalah batas dimana konsentrasi analit terkecil dalam suatu sampel masih bisa terdeteksi pada metode analisis.⁽¹⁶⁾ Tujuan penentuan batas deteksi yaitu untuk mengetahui jumlah terkecil analit yang masih bisa dideteksi namun tidak perlu dapat terukur.⁽¹⁷⁾ Batas deteksi didapatkan dari rata-rata yang ditambahkan 3SD.

Batas kuantitasi merupakan konsentrasi terendah dari analit yang dapat ditentukan dengan presisi dan akurasi yang dapat diterima.⁽¹⁾ Tujuan penentuan batas kuantitasi yaitu untuk mengetahui jumlah terkecil analit yang masih bisa diukur dengan akurat.⁽¹⁷⁾ Batas kuantitasi didapatkan dari rata-rata yang ditambahkan 10SD.

Tabel 4. Hasil pengukuran nilai batas deteksi dan batas kuantitasi metode *berthelot* dan metode GLDH

Metode	Rata-Rata Kadar Blanko Reagen	Standar Deviasi	Batas Deteksi	Batas Kuantitasi
BERTHELOT	3,1 mg/dL	1,449	7,447 mg/dL	17,591 mg/dL
GLDH	1,2 mg/dL	0,421	2,464 mg/dL	5,416 mg/dL

PEMBAHASAN

Akurasi menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya⁽⁸⁾ atau seberapa jauh hasil menyimpang dari nilai yang sebenarnya (*true value*). Nilai replikasi analisis semakin dekat dengan sampel yang sebenarnya maka semakin akurat. Pergeseran hasil pemeriksaan dari hasil sebenarnya menunjukkan kesalahan sistematis.⁽¹¹⁾ Kesalahan sistematis umumnya disebabkan oleh spesifisitas reagen/metode pemeriksaan yang rendah (mutu reagen), *blanko* sampel dan *blanko* reagen kurang tepat (kurva kalibrasi tidak linear), mutu reagen kalibrasi kurang baik, alat bantu (pipet) kurang akurat, panjang gelombang yang dipakai, dan salah cara melarutkan reagen.⁽²⁰⁾ Akurasi dapat diukur secara kuantitatif, dalam ukuran inakurasi. Perbedaan antara hasil pengukuran dengan nilai benar bahan kontrol merupakan indikator inakurasi pemeriksaan. Perbedaan ini disebut sebagai bias (d%). Semakin kecil d (%), maka semakin tinggi akurasi pemeriksaan. Metode GLDH memiliki nilai bias yang lebih kecil dari pada metode *berthelot* baik pada serum kontrol dengan kadar ureum normal ataupun serum kontrol dengan kadar ureum abnormal, ini berarti bahwa metode GLDH memiliki akurasi yang lebih baik daripada metode *berthelot* baik pada serum kontrol dengan kadar ureum normal ataupun serum kontrol dengan kadar ureum abnormal.

Presisi merupakan kemampuan metode analitik untuk menghasilkan nilai yang sama saat pengukuran berulang dari sampel yang sama. Presisi memiliki 3 komponen berbeda yaitu *within run precision* (menentukan ketidaktepatan dalam proses), *between run precision* (menentukan ketidaktepatan proses pada hari yang sama), dan *between day precision* (menentukan ketidaktepatan pada hari yang berbeda).⁽¹⁵⁾ Presisi dapat ditentukan dengan menganalisis sampel berulang-ulang (minimal 6 x pengulangan) kemudian menghitung nilai simpangan baku (SD) dan dari nilai simpangan baku tersebut dapat dihitung nilai koefisien variasi (CV).⁽¹⁸⁾ Pengukuran imprecisi terkait dengan kesalahan acak dan tidak ada hubungannya dengan akurasi pengukuran.⁽³⁾ Presisi dapat mengetahui kesalahan acak yang berasal dari persiapan sampel seperti pipetasi, standar pengenceran, kondisi alat yang digunakan, ketidakstabilan instrumen, variasi suhu, reagen, perbedaan teknologi, dan operator yang berbeda. Semakin kecil nilai CV, maka semakin presisi suatu metode.⁽²⁰⁾ *Within run precision* adalah nilai presisi yang diperoleh dengan metode yang sama, pereaksi yang sama, oleh operator yang sama, peralatan yang sama, pada sampel yang sama di laboratorium yang sama dan dalam interval waktu yang singkat.⁽²⁵⁾ Pada *within run precision*, metode *berthelot* memiliki nilai CV yang lebih kecil dari pada metode GLDH baik pada serum kontrol dengan kadar ureum normal ataupun serum kontrol dengan kadar ureum abnormal, ini berarti bahwa metode *berthelot* memiliki *within run precision* yang lebih baik daripada metode GLDH baik pada serum kontrol dengan kadar ureum normal ataupun serum kontrol dengan kadar ureum abnormal. *Between run precision* berkaitan dengan variasi hasil yang diamati pada satu atau lebih faktor seperti waktu, peralatan, operator, dan variasi dalam laboratorium.⁽¹¹⁾ Pada *between run precision*, metode *berthelot* memiliki nilai CV yang lebih kecil dari pada metode GLDH pada serum kontrol dengan kadar ureum normal namun lebih besar pada serum kontrol dengan kadar ureum abnormal. *Between day precision* adalah hasil dari variasi *inter-laboratory* karena peristiwa acak seperti hari yang berbeda, laboran yang berbeda, peralatan yang berbeda dan lain-lain. Tujuan dari *between day precision* adalah untuk memverifikasi bahwa di laboratorium yang sama, metode tersebut akan memberikan hasil yang sama.⁽¹²⁾ Pada *between day precision*, metode *berthelot* memiliki nilai CV yang lebih kecil dari pada metode GLDH baik pada serum kontrol dengan kadar ureum normal ataupun serum kontrol dengan kadar ureum abnormal, ini berarti bahwa metode *berthelot* memiliki *between day precision* yang lebih baik daripada metode GLDH baik pada serum kontrol dengan kadar ureum normal ataupun serum kontrol dengan kadar ureum abnormal. Sehingga dapat disimpulkan bahwa metode *berthelot* memiliki presisi lebih baik daripada metode GLDH (*Glutamate Dehydrogenase*).

Linieritas menunjukkan bahwa hasil pemeriksaan sebanding dengan konsentrasi/aktivitas analit yang diukur.⁽⁵⁾ Linearitas biasanya dinyatakan dalam istilah variansi sekitar arah garis regresi yang dihitung berdasarkan persamaan matematik data yang diperoleh dari hasil uji analit dalam sampel dengan berbagai konsentrasi analit.⁽¹⁸⁾ Hubungan kadar ureum dalam sampel (x) dan nilai absorbansi (y) sempurna jika nilai (r) adalah (+1) atau r adalah (-1). Bila (r) mendekati +1 atau -1, maka hubungan antara kedua variabel kuat dan dikatakan terdapat korelasi yang tinggi antara keduanya.⁽¹³⁾ Semakin tinggi nilai (r), maka semakin baik nilai linieritas suatu metode. Metode *berthelot* memiliki nilai linieritas yang lebih tinggi daripada metode GLDH baik yang diukur pada serum dengan kadar ureum normal ataupun serum dengan kadar ureum abnormal, ini menandakan metode *berthelot* memiliki linieritas yang lebih baik dari pada metode GLDH baik yang diukur pada serum dengan kadar ureum normal ataupun serum dengan kadar ureum abnormal.

Sensitivitas analitik merupakan kemampuan suatu metode analisis untuk menilai variasi-variasi kecil dalam konsentrasi analit. Sensitivitas analitik dinyatakan dengan *slope* (b) atau kemiringan kurva kalibrasi dari grafik absorbansi terhadap konsentrasi yang ditunjukkan.⁽⁹⁾ Semakin kecil variasi acak dan semakin curam kemiringannya, semakin besar kemampuan untuk membedakan perbedaan kecil dalam konsentrasi analit.⁽³⁾ Metode GLDH memiliki nilai sensitivitas analitik yang lebih kecil daripada metode *berthelot* baik yang diukur pada serum dengan kadar ureum normal ataupun pada serum dengan kadar ureum abnormal, ini menandakan metode GLDH memiliki sensitivitas analitik yang lebih baik dari pada metode *berthelot* baik yang diukur pada serum dengan kadar ureum normal ataupun pada serum dengan kadar ureum abnormal.

Batas deteksi adalah batas dimana konsentrasi analit terkecil dalam suatu sampel masih bisa terdeteksi pada metode analisis.⁽¹⁶⁾ Tujuan penentuan batas deteksi yaitu untuk mengetahui jumlah terkecil analit yang masih bisa dideteksi namun tidak perlu dapat terukur.⁽¹⁷⁾ Semakin kecil batas deteksi suatu metode, maka semakin baik suatu metode dalam mendeteksi konsentrasi analit terkecil. Metode GLDH memiliki nilai batas deteksi yang lebih kecil daripada metode *berthelot*, maka dari itu metode GLDH memiliki batas deteksi yang lebih baik daripada metode *berthelot*.

Batas kuantitasi merupakan konsentrasi terendah dari analit yang dapat ditentukan dengan presisi dan akurasi yang dapat diterima.⁽¹⁾ Tujuan penentuan batas kuantitasi yaitu untuk mengetahui jumlah terkecil analit yang masih bisa diukur dengan akurat.⁽¹⁷⁾ Semakin kecil batas kuantitasi suatu metode, maka semakin baik suatu metode dalam mendeteksi konsentrasi analit terkecil secara akurat. Metode GLDH memiliki nilai batas kuantitasi yang lebih kecil daripada metode *berthelot*, maka dari itu metode GLDH memiliki batas kuantitasi yang lebih baik daripada metode *berthelot*.

Berdasarkan penjelasan diatas, metode GLDH (*Glutamate Dehydrogenase*) memiliki sensitivitas analitik, akurasi, batas deteksi dan batas kuantitasi yang lebih baik daripada metode *berthelot*. Sedangkan metode *berthelot* memiliki linieritas dan presisi yang lebih baik daripada metode GLDH (*Glutamate Dehydrogenase*). Metode GLDH bisa dikatakan lebih akurat karena memberikan hasil yang andal.⁽¹⁴⁾ Hal ini dikarenakan metode *berthelot* merupakan salah satu metode berbasis uji kolorimetri yang mana memiliki sensitivitas pendeteksian yang relatif rendah dibandingkan dengan teknologi lain. Dalam uji kolorimetri, sinyal warna yang dapat dideteksi dihasilkan dari enzim dan secara khusus mengubah substrat menjadi molekul berwarna. Oleh karena itu, kepekaan pendeteksiannya sangat ditentukan oleh kinerja enzim.⁽²⁶⁾ Selain itu metode kolorimetri tidak menyertakan langkah-langkah deaktivasi enzim, hal ini mengarah pada tindakan enzimatis terus-menerus pada substrat yang menyebabkan kelebihan nilai titer enzim.⁽¹⁰⁾

Pada penelitian ini, alat yang digunakan adalah *semi automatic* yang memiliki kelemahan daripada alat *full automatic*. Salah satu kelemahan dari penelitian ini adalah pemipetan yang dilakukan oleh peneliti. Pemipetan merupakan proses analitik yang dapat menyebabkan kesalahan acak dan mengakibatkan nilai presisi rendah. Selain itu, pengukuran menggunakan metode GLDH harus segera dilakukan setelah sampel ditambahkan pada *working reagent* karena waktu inkubasi terjadi di dalam alat. Apabila ada jeda yang berbeda antara satu pemeriksaan dengan pemeriksaan lainnya, maka dapat menyebabkan nilai palsu dan menurunkan kualitas analitik.

KESIMPULAN

Secara umum metode GLDH (*Glutamate Dehydrogenase*) memiliki akurasi, sensitivitas analitik, batas deteksi dan batas kuantitasi yang lebih baik daripada metode *berthelot*. Sedangkan metode *berthelot* memiliki presisi dan linieritas yang lebih baik daripada metode GLDH (*Glutamate Dehydrogenase*). Oleh sebab itu, dapat disimpulkan bahwa metode GLDH (*Glutamate Dehydrogenase*) memiliki kualitas analitik yang lebih baik daripada metode *berthelot* terhadap kadar ureum normal dan abnormal.

Bagi peneliti selanjutnya sebaiknya melakukan penelitian dengan menggunakan alat *full automatic* untuk melihat perbandingan kualitas analitik antara metode *berthelot* dan metode GLDH (*Glutamate Dehydrogenase*) dalam pengukuran ureum. Bagi tenaga laboratorium dapat menggunakan metode GLDH (*Glutamate Dehydrogenase*) dalam pengukuran ureum sehingga didapatkan hasil pemeriksaan laboratorium yang baik dan dapat meningkatkan mutu pelayanan laboratorium.

DAFTAR PUSTAKA

1. B. Magnusson and U. Örnemark. (2014). Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods. In *European Journal of Pharmacology* (Vol. 379, Issues 2–3).
2. Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia. (2012). Penerapan Pedoman Cara Pembuatan Obat Yang Baik. In *Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor HK.03.1.33.12.12.8195 Tahun 2012 Tentang Penerapan Pedoman Cara Pembuatan Obat Yang Baik*.
3. Burtis, C. A., & Bruns, D. E. (2014). Kidney Function Tests - Creatinine, Urea and Uric acid. In *Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*.
4. Chutani, A., & Pande, S. (2017). Correlation of serum creatinine and urea with glycemic index and duration of diabetes in type 1 and type 2 diabetes mellitus: A comparative study. *National Journal of Physiology, Pharmacy and Pharmacology*, 7(9). <https://doi.org/10.5455/njppp.2017.7.0515606052017>
5. Dumitriu, I. L., Gurzu, B., Cojocaru, E., Si, S. M., & Enea, M. (2011). Validation of GOD / PAP Method for Quantitative Determination of Glucose Concentration in Human Serum. *Revista Romana de Medicina de Laborator*, 19(1).
6. Fahisyah, R. N., Naim, N., & Armah, Z. (2019). PENGARUH VARIASI LAMA PENYIMPANAN REAGEN ENZIM 1A TERHADAP HASIL PEMERIKSAAN UREUM DARAH METODE BERTHELOT. *Jurnal Media Analis Kesehatan*, 10(1). <https://doi.org/10.32382/mak.v10i1.980>
7. Fatima, I., & Mishra, S. (2011). Development of Potentiometric Urea Biosensor For Clinical Purposes. *Indo Global Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1(4), 300–303.
8. Fatimah, S. F., Aisyah, V., Nurani, L. H., & Edityaningrum, C. A. (2018). Validasi Metode Analisis β -Karoten Dalam Ekstrak Etanol 96% Spirulina maxima Dengan Spektrofotometri Visibel. *Media Farmasi: Jurnal Ilmu Farmasi*, 15(1). <https://doi.org/10.12928/mf.v15i1.12354>
9. Fauziyah, B. (2012). OPTIMASI PARAMETER ANALITIK BIOSENSOR UREA BERBASIS

- IMMOBILISASI UREASE DALAM MEMBRAN POLIANILIN. *SAINSTIS*.
<https://doi.org/10.18860/sains.v0i0.1865>
10. Gomes, N., Gonalves, C., García-Román, M., Teixeira, J. A., & Belo, I. (2011). Optimization of a colorimetric assay for yeast lipase activity in complex systems. *Analytical Methods*, 3(4).
<https://doi.org/10.1039/c0ay00680g>
 11. Karkalousos, P., & Evangelopoulos, A. (2011). Quality Control in Clinical Laboratories. In *Applications and Experiences of Quality Control*. <https://doi.org/10.5772/15865>
 12. Kazusaki, M., Ueda, S., Takeuchi, N., & Ohgami, Y. (2012). Validation of analytical procedures by high-performance liquid chromatography for pharmaceutical analysis. *CHROMATOGRAPHY*, 33(2).
<https://doi.org/10.15583/jpchrom.2012.005>
 13. Maryati, S. (2012). VERIFIKASI DAN EVALUASI PENERAPAN CARA UJI CEMARAN ARSEN DALAM MAKANAN METODE SPEKTROFOTOMETRI BIRU MOLYBDENUM. *Jurnal Standardisasi*, 14(3). <https://doi.org/10.31153/js.v14i3.87>
 14. Mehta, K., Nepal, A., Jha, A., Das, B. L., Lamsal, M., Majhi, S., & Baral, N. (2010). Establishment of Reference Intervals for Blood Urea Levels in Young Prospective Medical Students Undergoing Health Checkup at BPKIHS, Dharan, Nepal. *Health Renaissance*, 8(2), 126–129.
<https://doi.org/10.3126/hren.v8i2.4427>
 15. Patke, V. G., & Kansara, G. S. (2018). A Comparative Analytical Quality Evaluation Study between Two Methods for Blood Urea Nitrogen Estimation. *IOSR Journal of Dental and Medical Sciences (IOSR-JDMS)*, 17(6), 48–56. <https://doi.org/10.9790/0853-1706074856>
 16. Pratama, D. S., Pirdaus, P., Rinawati, R., Sagala, S. L., & Suhelmi, I. S. R. (2016). VALIDASI METODE ANALISIS LOGAM Na, K, Mg dan Ca PADA AIR TUA (BITTERN) MENGGUNAKAN MICROWAVE PLASMA-ATOMIC EMISSION SPECTROMETER (MP-AES). *Jurnal Standardisasi*, 17(3). <https://doi.org/10.31153/js.v17i3.318>
 17. Rivai, H., Setyaningrum, F. A., & Asra, R. (2018). Pengembangan dan Validasi Metode Analisis Ketoprofen Tablet dengan Metode Absorbansi dan Luas Daerah di Bawah Kurva Secara Spektrofotometri Ultraviolet. *Research Gate, March*. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.27116.67204>
 18. Riyanto. (2014). *Validasi & Verifikasi Metode Uji Sesuai dengan ISO/IEC 17025 Laboratorium Pengujian dan Kalibrasi*. deepublish publisher.
<https://play.google.com/books/reader?id=c0mlCgAAQBAJ&pg=GBS.PA17>
 19. Saeedfar, K., Heng, L. Y., Ling, T. L., & Rezayi, M. (2013). Potentiometric urea biosensor based on an immobilised fullerene-urease bio-conjugate. *Sensors (Switzerland)*, 13(12).
<https://doi.org/10.3390/s131216851>
 20. Sasongko, A. (2018). Ammonia Determination In Bottled Water Using Spectrophotometer : Comparison Between Nessler And Berthelot Methods. *JST (Jurnal Sains Dan Teknologi)*, 7(1).
<https://doi.org/10.23887/jst-undiksha.v7i1.13009>
 21. Siyoto, S., & Sodik, M. A. (2015). *Dasar Metodologi Penelitian* (Ayup (ed.)). Literasi Media Publishing.
 22. Sukaryono, I. D., Hadinoto, S., & Fasa, L. R. (2017). VERIFIKASI METODE PENGUJIAN CEMARAN LOGAM PADA AIR MINUM DALAM KEMASAN (AMDK) DENGAN METODE AAS-GFA. *MAJALAH BIAM*, 8–16.
http://ejournal.kemenperin.go.id/bpbiam/article/download/1965/pdf_19
 23. Utami, A. R. (2017). Verifikasi Metode Pengujian Sulfat Dalam Air dan Air Limbah Sesuai SNI 6989.20 : 2009. *Jurnal Teknologi Proses Dan Inovasi Industri*, 2(1).
<https://doi.org/10.36048/jtpii.v2i1.2726>
 24. Verdiansah. (2016). Pemeriksaan Fungsi Ginjal Rumah Sakit Hasan Sadikin Bandung. *Cermin Dunia Kesehatan*, 43(2).
 25. Voica, C., Dehelean, A., Iordache, A., & Geana, I. (2012). Method validation for determination of metals in soils by ICP-MS. *Romanian Reports in Physics*, 64(1).
 26. Ye, H., Yang, K., Tao, J., Liu, Y., Zhang, Q., Habibi, S., Nie, Z., & Xia, X. (2017). An Enzyme-Free Signal Amplification Technique for Ultrasensitive Colorimetric Assay of Disease Biomarkers. *ACS Nano*, 11(2), 2052–2059. <https://doi.org/10.1021/acsnano.6b08232>

