

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Glukosa Darah

Glukosa darah merupakan komponen metabolik utama yang berperan penting sebagai sumber energi bagi berbagai jaringan tubuh, terutama otak dan eritrosit yang sangat bergantung pada glukosa untuk menjalankan fungsi normalnya. Homeostasis glukosa menggambarkan keseimbangan antara asupan karbohidrat dari makanan dengan proses penyerapan dan pemanfaatan glukosa oleh jaringan perifer. Sekresi hormon insulin dari pankreas menjadi pengatur utama kadar glukosa dalam darah. Pada kondisi puasa, kadar insulin yang rendah akan menstimulasi pembentukan glukosa melalui proses glukoneogenesis dan glikogenolisis di hati, sedangkan hormon glukagon disekresikan oleh sel alfa pankreas ketika kadar glukosa darah menurun atau selama aktivitas fisik untuk merangsang pelepasan glukosa ke sirkulasi (Wu et al., 2025).

Menurut penelitian Chen *et al.* (2021), kadar glukosa darah yang stabil menjadi indikator penting dalam evaluasi metabolisme tubuh dan deteksi dini gangguan endokrin. Studi tersebut menegaskan bahwa pemeriksaan glukosa darah merupakan langkah kunci dalam penegakan diagnosis diabetes melitus serta dalam pemantauan terapi jangka panjang. Glukosa berperan tidak hanya sebagai bahan bakar energi, tetapi juga sebagai penanda fisiologis terhadap keseimbangan metabolik tubuh. Penelitian ini menyoroti pentingnya pengambilan sampel dan prosedur pra-analitik yang benar karena perbedaan kondisi penyimpanan dapat menyebabkan hasil glukosa bervariasi secara signifikan antar laboratorium.

Penelitian (Zhou et al., 2022) juga menunjukkan bahwa kadar glukosa darah sangat dipengaruhi oleh aktivitas seluler setelah pengambilan sampel darah. Dalam penelitian tersebut dijelaskan bahwa glukosa akan terus menurun apabila darah tidak segera diproses karena sel-sel darah tetap melakukan metabolisme glikolisis. Hasil penelitian ini memperkuat perlunya waktu pemrosesan yang cepat dan penanganan suhu rendah untuk mempertahankan kestabilan kadar glukosa. Oleh sebab itu, pengawasan terhadap tahap pra-analitik menjadi bagian yang tidak dapat dipisahkan dari akurasi pemeriksaan glukosa di laboratorium klinik.

2.1.1 Tinjauan Glukosa Darah

Pemeriksaan kadar glukosa darah di laboratorium dilakukan untuk menilai status metabolik, memantau keberhasilan terapi, serta mendeteksi dini gangguan toleransi glukosa (Sudrajat & Syahrul, 2025). Pemeriksaan ini biasanya menggunakan serum atau plasma dengan memperhatikan faktor-faktor yang memengaruhi kestabilan kadar glukosa (Rahaju Pudjiastuty et al., 2024). Hasil pemeriksaan yang akurat hanya dapat diperoleh apabila seluruh tahapan mulai dari pengambilan sampel hingga analisis dilakukan sesuai dengan standar operasional laboratorium klinik, terutama pada tahap pra-analitik yang merupakan tahap paling kritis (Anjani et al., 2026).

Menurut penelitian (Nakanga et al., 2022), pengukuran glukosa darah yang dilakukan secara tepat memberikan informasi penting bagi dokter dalam menilai keseimbangan metabolisme karbohidrat. Dalam penelitian tersebut disebutkan bahwa hasil pemeriksaan glukosa dapat berubah apabila terjadi keterlambatan sentrifugasi, karena proses glikolisis *in vitro* akan menurunkan kadar glukosa

sekitar 6–7% setiap jam pada suhu ruang. Dengan demikian, kecepatan pemrosesan sampel menjadi aspek kritis dalam menjaga validitas hasil pemeriksaan.

Penelitian lain oleh (Nakanga et al., 2022) menegaskan bahwa stabilitas kadar glukosa darah dapat dipertahankan apabila pemisahan serum dilakukan kurang dari 30 menit setelah pengambilan darah. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pengendalian tahap pra-analitik seperti waktu pemisahan, jenis tabung yang digunakan, dan suhu penyimpanan merupakan faktor utama dalam mempertahankan kestabilan kadar glukosa. Disimpulkan bahwa akurasi hasil pemeriksaan tidak hanya bergantung pada metode analisis, tetapi juga pada penanganan spesimen yang benar sejak tahap awal.

Penelitian dari (Zhang et al., 2025) juga melaporkan bahwa kadar glukosa darah dapat berfungsi sebagai indikator tidak langsung dari keseimbangan metabolik tubuh, termasuk respon terhadap stres fisiologis, aktivitas fisik, serta asupan nutrisi. Hasil penelitian ini menegaskan bahwa pemeriksaan glukosa darah secara berkala memiliki nilai klinis yang luas, tidak hanya dalam konteks penyakit diabetes melitus tetapi juga untuk penilaian fungsi metabolisme secara umum. Oleh karena itu, pemeriksaan glukosa darah harus dilakukan dengan memperhatikan semua faktor pra-analitik dan analitik agar hasil yang diperoleh dapat digunakan sebagai dasar keputusan medis yang tepat.

2.1.2 Pemeriksaan Glukosa Darah

Pemeriksaan glukosa darah merupakan salah satu analisis laboratorium yang paling penting dalam menilai metabolisme karbohidrat dan mendiagnosis diabetes melitus. Pemeriksaan ini dapat menggunakan sampel serum atau plasma, dengan syarat bahwa proses pra-analitik seperti waktu sentrifugasi, suhu

penyimpanan, dan jenis tabung telah dikendalikan dengan baik agar kadar glukosa yang diperoleh mencerminkan kondisi fisiologis sebenarnya (Dibbasey et al., 2024).

Menurut (Nakanga et al., 2022), kadar glukosa darah mengalami penurunan yang signifikan jika sampel tidak segera disentrifugasi setelah pengambilan darah. Dalam penelitiannya disebutkan bahwa konsentrasi glukosa menurun hingga 36% pada sampel serum dan 23% pada plasma EDTA setelah enam jam pada suhu ruang apabila tidak dilakukan pemisahan. Sementara itu, sampel dengan penambahan natrium fluorida (NaF) tetap stabil selama 24 jam dalam kondisi yang sama. Hasil ini menunjukkan pentingnya penggunaan tabung dengan inhibitor glikolisis serta perlunya pemrosesan cepat pada tahap pra-analitik.

(Warade, 2024) juga melaporkan bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna antara hasil pemeriksaan glukosa yang dilakukan pada sampel darah yang dikumpulkan menggunakan tabung serum, EDTA, fluorida, maupun heparin litium apabila pemisahan dilakukan segera dan penyimpanan dijaga pada suhu 2–4 °C selama 24 jam. Namun, apabila pemrosesan tertunda lebih dari empat jam pada suhu ruang, kadar glukosa mengalami penurunan signifikan. Dengan demikian, stabilitas hasil pemeriksaan glukosa darah sangat bergantung pada waktu pemrosesan dan kondisi penyimpanan sampel setelah pengambilan darah.

Selain itu, penelitian (Daimane & Basu, 2024) menunjukkan bahwa tabung yang mengandung natrium fluorida-oksalat tetap menjadi pilihan yang paling efektif dalam menjaga kestabilan glukosa, terutama jika terjadi penundaan sebelum pemeriksaan. Penelitian tersebut menegaskan bahwa NaF berfungsi sebagai inhibitor glikolisis dengan menghambat aktivitas enzim enolase, meskipun efek

maksimalnya baru tercapai setelah dua jam. Oleh karena itu, penyimpanan pada suhu rendah (2–8 °C) tetap direkomendasikan untuk memperlambat laju glikolisis sebelum pemeriksaan dilakukan secara keseluruhan, pemeriksaan glukosa darah yang akurat sangat ditentukan oleh pengelolaan sampel yang tepat. Penggunaan tabung antikoagulan dengan inhibitor glikolisis, pemisahan segera serum atau plasma, serta penyimpanan pada suhu dingin merupakan langkah penting untuk mempertahankan kestabilan kadar glukosa hingga waktu pemeriksaan dilakukan.

2.2 Faktor Pra-Analitik pada Pemeriksaan Glukosa

Faktor pra-analitik merupakan salah satu tahap yang sangat menentukan keakuratan hasil pemeriksaan glukosa darah. Kesalahan pada tahap ini dapat menyebabkan hasil yang tidak mencerminkan kondisi metabolik pasien secara sebenarnya. Tahapan pra-analitik meliputi proses pengambilan darah, jenis tabung yang digunakan, waktu antara pengambilan hingga pemisahan serum atau plasma, serta kondisi penyimpanan sebelum pemeriksaan dilakukan (Daimane & Basu, 2024).

Glukosa merupakan molekul yang mudah mengalami penurunan konsentrasi setelah darah diambil karena proses glikolisis masih berlangsung di dalam sel-sel darah. Jika sampel tidak segera dipisahkan, maka kadar glukosa akan menurun sekitar 5–7 % per jam pada suhu ruang (Bakkebo et al., 2024). Penurunan ini disebabkan oleh aktivitas sel darah merah dan leukosit yang terus menggunakan glukosa sebagai sumber energi, sehingga nilai yang diperoleh dari analisis bisa lebih rendah dari kadar sebenarnya.

Penelitian (Nakanga et al., 2022) melaporkan bahwa kadar glukosa pada sampel yang tidak segera disentrifugasi menunjukkan penurunan drastis pada suhu

ruang. Dalam penelitiannya disebutkan bahwa konsentrasi glukosa menurun hingga 64 % pada serum dan 77 % pada plasma EDTA setelah 6 jam tanpa sentrifugasi, sedangkan plasma natrium fluorida tetap stabil hingga 24 jam pada kondisi yang sama. Temuan ini menunjukkan pentingnya pemisahan sel darah secepat mungkin setelah pengambilan sampel untuk mencegah konsumsi glukosa oleh sel-sel darah.

Selain waktu, jenis tabung juga berperan penting. Tabung yang mengandung antikoagulan dan inhibitor glikolisis seperti natrium fluorida- oksalat terbukti dapat memperlambat penurunan glukosa, tetapi efek optimalnya baru terjadi setelah dua jam inkubasi (Xiong et al., 2024). Karena itu, apabila proses sentrifugasi tertunda, disarankan untuk menyimpan sampel pada suhu 2–8 °C untuk memperlambat aktivitas enzim glikolisis (Dibbasey et al., 2024). Laboratorium klinik perlu memiliki standar operasional yang jelas tentang batas waktu maksimum penyimpanan dan kondisi suhu agar kualitas hasil tetap dapat dipertanggungjawabkan.

2.3 Eksokinase/Heksokinase

Heksokinase merupakan enzim penting dalam jalur metabolisme glukosa karena berperan dalam langkah awal glikolisis dengan mengkatalisis fosforilasi glukosa menjadi glukosa-6-fosfat, yang kemudian memasuki rangkaian reaksi untuk menghasilkan energi seluler. Penelitian oleh (Karri et al., 2024) menunjukkan bahwa heksokinase (HK) merupakan enzim pengatur utama glikolisis yang tidak hanya berfungsi dalam metabolisme energi tetapi juga berpengaruh terhadap stabilitas kromatin melalui regulasi epigenetik ketika ekspresinya diubah dalam sel. Dengan perubahan kadar enzim ini memengaruhi kestabilan struktur kromatin dan pertumbuhan sel. Studi lain oleh (Su et al., 2023) melaporkan bahwa isoform

heksokinase 2 (HK2) memainkan peran penting dalam respon inflamasi pada sel fibroblas gingiva yang terinfeksi *Porphyromonas gingivitis*, dimana peningkatan ekspresi dan aktivitas HK2 berkorelasi dengan peningkatan konsumsi glukosa dan produksi sitokin pro-inflamasi sehingga menunjukkan bahwa heksokinase juga berperan lebih luas dalam respon imun selain metabolisme dasar glukosa. Selain itu, (Chen et al., 2025) menemukan bahwa HK2 terlibat dalam osteogenik melalui umpan balik positif antara modifikasi laktulasi histon dan aktivitas heksokinase, yang menandakan hubungan erat antara aktivitas enzim ini dengan regulasi ekspresi gen dalam perkembangan jaringan. Akhirnya, penelitian oleh (Chen et al., 2025) tentang infeksi virus *foot-and-mouth disease* menunjukkan bahwa virus dapat mengaktifkan glikolisis host dan memanfaatkan HK2 untuk menghambat respon imun innate sambil meningkatkan replikasi virus, menunjukkan relevansi klinis heksokinase dalam patogenesis penyakit infeksi.

2.3.1 Mekanisme Kerja Enzim Heksokinase

Heksokinase merupakan enzim kunci yang berperan sentral dalam metabolisme glukosa dengan mengkatalisis langkah pertama glikolisis, yaitu fosforilasi glukosa menjadi glukosa-6-fosfat (G6P) menggunakan ATP sebagai donor fosfat. Pembentukan G6P menyebabkan glukosa terperangkap di dalam sel sehingga tidak dapat berdifusi keluar dan selanjutnya diarahkan ke jalur metabolisme energi atau disimpan dalam bentuk glikogen. Enzim heksokinase memiliki afinitas yang tinggi terhadap glukosa pada konsentrasi rendah, sehingga berperan penting dalam pemanfaatan glukosa oleh komponen seluler darah.

2.3.2 Peran Klinis dan Biologi Heksokinase

Sebagai enzim yang mengawali jalur glikolisis, heksokinase memiliki peran penting dalam metabolisme glukosa menjadi glukosa-6-fosfat menggunakan ATP sebagai sumber energi. Pembentukan glukosa-6-fosfat menyebabkan glukosa tetap berada di dalam sel dan selanjutnya digunakan dalam rangkaian proses glikolisis untuk menghasilkan energi. Aktivitas heksokinase menjadi salah satu faktor utama yang menentukan tingkat pemanfaatan glukosa sel karena enzim ini mengatur masuknya glukosa ke dalam jalur metabolisme energi (Su et al., 2023).

Pada sel darah, terutama eritrosit, proses metabolisme glukosa memiliki karakteristik khusus karena eritrosit memang tidak memiliki sel maupun mitokondria. Ketiadaan mitokondria menyebabkan eritrosit tidak dapat melakukan respirasi aerob melalui siklus Krebs dan fosforilasi oksidatif. Oleh karena itu, eritrosit bergantung sepenuhnya pada proses glikolisis anaerob (jalur Embden-Meyerhof) untuk menghasilkan energi dalam bentuk ATP yang diperlukan untuk mempertahankan fungsi dan kestabilan membran sel. Dalam proses ini, glukosa secara terus-menerus dikonsumsi dan diubah menjadi metabolisme untuk mempertahankan fungsi serta kestabilan membran eritrosit (Chatzinikolaou et al., 2024).

Ketika sampel darah telah diambil tetapi belum mengalami proses pemisahan serum melalui sentrifugasi, komponen seluler darah seperti eritrosit dan leukosit masih berada dalam kondisi metabolik aktif. Aktivitas enzim glikolisis anaerob tetap berlangsung sehingga glukosa yang terdapat dalam sampel akan terus digunakan oleh sel. Akibatnya, semakin lama waktu penundaan pemisahan serum dari sel, semakin besar kemungkinan terjadi penurunan kadar glukosa akibat proses glikolisis *in vitro* (Azizah, 2023).

Penurunan kadar glukosa akibat aktivitas metabolisme sel darah menjadi salah satu faktor penting yang perlu diperhatikan dalam pemeriksaan laboratorium. Penundaan proses pengolahan spesimen tanpa adanya pemisahan sel darah dapat menyebabkan hasil pemeriksaan glukosa menjadi lebih rendah dibandingkan kondisi pemeriksaan segera karena terjadi konsumsi glukosa selama periode penyimpanan sampel (Azizah, 2023).

2.3.3 Hubungan Heksokinase dengan Penurunan Glukosa Akibat Penundaan Sentrifugasi

Heksokinase merupakan enzim utama yang memulai proses glikolisis dengan mengubah glukosa menjadi glukosa-6-fosfat. Pada sampel darah yang belum disentrifugasi, sel darah masih aktif melakukan metabolisme sehingga glikolisis tetap berlangsung dan glukosa terus dikonsumsi. Kondisi ini menyebabkan kadar glukosa akan menurun apabila pemisahan serum tertunda. Penelitian oleh dilaporkan bahwa semakin lama penundaan pemisahan serum dari bekuan darah sebelum pemeriksaan, semakin menurun hasil kadar glukosa darah yang terukur, dengan rata-rata glukosa menurun dari 78,1 mg/dL pada pemeriksaan segera menjadi 65,1 mg/dL setelah 4 jam penundaan. Temuan ini menunjukkan bahwa aktivitas metabolisme glukosa oleh sel darah yang masih hidup berlangsung ketika serum belum dipisahkan, sehingga glukosa terus dikonsumsi melalui jalur glikolisis saat penundaan pemrosesan sampel (Azizah, 2023).

2.4 Metabolisme Glukosa

Metabolisme glukosa merupakan proses biokimia yang terjadi di dalam tubuh untuk menghasilkan energi serta mempertahankan kadar glukosa darah dalam keadaan normal (Ilminawati et al., 2024). Glukosa merupakan sumber energi utama

bagi sel tubuh yang diperoleh dari hasil pencernaan karbohidrat dan diserap di usus halus sebelum masuk kedalam sirkulasi darah (Hamdi et al., 2024). Di dalam sel, glukosa akan mengalami proses metabolisme melalui jalur glikolisis yang berlangsung di sitoplasma dan menghasilkan energi awal serta senyawa piruvat sebagai produk akhir (Hamdi et al., 2024). Proses metabolisme glukosa ini sangat penting karena berperan dalam menyediakan energi yang dibutuhkan untuk aktivitas seluler dan fungsi organ tubuh secara keseluruhan (Ilminawati et al., 2024). Gangguan pada metabolisme glukosa dapat menyebabkan ketidakseimbangan kadar glukosa darah yang berhubungan dengan terjadinya penyakit metabolik seperti diabetes melitus (Studi Diploma III Keperawatan et al., 2023).

Regulasi metabolisme glukosa dalam tubuh dipengaruhi oleh berbagai mekanisme fisiologis, terutama keseimbangan antara hormon insulin dan faktor metabolik lainnya (Studi Diploma III Keperawatan et al., 2023). Insulin berperan dalam menurunkan kadar glukosa darah dengan meningkatkan pemanfaatan glukosa oleh sel serta penyimpanannya dalam bentuk glikogen (Ilminawati et al., 2024). Selain itu, kondisi metabolik seperti obesitas dan perubahan risiko gangguan metabolik (Maya Kumalasari et al., 2024). Ketidakseimbangan regulasi ini dapat menyebabkan peningkatan kadar glukosa darah secara kronis yang merupakan ciri utama diabetes melitus (Studi Diploma III Keperawatan et al., 2023).

Selain faktor hormonal, metabolik glukosa juga dapat dipengaruhi oleh faktor gaya hidup seperti pola makan dan aktivitas fisik (Maya Kumalasari et al., 2023). Konsumsi makanan dengan asupan karbohidrat yang tidak terkontrol dapat menyebabkan peningkatan kadar glukosa darah secara signifikan (Tirtasari et al., 2024). Di sisi lain, aktivitas fisik dapat membantu meningkatkan pemanfaatan

glukosa oleh tubuh sehingga berperan dalam menjaga keseimbangan kadar glukosa darah (Iliminawati et al., 2024). oleh karena itu, pengaturan pola makan dan aktivitas fisik menjadi faktor penting dalam menjaga metabolisme glukosa tetap optimal serta mencegah terjadinya gangguan metabolik (Maya Kumalasari et al., 2023).

2.5 Sentrifugasi

Sentrifugasi merupakan proses penting dalam pemeriksaan glukosa darah karena berfungsi untuk memisahkan komponen seluler dari cairan darah (serum atau plasma). Tujuannya adalah menghentikan proses glikolisis *in vitro* yang terjadi akibat aktivitas metabolik sel-sel darah setelah pengambilan sampel. Jika proses sentrifugasi tidak dilakukan tepat waktu, sel darah merah dan leukosit akan terus mengonsumsi glukosa sehingga kadar glukosa dalam sampel akan menurun dari nilai sebenarnya (Nakanga et al., 2022).

Menurut penelitian (Bakkebo et al., 2024), waktu optimal untuk melakukan sentrifugasi adalah dalam 30–60 menit setelah pengambilan darah. Penundaan lebih dari waktu tersebut dapat menurunkan kadar glukosa hingga 10% per jam pada suhu ruang. Oleh karena itu, laboratorium klinik harus memastikan proses pemisahan dilakukan segera setelah sampel diterima untuk mempertahankan stabilitas glukosa.

(Warade, 2024) melaporkan bahwa sampel darah yang dikumpulkan dalam berbagai jenis tabung seperti serum, EDTA, natrium fluorida, dan lithium heparin menunjukkan tidak terdapat perbedaan berarti dalam hasil pemeriksaan glukosa hingga 24 jam setelah pemisahan plasma atau serum, selama penyimpanan dilakukan pada suhu 2–4 °C. Hal ini menegaskan bahwa stabilitas glukosa lebih bergantung pada kecepatan pemisahan daripada jenis tabung yang digunakan.

Selain kecepatan, kondisi penyimpanan sebelum dan sesudah sentrifugasi juga berpengaruh terhadap kestabilan hasil. Menurut (Daimane & Basu, 2024), sampel yang sudah disentrifugasi dan dipisahkan dari sel darah dapat mempertahankan kadar glukosa stabil hingga 24 jam jika disimpan pada suhu 2–8 °C. Oleh sebab itu, laboratorium perlu memastikan bahwa hasil pemisahan plasma dilakukan dengan segera dan penyimpanan sesuai suhu yang direkomendasikan untuk menjaga kualitas hasil pemeriksaan.

2.5.1 Penundaan Sentrifugasi

Penundaan sentrifugasi merupakan salah satu penyebab utama menurunnya keakuratan hasil pemeriksaan glukosa darah. Dalam darah yang belum disentrifugasi, proses glikolisis terus berlangsung karena sel darah masih aktif memanfaatkan glukosa sebagai sumber energi (Pleus et al., 2022). Semakin lama penundaan, semakin besar penurunan kadar glukosa yang terjadi.

Penelitian yang dilakukan oleh (Xiong et al., 2024) menunjukkan bahwa dalam kondisi suhu ruang, kadar glukosa dapat menurun antara 5–7% per jam apabila darah tidak segera dipisahkan. Bahkan, pada penundaan selama empat jam, kadar glukosa bisa menurun hingga 25% dibandingkan kadar awal. Hal ini menegaskan pentingnya penerapan batas waktu pemrosesan maksimal agar hasil pemeriksaan tetap akurat dan valid (Bakkebo et al., 2024).

Salah satu upaya untuk mengurangi efek penundaan adalah penggunaan tabung yang mengandung natrium fluorida sebagai inhibitor glikolisis. Namun, berdasarkan hasil studi (Daimane & Basu, 2024), penghambatan oleh natrium fluorida tidak terjadi secara langsung dan baru efektif setelah dua jam. Oleh karena itu, penyimpanan sampel darah pada suhu rendah (2–8 °C) tetap direkomendasikan

untuk memperlambat laju glikolisis sebelum dilakukan sentrifugasi (Vrtarić et al., 2024).

Penelitian oleh (Dibbasey et al., 2024) juga menunjukkan bahwa sampel darah yang disentrifugasi segera setelah pengambilan memiliki kadar glukosa yang lebih stabil dibandingkan dengan sampel yang disentrifugasi setelah tiga jam. Berdasarkan temuan tersebut, dapat disimpulkan bahwa waktu penundaan sentrifugasi merupakan faktor kritis dalam tahap pra-analitik pemeriksaan glukosa darah. Laboratorium perlu menetapkan kebijakan yang jelas mengenai batas waktu maksimal penundaan agar hasil pemeriksaan tetap andal dan memenuhi standar mutu laboratorium klinik.

2.6 Jenis Tabung dalam Pemeriksaan Glukosa Darah

Jenis tabung yang digunakan dalam pengambilan darah berperan besar terhadap kestabilan kadar glukosa yang diperoleh. Pemilihan tabung yang sesuai sangat penting agar hasil pemeriksaan tetap akurat hingga waktu analisis dilakukan. Secara umum, tabung yang digunakan untuk pemeriksaan glukosa meliputi tabung tanpa antikoagulan (plain) dan tabung dengan gel separator (serum separator tube/SST) (Daimane et al., 2024).

2.6.1 Tabung Plain



Gambar 2.1 Tabung Plain

Tabung plain merupakan tabung tanpa aditif yang digunakan untuk mendapatkan serum setelah darah mengalami pembekuan. Namun, apabila proses sentrifugasi tertunda, kadar glukosa pada tabung ini akan cepat menurun karena sel darah tetap melakukan glikolisis selama proses pembekuan berlangsung. Oleh sebab itu, tabung ini sebaiknya hanya digunakan bila sampel dapat segera diproses setelah pengambilan (Bakkebo et al., 2024).

2.6.2 Tabung Separator Gel



Gambar 2.2 Tabung Separator Gel

Tabung dengan gel separator semakin banyak digunakan karena gel yang terdapat di bagian bawah tabung dapat memisahkan serum dari sel darah setelah proses sentrifugasi. Penelitian oleh (Bakkebo et al., 2024) menunjukkan bahwa serum yang dipisahkan dengan separator gel memiliki kestabilan glukosa hingga lima hari pada suhu ruang, asalkan proses sentrifugasi dilakukan tidak lebih dari satu jam setelah pengambilan darah. Dengan demikian, pemilihan jenis tabung harus disesuaikan dengan kondisi laboratorium dan durasi penanganan sampel sebelum analisis dilakukan (Warade, 2024)

2.6.3 Tabung NaF



Gambar 2.3 Tabung NaF

Penelitian oleh (Dibbasey et al., 2024) menunjukkan bahwa tabung natrium fluorida/kalium oksalat (NaF/Kox) yang selama ini dianggap sebaagai standar dalam pengukuran glukosa darah tetap menghasilkan kadar glukosa yang stabil selama tiga hari apabila sampel dipisahkan dalam waktu dua jam pertama dan disimpan pada suhu 2-8°C, dan tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara konsentrasi glukosa yang diukur pada tabung NaF dan tabung serum separator dalam periode tersebut. Hasil analisis data juga memperlihatkan bahwa perubahan kadar glukosa sepanjang 72 jam tidak signifikan secara statistik sehingga menunjukkan kestabilan yang baik pada kondisi penyimpanan yang sesuai (Dibbasey et al., 2024).

Penelitian lain oleh (Jung et al., 2020) memperlihatkan bahwa walaupun konsentrasi glukosa awalnya tidak berbeda pada berbagai jenis tabung, hambatan glikolisis segera setelah pengambilan darah tidak tercapai secara langsung pada semua jenis tabung, dan hanya tabung yang mengandung sodium fluoride yang memberikan efek penghambatan glikolisis saat terjadi penundaan pemrosesan sampel, sehingga menurunkan tingkat penurunan glukosa bila sampel tidak segera diproses (Jung et al., 2020).

2.7 Suhu Penyimpanan dan Stabilitas Glukosa Darah

Suhu penyimpanan merupakan faktor krusial dalam menjaga kestabilan kadar glukosa darah. Pada suhu ruang, proses glikolisis berlangsung lebih cepat karena aktivitas enzimatis sel darah tidak terhambat, sehingga kadar glukosa dapat menurun secara signifikan dalam waktu singkat. Penelitian oleh (Dibbasey et al., 2024) menunjukkan bahwa penyimpanan pada suhu 2–8 °C dapat memperlambat penurunan kadar glukosa dan menjaga kestabilan hingga 48 jam setelah pengambilan.

Studi terbaru oleh (Warade, 2024) menyatakan bahwa penyimpanan darah pada suhu dingin (2–4 °C) setelah pemisahan serum atau plasma mempertahankan kestabilan glukosa hingga 24 jam tanpa perubahan signifikan. Sementara itu, penyimpanan pada suhu ruang menyebabkan penurunan kadar glukosa yang nyata setelah 4–6 jam. (Dibbasey et al., 2024) melaporkan bahwa sampel plasma yang disimpan dalam suhu dingin tetap menunjukkan kadar glukosa yang stabil hingga dua hari setelah pengambilan, asalkan plasma telah dipisahkan dari sel darah.

Hasil penelitian (Xiong et al., 2024) juga mendukung bahwa penyimpanan darah utuh pada suhu ruang menyebabkan penurunan kadar glukosa yang signifikan dibandingkan dengan penyimpanan pada suhu dingin. Oleh karena itu, pengendalian suhu penyimpanan merupakan aspek penting dalam tahap pra-analitik yang harus diterapkan oleh setiap laboratorium klinik untuk memastikan bahwa kadar glukosa yang diperoleh merepresentasikan kondisi fisiologis sebenarnya (Dibbasey et al., 2024).

2.8 Glikolisis dan Mekanisme Penurunan Glukosa

Glikolisis merupakan proses pemecahan glukosa menjadi energi melalui reaksi enzimatik di dalam sel darah, terutama eritrosit dan leukosit. Setelah darah diambil dari tubuh, proses glikolisis masih terus berlangsung karena sel-sel darah tetap aktif secara metabolik, sehingga menyebabkan penurunan kadar glukosa dalam sampel (Nakanga et al., 2022) penelitian (Daimane & Basu, 2024), laju glikolisis dipengaruhi oleh suhu penyimpanan, jenis tabung, dan lamanya waktu antara pengambilan darah hingga pemisahan serum atau plasma. Semakin lama darah disimpan tanpa dipisahkan, semakin besar penurunan kadar glukosa yang terjadi. Dalam kondisi suhu ruang, penurunan dapat mencapai 10% per jam, sedangkan pada suhu 2–8 °C penurunan berlangsung lebih lambat. Untuk menghambat proses glikolisis, digunakan bahan kimia inhibitor seperti natrium fluorida. Zat ini bekerja dengan cara menghambat enzim enolase, salah satu enzim penting dalam jalur glikolisis. Namun, penelitian (Xiong et al., 2024) menjelaskan bahwa efek penghambatan natrium fluorida tidak terjadi secara instan dan baru efektif setelah dua jam inkubasi. Oleh karena itu, pendinginan sampel tetap menjadi langkah paling efektif untuk menekan aktivitas enzimatik sel darah. Selain penggunaan inhibitor, pemisahan cepat antara serum atau plasma dengan elemen seluler juga merupakan strategi utama untuk mencegah penurunan glukosa.

2.9 Metode Pemeriksaan Glukosa Garah (GOD-PAP)

Pemeriksaan glukosa darah di laboratorium dilakukan untuk menentukan kadar glukosa yang beredar dalam sirkulasi tubuh dan menjadi indikator penting dalam diagnosis gangguan metabolik seperti diabetes mellitus. Pemeriksaan dapat dilakukan pada serum atau plasma dengan memperhatikan prosedur pra-analitik agar hasilnya akurat (Dibbasey et al., 2024).

Metode GOD-PAP memiliki beberapa keunggulan, antara lain sensitivitas yang tinggi, kestabilan reagen, dan kemudahan penggunaan pada sistem otomatisasi laboratorium. Selain itu, metode ini memiliki tingkat ketepatan yang baik dan dapat digunakan untuk analisis serum, plasma, maupun cairan tubuh lainnya (Dibbasey et al., 2024). Walaupun demikian, metode ini juga memiliki keterbatasan karena dapat dipengaruhi oleh zat-zat pengganggu seperti asam urat dan bilirubin yang tinggi (Bakkebo et al., 2024).

Sebagai alternatif, metode heksokinase digunakan di beberapa laboratorium referensi karena dianggap lebih spesifik. Menurut (Dibbasey et al., 2024), metode heksokinase bekerja melalui reaksi antara glukosa dan ATP yang dikatalisis oleh enzim heksokinase menghasilkan glukosa-6-fosfat, yang kemudian diubah menjadi 6-fosfoglukonat oleh enzim glukosa-6-fosfat dehidrogenase. Jumlah NADH yang dihasilkan diukur menggunakan spektrofotometer untuk menentukan kadar glukosa. Kedua metode tersebut memiliki korelasi yang tinggi, namun pemilihan metode bergantung pada fasilitas laboratorium dan tujuan pemeriksaan (Xiong et al., 2024).

2.9.1 Penggunaan Metode GOD-PAP dalam Penelitian

Metode enzimatik dalam pemeriksaan glukosa darah, seperti Glucose Oxidase-Peroxidase Aminoantipyrine Phenol (GOD-PAP), tetap menjadi metode utama di banyak laboratorium klinik karena memiliki sensitivitas dan presisi yang tinggi. Menurut (Daimane & Basu, 2024), metode ini efektif digunakan untuk pengujian klinik karena reagen yang stabil dan dapat diaplikasikan pada sistem otomatis, serta mampu menghasilkan hasil yang konsisten baik pada kadar glukosa rendah maupun tinggi.

(Warade, 2024) melaporkan bahwa hasil pengukuran glukosa dengan metode kolorimetri pada berbagai jenis tabung darah menunjukkan konsistensi yang tinggi, dengan nilai korelasi antar- metode di atas 0,98. Hal ini membuktikan bahwa pemeriksaan glukosa menggunakan metode enzimatik tetap dapat diandalkan sepanjang proses pra-analitik dilakukan sesuai prosedur standar.

Penelitian oleh (Dibbasey et al., 2024) juga mendukung penggunaan metode enzimatik dalam penelitian maupun pelayanan laboratorium klinik. Dalam studi tersebut, metode enzimatik memberikan hasil yang stabil pada berbagai jenis sampel (serum dan plasma), bahkan setelah penyimpanan hingga 24 jam pada suhu 4 °C, tanpa terjadi penurunan kadar glukosa yang bermakna. Hasil ini menunjukkan bahwa metode enzimatik tetap menjadi pilihan ideal untuk pemeriksaan glukosa darah di laboratorium pendidikan maupun klinik.

Selain itu, (Bakkebo et al., 2024) menegaskan bahwa stabilitas glukosa hasil pemeriksaan dengan metode enzimatik dapat dipertahankan hingga lima hari jika serum telah dipisahkan dalam waktu kurang dari satu jam setelah pengambilan darah. Oleh sebab itu, metode GOD-PAP dianggap sebagai metode yang efisien, akurat, dan dapat dipertanggungjawabkan dalam penelitian maupun pelayanan laboratorium klinik.

2.10 Metode Perhitungan Federer

Penentuan jumlah sampel pada penelitian eksperimen ini menggunakan rumus Federer, yang banyak dipakai dalam penelitian eksperimental/in vivo untuk memperoleh jumlah ulangan minimal agar derajat kebebasan galat (*error degrees of freedom*) mencukupi dalam analisis varians ANOVA. Rumus Federer dinyatakan:

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

Dimana t adalah jumlah perlakuan dan n adalah jumlah ulangan pada setiap perlakuan. Rumus ini umum dipakai memastikan derajat bebas galat mencukupi dalam ANOVA (Repository Universitas BL, 2025).

Sebagai ilustrasi penerapan pada penelitian ini, terdapat dua faktor perlakuan: jenis tabung (2 level: plain dan separator gel) dan lama penundaan sentrifugasi (5 level: 0, 4, 8, 12 jam). Dengan memasukkan nilai $t = 4$ ke rumus Federer diperoleh:

$$(4-1)(n-1) \geq 15 \Rightarrow 3(n-1) \geq 15 \Rightarrow n \geq 6$$

Berdasarkan perhitungan jumlah ulangan menggunakan rumus Federer $(t-1)(n-1) \geq 15$ dengan jumlah perlakuan sebanyak 4, diperoleh nilai $n \geq 18/3$ atau $n \geq 6$. Karena jumlah replikasi minimal, maka nilai n dibulatkan ke atas sehingga digunakan 4 ulangan untuk setiap perlakuan.

2.11 Validasi dan Kendali Mutu Pemeriksaan Laboratorium

Validasi metode dan kendali mutu merupakan bagian penting dalam sistem jaminan kualitas laboratorium klinik. Tujuannya adalah memastikan hasil pemeriksaan memiliki tingkat akurasi, presisi, dan keandalan yang sesuai dengan standar yang berlaku. Pengendalian mutu meliputi seluruh siklus proses laboratorium mulai dari tahap pra-analitik, analitik, hingga pasca-analitik (Daimane *et al.*, 2024).

Menurut (Warade, 2024), kualitas hasil pemeriksaan glukosa tidak hanya bergantung pada metode analitik yang digunakan, tetapi juga pada kestabilan sampel dan penanganan pra-analitik yang benar. Kesalahan pada tahap pengambilan dan penyimpanan sampel dapat menyebabkan hasil pemeriksaan yang bias hingga 15% dibandingkan nilai sebenarnya. Oleh sebab itu, validasi metode

perlu dilakukan secara berkala setiap kali laboratorium mengganti alat atau reagen untuk menjamin konsistensi hasil pemeriksaan.

Penelitian (Bakkebo et al., 2024) menyebutkan bahwa stabilitas glukosa dalam serum hasil pemisahan cepat dapat bertahan hingga lima hari pada suhu ruang, sehingga dapat dijadikan acuan dalam uji validasi laboratorium terhadap durasi penyimpanan sampel. Validasi juga harus memperhatikan faktor linearitas alat, sensitivitas deteksi, serta pengaruh suhu dan jenis tabung terhadap hasil analisis.

Selain validasi internal, program pengendalian mutu eksternal juga diperlukan. Laboratorium klinik disarankan mengikuti program *External Quality Assessment* (EQA) untuk membandingkan hasil pemeriksaan antar laboratorium. Kegiatan ini bertujuan untuk menilai kesesuaian antar metode dan memastikan reliabilitas sistem pengujian yang digunakan (Nakanga et al., 2022).

Pengendalian mutu internal dilakukan dengan menggunakan bahan kontrol glukosa dengan konsentrasi tinggi dan rendah setiap hari kerja laboratorium. Hasil kontrol kemudian dianalisis menggunakan grafik Levey-Jennings untuk menentukan apakah sistem analitik masih berada dalam batas kendali yang dapat diterima. Apabila hasil kontrol menunjukkan deviasi di luar batas, maka alat harus segera dikalibrasi ulang sebelum digunakan untuk pemeriksaan rutin (Warade, 2024). Dengan demikian, validasi metode dan kendali mutu merupakan dua aspek yang tidak dapat dipisahkan dalam praktik laboratorium klinik, karena keduanya berperan besar dalam menjamin hasil pemeriksaan glukosa yang akurat dan dapat dipertanggungjawabkan secara ilmiah.

2.11.1 Tahap Pra-Analitik

Tahap pra-analitik merupakan tahap pertama dalam siklus pengujian laboratorium dan sering menjadi sumber kesalahan tertinggi. Menurut (Nakanga et al., 2022), sekitar 60–70% kesalahan laboratorium berasal dari tahap pra-analitik, terutama akibat penanganan sampel yang tidak sesuai prosedur standar. Kesalahan ini dapat berupa keterlambatan pemrosesan penggunaan jenis tabung yang tidak sesuai, atau penyimpanan sampel pada suhu yang tidak dianjurkan.

Penelitian (Warade, 2024) menegaskan bahwa waktu pemisahan plasma atau serum setelah pengambilan darah merupakan faktor utama yang memengaruhi keakuratan hasil pemeriksaan glukosa. Dalam studinya, kadar glukosa mulai menurun signifikan setelah empat jam penyimpanan pada suhu ruang, sedangkan pada suhu 2–4 °C kadar glukosa tetap stabil hingga 24 jam. Hal ini membuktikan bahwa manajemen waktu dan suhu penyimpanan sangat krusial untuk mencegah penurunan nilai glukosa yang disebabkan oleh aktivitas enzimatis sel darah. Setiap laboratorium klinik harus memiliki SOP (*Standard Operating Procedure*) yang jelas tentang batas waktu maksimum antara pengambilan darah hingga pemrosesan sampel. Selain itu, penting dilakukan pelatihan rutin kepada petugas laboratorium agar dapat memastikan kepatuhan terhadap prosedur dan menghindari variasi hasil antar operator (Dibbasey et al., 2024).

2.11.2 Tahap Analitik

Tahap analitik merupakan inti dari proses pemeriksaan laboratorium, di mana analisis dilakukan untuk menghasilkan data kuantitatif kadar glukosa. Pada tahap ini, kinerja alat dan metode analisis sangat menentukan kualitas hasil. Validasi metode, kalibrasi alat, serta penggunaan bahan kontrol internal dilakukan secara berkala untuk memastikan presisi dan akurasi pengukuran (Bakkebo et al., 2024).

Menurut penelitian (Warade, 2024), penggunaan bahan kontrol dengan kadar glukosa tinggi dan rendah sangat penting untuk mendeteksi variasi sistematis dan acak pada alat analitik. Ketika hasil kontrol harian menunjukkan deviasi di luar batas ± 2 SD, maka proses pemeriksaan harus dihentikan sementara hingga penyebabnya teridentifikasi dan dikoreksi.

Penelitian (Dibbasey et al., 2024) juga menyoroti bahwa sistem otomatisasi laboratorium dapat meningkatkan konsistensi hasil pemeriksaan glukosa asalkan faktor pra-analitik seperti kecepatan sentrifugasi dan suhu penyimpanan telah dikendalikan dengan baik. Oleh karena itu, integrasi antara sistem otomatis dan pengendalian mutu manual tetap diperlukan untuk menjamin hasil yang valid dan dapat direplikasi.

2.11.3 Tahap Pasca-Analitik

Tahap pasca Analitik meliputi kegiatan setelah pemeriksaan selesai dilakukan, seperti pelaporan hasil, verifikasi data, interpretasi, dan penyimpanan arsip hasil pemeriksaan. Kesalahan pada tahap ini dapat berdampak pada pengambilan keputusan medis. Menurut (Nakanga et al., 2022), hasil pemeriksaan glukosa darah harus dilaporkan menggunakan satuan yang seragam dan disertai nilai rujukan agar dapat dibandingkan antar laboratorium dengan mudah.

(Warade, 2024) menjelaskan bahwa keterlambatan pelaporan atau kesalahan penulisan hasil dapat mengurangi kepercayaan terhadap validitas hasil pemeriksaan. Oleh karena itu, laboratorium harus memiliki sistem verifikasi berlapis sebelum hasil akhir diserahkan kepada klinisi. Dokumentasi hasil pemeriksaan juga perlu disimpan secara digital dengan pengawasan ketat untuk memudahkan audit internal maupun eksternal. Dengan penerapan sistem kendali

mutu berkelanjutan di seluruh tahapan pemeriksaan, laboratorium klinik dapat memastikan bahwa setiap hasil pemeriksaan glukosa memiliki akurasi yang tinggi dan memberikan kontribusi yang signifikan terhadap penegakan diagnosis dan pemantauan terapi pasien.

