

PERBANDINGAN HASIL PEMERIKSAAN HbA1C METODE *BORONATE AFFINITY DAN NEPHELOMETRY PHOTOMETRY*

Rizka Amalia¹⁾, Christina Destri Wiwis Wijayanti²⁾, Setyo Dwi Santoso¹⁾

¹⁾Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Maarif Hasyim Latif

²⁾D3 Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Maarif Hasyim Latif

Email: ch.destri@dosen.umaha.ac.id

ABSTRACT

HbA1C is glycosylated hemoglobin at the N-terminal group, HbA1C is hemoglobin with a minor component closely related to blood glucose. HbA1C is referred to as the breakdown of sugar in the body's metabolism or glycosylated hemoglobin or glycohemoglobin. HbA1C has several examination methods such as the Boronate Affinity method and Nephelometry Photometry. The two main concepts of HbA1C measurement are based on the separation of hemoglobin fractions and chemical reactions. Both of these methods offer a fast, simple, precise and accurate alternative to the currently used methods and provide substantial freedom from many common hassles. This type of research is comparative analytic experimental. In this study, 25 samples were used during the November-January 2023 period. The purpose of this study was to evaluate the results of the HbA1C examination using two methods. In this study it was concluded that based on the Independent T Test it showed the results of Sig $0.913 > \alpha (0.05)$ so that it could be concluded that there was no significant difference in the results of the two examination methods

Keywords : *HbA1C, Boronate Affinity, Nephelometry Photometry*

PENDAHULUAN

Indonesia telah diprediksi mengalami peningkatan kasus diabetes mellitus tipe 2 (DM2) menjadi sekitar 21,3 juta pada tahun 2030 yang telah dilakukan oleh World Health Organization (WHO). DM2 juga telah diprediksi meningkat sebesar 2-3 kali lipat pada tahun 2035 oleh International Diabetes Federation (IDF) (Perkeni, 2015; ADA, 2017).

DM 2 merupakan penyakit dengan adanya gejala hiperglikemia yang terjadi termasuk penurunan sekresi insulin, penurunan pemanfaatan glukosa, dan peningkatan produksi glukosa. Homeostasis glukosa adalah keseimbangan antara produksi glukosa hepatic dan penyerapan serta pemanfaatan glukosa perifer. Insulin adalah pengatur homeostasis glukosa yang paling penting (Simon dan Wittman, 2019).

Peningkatan prevalensi DM 2 menyebabkan peningkatan kebutuhan

pemeriksaan hemoglobin terglikasi (HbA1c) untuk kontrol glikemik. American Diabetes Association (ADA), WHO dan IDF menyatakan bahwa HbA1c merupakan *marker* dalam pemeriksaan dan diagnosis DM 2 (Perkeni, 2015; ADA, 2017).

HbA1c merupakan hemoglobin A yang mengalami reaksi enzimatik terglisosilasi pada 1 atau 2 terminal N-valin rantai β hemoglobin. Selama masa hidup eritrosit, HbA1c memberikan ukuran kontrol glikemik yang baik dalam darah pasien diabetes (Syed, 2011; Gupta *et al.*, 2017; ADA 2017)

Pemeriksaan HbA1C dapat dilakukan dengan pemisahan fraksi HbA1C dengan Hemoglobin lain dan dapat dilakukan dengan reaksi kimia (Karami & Baradaran, 2014). Metode *nephelometry* mengukur cahaya yang tersebar dari permukaan partikel lateks. Oleh karena itu, sistem otomatis ini telah diadopsi

dan menghasilkan reproduktifitas yang sangat baik (Ackerman dan Rosevear, 1979). Kromatografi afinitas boronat (*boronate affinity*) didasarkan pada pengikatan boronat pada konfigurasi cis-diol yang dibentuk oleh ikatan glukosa dengan hemoglobin dan mengukur total hemoglobin terglukasi (Stirk dan Allen, 1999).

Penelitian tentang perbandingan kadar HbA1c metode *boronate affinity* dan

nephelometry photometry belum pernah dilakukan di Laboratorium Wijaya Kusuma Mojokerto. Berdasarkan latar belakang di atas peneliti tertarik untuk mengetahui perbandingan kadar HbA1c menggunakan metode *boronate affinity* dan *nephelometry photometry* pada pasien DM tipe 2.

METODOLOGI PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Desain penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental analitik. Lokasi pelaksanaan penelitian adalah Klinik Wijaya Kusuma Mojokerto. Penelitian dilaksanakan pada bulan November 2022 hingga Juni 2023.

Sampel penelitian

Populasi dalam penelitian ini yaitu sampel acak dengan parameter pemeriksaan HbA1C yang dilakukan di Laboratorium Klinik Wijaya Kusuma Mojokerto. Penelitian ini menggunakan sebanyak 25 sampel dari sampel pemeriksaan HbA1C yang diperiksa di Laboratorium Klinik Wijaya Kusuma Mojokerto. Metode sampling menggunakan *accidental sampling*. Alat yang digunakan untuk pengukuran afinitas boronate adalah alat

Ephitod 616 sementara untuk pengukuran *nephelometry* adalah alat Mispa

Prosedur Penelitian

Pasien diminta mengisi formulir pemeriksaan medis. Pasien diberi penjelasan mengenai penanganan sampel. Darah diambil dari pasien merupakan darah kapiler *whole blood* yang kemudian dicampur dengan EDTA. Selanjutnya sampel darah dan EDTA dibagi dua kelompok yaitu pengujian dengan alat *Ephitod 616* dan alat Mispa. HbA1c normal berada pada rentang 3,5 – 5,5% sedangkan yang di atas normal adalah $\geq 6,5\%$.

Analisis data

Data dianalisis menggunakan program SPSS, dengan melakukan uji normalitas, uji homogenitas dan uji T *independent*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil dari penelitian adalah dari 25 sampel pasien diperoleh rata-rata hasil pemeriksaan HbA1c dengan metode *Boronate affinity* adalah 6.4 % sedangkan menggunakan *nephelometry photometry* adalah 6.7 %. Uji normalitas keduanya didapatkan adalah $p = 0.321 > \alpha$ sehingga dapat dikatakan bahwa data berdistribusi normal sedangkan uji homogenitas adalah 0.907. Uji T Independent menunjukkan hasil $p = 0.913 > \alpha (0,05)$ sehingga dapat dikatakan bahwa tidak terdapat

perbedaan yang signifikan pada kedua hasil metode pemeriksaan tersebut.

Penelitian lain pernah dilakukan untuk membandingkan hasil pemeriksaan HbA1c yaitu dengan metode *nephelometry*, *HPLC* dan *ion exchange resin*. Hasil pengukuran menunjukkan adanya hubungan terhadap ketiga metode. Rerata hasil pengukuran HbA1c dengan metode *nephelometry*, *HPLC* dan *ion exchange resin* berurutan adalah 7.62%, 8,16% dan 7.84%. korelasi signifikan yang lebih baik

ditunjukkan pada metode *nephelometry* dan *HPLC* (Prathima *et al.*, 2020).

Pengujian menggunakan *HPLC* merupakan *gold standar* dalam pemeriksaan HbA1c, namun biaya yang diperlukan terlalu mahal. Selain itu, pengujian *HPLC* membutuhkan kemampuan dan peralatan yang memadai dan juga waktu yang lebih lama. Uji *nephelometri* dan *ion exchange resin* lebih cepat sebagai alternatif (Dam *et al.*, 2013; Nathan *et al.*, 2008).

Penelitian lain melakukan pengujian terhadap metode *boronate affinity*, *immunoturbidimetry* dan *HPLC* memberikan hasil yang tidak jauh berbeda. Hasil pengukuran metode *boronate affinity*, *immunoturbidimetry* dan *HPLC* terhadap HbA1c berturut-turut adalah 7.81%, 9.16% dan 8.82%. Pada uji cepat *boronate affinity*

terdapat kecenderungan menurunkan hasil uji HbA1c sehingga hasil uji boronate terdapat kemungkinan menyebabkan hasil uji DM2 positif terbaca sebagai uji negatif (Sood, 2012; Schwartz, 2005). Hal ini sesuai dengan hasil penelitian ini yang memberikan nilai HbA1c lebih kecil dibandingkan dengan uji *nephelometry*

Pemeriksaan HbA1c dilaksanakan terhadap pasien dengan glukosa darah sewaktu >200 mg/dl atau glukosa darah puasa >126 mg/dl. HbA1c yang terukur sesuai dengan umur sel darah merah (100-120 hari) dan dapat dipastikan memberikan informasi kadar tinggi glukosa pada waktu 1 bulan yang lalu. Pemeriksaan juga memberi informasi mengenai kepatuhan berobat dan pola makan penderita DM2 (Suprihartini, 2017).

Tabel 1. Hasil pemeriksaan kadar HbA1c pada pasien DM2 laboratorium Wijaya Kusuma Mojokerto

No.	Kode Sampel	Usia (tahun)	Jenis Kelamin	Hasil HbA1c	
				Boronate af (%)	Nephelometry (%)
1	TNS1	60	L	7.4	8.4
2	NYI1	57	P	8.1	7.8
3	NYK1	54	P	7.8	6.8
4	NYR1	56	P	7.3	6.0
5	TND1	50	L	6.6	7.4
6	NYS1	51	P	5.3	6.4
7	NYS2	63	P	5.3	6.7
8	NYN1	66	P	5.3	5.0
9	NYS3	50	P	4.9	5.5
10	TNS2	53	L	5.3	7.4
11	NYW1	46	P	6.2	6.0
12	NYW2	54	P	4.9	5.5
13	TNS3	66	L	7.4	8.3
14	NYR2	74	P	4.8	5.2
15	NYR3	55	P	5.3	6.7
16	NYM1	51	P	5.1	6.2
17	NYS4	53	P	6.3	7.5
18	TNS4	55	L	6.1	6.2
19	TNS5	57	L	5.7	4.8
20	NYS5	50	P	7.3	8.3
21	NYN2	53	P	10.1	11.0
22	TNM1	57	L	7.9	8.7
23	NYT1	71	P	6.1	7.5
24	NYS5	50	P	8.3	9.5
25	TNK1	55	L	5.9	6.7

Tabel 2. Rata-rata hasil pemeriksaan HbA1c *boronate affinity* dan *nephelometry photometry*

Metode pengukuran	Jumlah Hasil	Jumlah sampel	Rata-rata (mean)
<i>boronate affinity</i>	160.9	25	6.4
<i>nephelometry photometry</i>	168.1	25	6.7

Tabel 3. Frekuensi kadar normal dan di atas normal HbA1C

No.	HbA1c	Frekuensi	Persentase (%)
1	Di atas normal	15	60
2	Normal	10	40
	Jumlah	25	100

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian mengenai perbandingan HbA1c yang diukur menggunakan *boronate affinity* dan *nephelometry photometry* menunjukkan bahwa, dari 25 sampel yang telah diukur tidak menunjukkan perbedaan signifikan antara kedua metode. Hasil ini telah ditunjukkan pada uji T independen dengan hasil $p=0.913>\alpha$. Kedua metode dapat dijadikan sebagai metode

utama pengukuran HbA1c dan metode untuk mengkonfirmasi hasil.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis selaku peneliti ingin mengucapkan terima kasih atas semua pihak yang terlibat dalam penelitian ini, terutama untuk seluruh staf Laboratorium Wijaya Kusuma Mojokerto yang turut serta membantu dalam proses pengambilan data.

DAFTAR PUSTAKA

- Ackerman E. dan Rosevear JW. 1976. Immunonephelometric assays. *Medical Progress Through Technology*. 6(2):81-90
- American Diabetes Association. 2014. Standards of Medical Care In Diabetes. *Diabetes Care*, 37(1):14-80
- Dam A.R, Ahuja A.J, Singh M, dan Singh R. 2013. Limitation of HPLC methodology for HbA1c estimation. *Indian J Pathol Microbiol*. 56(4):483-484
- Gupta S., Jain U. dan Chauhan N. 2017. Laboratory Diagnosis of HbA1c: A Review. *Journal of Nanomedicine Research*. 5(4):1-8
- Karami A dan Baradaran, 2014. Comparative Evaluation Of Three Different Methods For HbA1c Measurement With High-Performance Chromatography In Diabetic Patient. *Advanced Biomedical Research*. 3 (94): 6-10
- Nathan D.M, Kuenen J, Borg R, Zheng H, Schoenfeld D, dan Heine RJ. 2008. Translating the A1C assay into estimated average glucose values. *Diabetes Care*. 31(8):1473-78.
- PB. PERKENI. 2015. *Konsensus Pengelolaan dan Pencegahan Diabetes Melitus Tipe 2 di Indonesia 2015*. 1st edn. Jakarta: PB.PERKENI
- Prathima, M.B., Reshma,S., Susith, Shetty, P., Janice, D., Kalal, B.S., Madan, G.R. 2020. Estimation of Glycated Haemoglobin by Nephelometry, Ion Exchange Resin and High Performance Liquid Chromatography: A Cross-sectional Study. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 14(9): 1-4
- Schawrtz, K.L., Monsur, J.C., Bartoces, M.G., West, P.A., dan Neale, A.V. 2005. Correlation of same-visit HbA1c test with laboratory-based measurements: A

- MetroNet study. *BMC Family Practice*. 6(28): 1-7
- Simon K, dan Wittmann I. 2019. Can blood glucose value really be referred to as a metabolic parameter? *Rev Endocr Metab Disord*. 20(2):151-160
- Sood, , R.D. 2012. *Underestimation of HbA1c values by the rapid boronate affinity assay as compared to HPLC, the gold standard and a direct immunoturbidimetric assay for assessment of glycemic control in diabetics*. Scientific Reports. Tulip Group. Diakses pada Desember 2023. <https://www.tulipgroup.com/Evaluations/Quantia-HbA1c.pdf>
- Stirk, H. dan Allen, K.R. 1999. Measurement of glycated haemoglobin by boronate-affinity high-pressure liquid chromatography. *Ann Clin Biochem*. 36:233-234
- Suprihartini, 2017. Hubungan HbA1c Terhadap Kadar Glukosa Darah Pada Penderita Diabetes Mellitus Di RSUD. Abdul Wahab Syahrani Samarinda Tahun 2016. Mahakam Medical Laboratory Technology. 4(3): 171-180
- Syed I.A.A. 2011. Glycated Haemoglobin; Past, Present and Future Are We Ready For The Change. *J Pak Med Assoc*, 61(4): 383-388