



**PENGEMBANGAN LAB DALAM KEPINGAN (LDK) BERBASIS  
KERTAS UNTUK PENETUAN KADAR KOLESTEROL DAN PROTEIN  
PADA SAMPEL URIN SECARA SIMULTAN**

**SKRIPSI**

**Oleh:**

**ANIS DWI ASTUTI**

**NIM 162210101056**

**BAGIAN KIMIA FARMASI**

**FAKULTAS FARMASI**

**UNIVERSITAS JEMBER**

**2020**



**PENGEMBANGAN LAB DALAM KEPINGAN (LDK) BERBASIS  
KERTAS UNTUK PENETUAN KADAR KOLESTEROL DAN PROTEIN  
PADA SAMPEL URIN SECARA SIMULTAN**

**SKRIPSI**

Diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Studi Farmasi (S1) dan mencapai gelar Sarjana Farmasi

**Oleh:**

**ANIS DWI ASTUTI**

**NIM 162210101056**

**BAGIAN KIMIA FARMASI**

**FAKULTAS FARMASI**

**UNIVERSITAS JEMBER**

**2020**

## PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Sang Pencipta Allah SWT yang Maha pengasih dan penyayang berkat rahmatnya saya dapat menyelesaikan skripsi ini;
2. Ayahanda Asan Irianto dan Ibunda Lasmi Nuryati tercinta yang telah mencurahkan seluruh perhatian dan kasih sayang, pengorbanan dan mendoakanku dengan penuh kesabaran berharap yang terbaik selalu hadir dalam hidupku. Kakakku tercinta Susilo Wati Ayu Ningtias yang menjadi kebanggaanku;
3. Bapak Prof. Drs. Bambang Kuswandi, M.Sc., Ph.D, saya ucapkan terimakasih atas bimbingan, saran, dan segala perhatian hingga terselesaikannya skripsi ini. Bapak apt. Ari Satia Nugraha, S.F.,GDip.,MSc-res., Ph.D, saya ucapkan terimakasih atas segala bimbingan, saran, nasihat yang selama ini bapak berikan. Ibu Wayan dan Ibu Hani, saya ucapkan terimakasih atas segala bantuan yang ibu berikan sampai terselesaikannya skripsi ini;
4. Ibu apt. Nia Kristiningrum, S.Fram.,M.Farm, saya ucapkan terimakasih atas bimbingan selama 4 tahun ini yang telah memberikan nasihat dan dorongan semangat agar dapat menyelesaikan skripsi;
5. Sahabat-sahabatku Kos Wisma Kalida Diyah, Feni, Fazaria, Melani, Rizka dan Dini terimakasih atas bantuan dan dorongan semangat selama ini. Sahabatku tercinta Maratur, Dayu, dan Sara yang selalu memberikan doa dan semangat;
6. Teman-teman sekelompok Itut, Eka, dan Kintan terimakasih atas bantuan, dorongan semangat selama kebersamaan kita dalam melakukan penelitian;
7. Para pahlawan tanpa tanda jasa yang telah menyalurkan ilmunya tanpa pamrih di TK Harapan, SDN Kedungdalem 1, SMP Negeri 2 Probolinggo, SMA Negeri 4 Probolinggo, dan Fakultas Farmasi Universitas Jember.
8. Almamater tercinta Fakultas Farmasi Universitas Jember.

**MOTTO**

“Sesungguhnya Allah tidak akan merubah keadaan suatu kaum sehingga mereka merubah keadaan yang ada pada diri mereka sendiri”.

(QS. Ar Ra’d : 11)

“Pandanglah hari ini. Kemarin adalah mimpi. Dan esok hari hanyalah sebuah visi. Tetapi, hari ini yang sungguh nyata, menjadikan kemarin sebagai mimpi bahagia, dan setiap hari esok sebagai visi harapan”.

(Alexander Pope)

“Berusaha dan berdo’a semaksimal mungkin untuk mengejar cita-citamu”.

(Penulis)

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Anis Dwi Astuti

NIM : 162210101056

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul *Pengembangan Lab Dalam Kepingan (LDK) Berbasis Kertas Untuk Penentuan Kadar Kolesterol dan Protein pada Sampel Urin Secara Simultan* adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada instansi manapun, serta bukan karya jilplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 17 Desember 2020

Yang menyatakan,

Anis Dwi Astuti

NIM 162210101056

**SKRIPSI**

**PENGEMBANGAN LAB DALAM KEPINGAN (LDK) BERBASIS  
KERTAS UNTUK PENETUAN KADAR KOLESTEROL DAN PROTEIN  
PADA SAMPEL URIN SECARA SIMULTAN**

Oleh:

**ANIS DWI ASTUTI**

**NIM 162210101056**

Pembimbing :

Dosen Pembimbing Utama : Prof. Drs. Bambang Kuswandi, M.Sc., Ph.D.

Dosen Pembimbing Anggota : apt. Ari Satia Nugraha, S.F.,GDipSc.,MSc-res., Ph.D.

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul *Pengembangan Lab Dalam Kepingan (LDK) Berbasis Kertas Untuk Penentuan Kadar Kolesterol dan Protein pada Sampel Urin Secara Simultan* telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Farmasi Universitas Jember pada :  
hari, tanggal : Kamis, 17 Desember 2020  
tempat : Fakultas Farmasi

**Tim Pembimbing**

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

Prof. Drs. Bambang Kuswandi, M.Sc., Ph.D.

apt. Ari Satia Nugraha, S.F., GDipSc., MSc-res., Ph.D.

NIP. 196902011994031002

NIP. 197807212003121001

**Tim Penguji**

Dosen Penguji I,

Dosen Penguji II,

apt. Dwi Koko Pratoko, S.Farm., M.Sc.

apt. Indah Purnama Sary, S.Si., M.Farm.

NIP. 198504282009121004

NIP. 198304282008122004

Mengesahkan

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember,

apt. Lestyo Wulandari, S.Si., M.Farm

NIP. 197604142002122001

## RINGKASAN

### **Pengembangan Lab Dalam Kepingan (LDK) Berbasis Kertas Untuk Penentuan Kadar Kolesterol dan Protein pada Sampel Urin Secara Simultan;**

Anis Dwi Astuti; 162210101056; 155; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Sebagian besar kolesterol yang masuk ke dalam tubuh melalui makanan, jika seseorang mengonsumsi makanan secara berlebih maka akan meningkatkan kadar kolesterol secara drastis, sedangkan protein adalah bagian dari semua sel hidup dan merupakan bagian terbesar tubuh sesudah air. Sejumlah besar protein secara normal melewati glomerulus tetapi tidak memasuki urin. Protein dalam urin dapat menunjukkan adanya kerusakan pada glomerulus. Adanya kolesterol dan protein yang berlebih di dalam urin sangatlah penting untuk menegakkan diagnosa penyakit, contoh penyakit yang dapat dialami akibat tingginya kadar kolesterol dan protein pada urin yaitu Penyakit Ginjal Kronik (PGK). Penyakit ginjal kronik adalah proses kerusakan pada ginjal atau penurunan laju filtrasi glomerular di bawah  $60 \text{ mL}/\text{min}/1,73 \text{ m}^2$  dengan rentang waktu  $>3$  bulan.

Oleh karena itu, diupayakan suatu teknologi untuk mendeteksi kolesterol dan protein pada urin yang siap digunakan setiap saat, tanpa membutuhkan waktu yang lama, mudah penggunaannya, dan harganya yang terjangkau. Salah satu teknologi yang dapat digunakan adalah sensor kimia berbasis reagen kering yang dapat dilakukan secara semikuantitatif dengan penglihatan mata biasa. Hal ini biasa disebut dengan sensor kimia. Sensor kimia yang dikembangkan berupa Lab Dalam Kepingan (LDK) yang berasal dari kertas saring berbahan serat selulosa untuk mendeteksi kolesterol dan protein pada urin secara cepat dan praktis dibandingkan dengan menggunakan larutan yang membutuhkan waktu yang lama.

Bentuk LDK yang dikembangkan terdiri dari 3 ruang yaitu 2 ruang tempat reagen dan 1 ruang untuk tempat sisa sampel. Kondisi optimum operasional LDK meliputi volume reagen optimum yang digunakan sebesar  $1,3 \mu\text{L}$ , sedangkan



volume sampel optimum adalah 25  $\mu$ L. Konsentrasi enzim kolesterol oksidasi yang digunakan yaitu 5 U/mL dan larutan reagen 2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) yang digunakan adalah 5.000 mg/dL untuk deteksi kolesterol, sedangkan konsentrasi larutan reagen *tetrabromophenol blue* yang digunakan 1.000 mg/dL untuk deteksi protein. Intensitas warna yang digunakan untuk deteksi kolesterol adalah *Mean Blue*, sedangkan intensitas warna untuk deteksi protein yaitu *Mean RGB* yang diperoleh dari program aplikasi "ImageJ".

Hasil karakteristik LDK meliputi: waktu respon yang dihasilkan LDK untuk mencapai nilai konstan untuk deteksi kolesterol  $\pm 15$  menit, sedangkan pada protein  $\pm 10$  menit. LDK sebagai sensor kimia memiliki koefisien korelasi dari linieritas yaitu 0,9999 untuk deteksi kolesterol dan 0,9996 untuk deteksi protein. Nilai LOD dan LOQ untuk deteksi kolesterol meliputi 0,76739270 mg/dL dan 2,30217800 mg/dL, sedangkan nilai LOD dan LOQ pada protein yaitu 0,81388880 mg/dL dan 2,44166600 mg/dL. LDK untuk deteksi kolesterol cukup sensitif dengan nilai *slope* 0,2882 mg/dL, sedangkan nilai sensitivitas pada protein sebesar 0,5044 mg/dL. LDK ini cukup selektif karena dengan adanya pengganggu asam urat dan glukosa pada sampel urin tidak mempengaruhi kerja reagen pada LDK dan nilai selektivitas yang diperoleh  $< 5\%$ . LDK ini juga memiliki nilai presisi dan akurasi yang baik. Nilai RSD yang diperoleh untuk deteksi kolesterol dan protein yaitu  $< 5,3\%$ , LDK untuk deteksi kolesterol dan protein cukup akurat dari hasil akurasi yang telah memenuhi rentang persyaratan yaitu 90 – 107%. Waktu pakai pada LDK tidak dapat digunakan  $> 1$  hari pada suhu ruang, sedangkan waktu pakai pada suhu kulkas dapat digunakan sampai hari ke-6.

LDK dapat diaplikasikan pada sampel urin simulasi untuk mendeteksi awal Penyakit Ginjal Kronik (PGK). Hal ini dapat dibuktikan dengan kesesuaian hasil deteksi LDK dengan hasil deteksi dipstik urin untuk deteksi protein, sedangkan untuk deteksi kolesterol dibandingkan dengan standar kolesterol yang dibuat sendiri dengan konsentrasi 7 mg/dL - 70 mg/dL. LDK lebih mudah, efisien dan praktis, sehingga LDK sebagai sensor kimia dapat digunakan sebagai alternatif untuk deteksi awal Penyakit Ginjal Kronik.

## PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini yang berjudul *Pengembangan Lab Dalam Kepingan (LDK) Berbasis Kertas Untuk Penentuan Kadar Kolesterol dan Protein pada Sampel Urin Secara Simultan*. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Jurusan Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

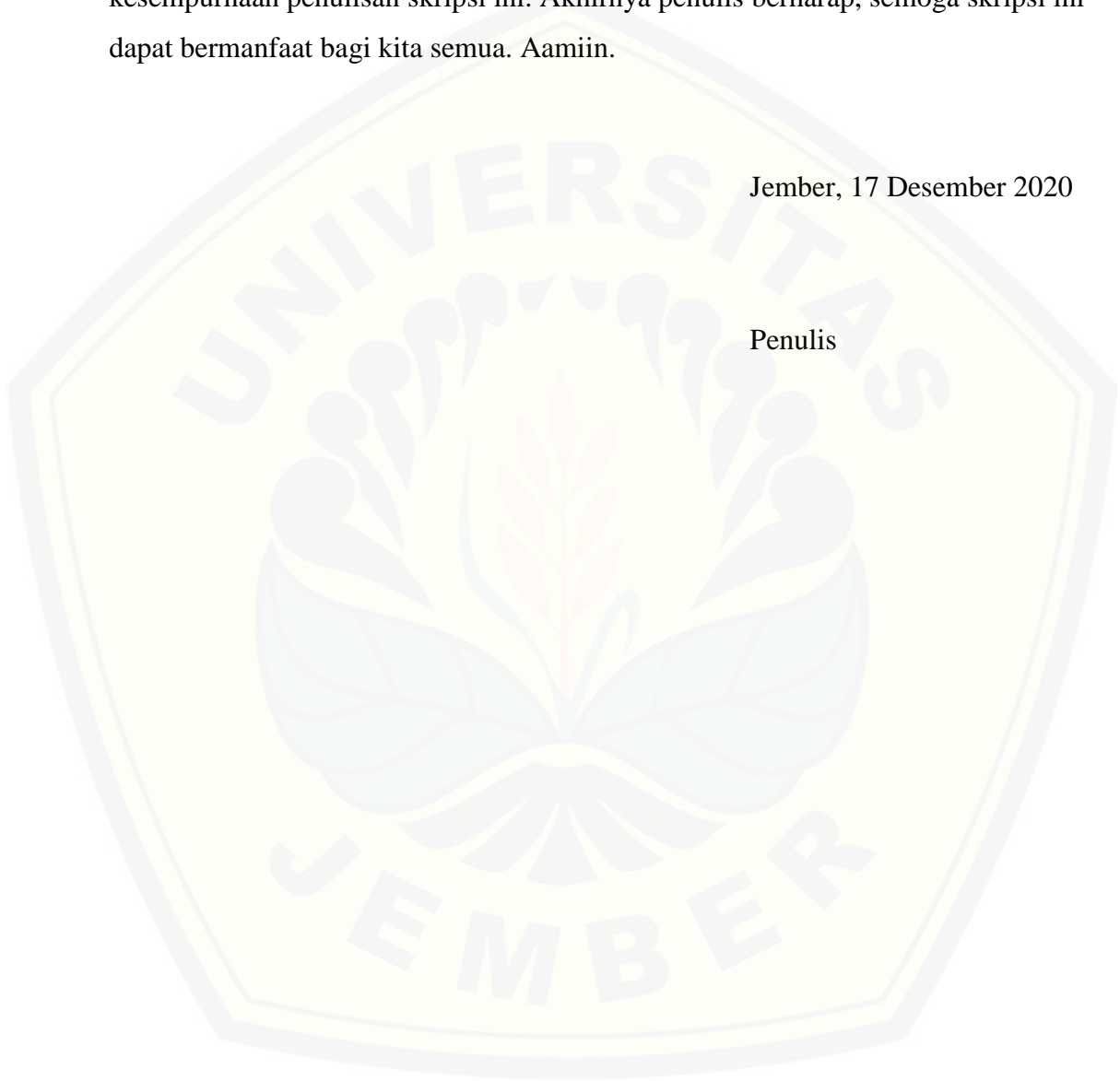
1. Bapak Prof. Drs. Bambang Kuswandi, M.Sc., Ph.D selaku Dosen Pembimbing Utama, Bapak apt. Ari Satia Nugraha, S.F.,GDip.,MSc-res., Ph.D. selaku Dosen Pembimbing Anggota, Bapak apt. Dwi Koko Pratoko, S.Farm.,M.Sc. selaku Dosen Penguji I, Ibu apt. Indah Purnama Sary, S.Si.,M.Farm. selaku Dosen Penguji II atas bantuan dan dukungan baik materi, motivasi, pikiran, maupun waktu dalam penulisan skripsi ini;
2. Ibu apt. Lestyo Wulandari, S.Si., M.Farm selaku dekan Fakultas Farmasi, dosen, karyawan, dan teknisi yang telah memberikan bantuan selama menyelesaikan skripsi ini;
3. Ayah dan ibuku "*The Best Couple Parents*" yang mengajarkanku kasih sayang, kesabaran, keikhlasan, keberanian, kerja keras, kemandirian, tanggung jawab, dan doa yang terus mengalir serta segala pengorbanan selama ini;
4. Kakakku tercinta atas semangat yang diberikan untuk mengejar masa depan yang baik;
5. Sahabat sepejuanganku tercinta Dayu, Sara, Nargiss dan Diyah terimakasih atas perhatian, pengertian dan pertolongan dan kekompakan dalam menjalani kehidupan di kampus;
6. Teman seperjuangan sensor klinik Itut, Eka, dan Kintan atas bantuan dan motivasi yang membuatku terus semangat;

7. Semua pihak yang terlibat secara langsung maupun tidak langsung memberikan bantuan dan dukungan dalam menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna sehingga saran dan kritik dari semua pihak diterima dengan senang hati demi kesempurnaan penulisan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita semua. Aamiin.

Jember, 17 Desember 2020

Penulis



**DAFTAR ISI**

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	ii
<b>HALAMAN MOTTO</b> .....	iii
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	iv
<b>HALAMAN PEMBIMBING SKRIPSI</b> .....	v
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	vi
<b>RINGKASAN</b> .....	vii
<b>PRAKATA</b> .....	ix
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xi
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xv
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xvi
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xviii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	1
<b>1.1 Latar Belakang</b> .....	1
<b>1.2 Rumusan Masalah</b> .....	4
<b>1.3 Tujuan Penelitian</b> .....	4
<b>1.4 Manfaat Penelitian</b> .....	5
<b>1.5 Batasan Masalah</b> .....	5
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	6
<b>2.1 Tinjauan Tentang Kolesterol</b> .....	6
2.1.1 Metabolisme Kolesterol .....	7
2.1.2 Tinjauan Tentang Hiperkolesteroluria .....	8
<b>2.2 Tinjauan Tentang Protein</b> .....	9
2.2.1 Metabolisme Protein .....	11
2.2.2 Tinjauan Tentang Proteinuria.....	13
2.2.3 Pemeriksaan Proteinuria.....	14
<b>2.3 Tinjauan Tentang Penyakit Ginjal Kronik (PGK)</b> .....	15
<b>2.4 Tinjauan Tentang Urin</b> .....	16
2.4.1 Definisi Urin.....	16

2.4.2	Komposisi Urin .....	17
2.4.3	Sifat fisik .....	18
2.4.4	Macam-macam Sampel Urin.....	18
<b>2.5</b>	<b>Tinjauan Tentang Enzim .....</b>	<b>19</b>
2.5.1.	Sifat-Sifat Enzim .....	19
2.5.2.	Cara Kerja Enzim .....	20
<b>2.6</b>	<b>ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazo line-6- sulfonic acid)) ..</b>	<b>22</b>
<b>2.7</b>	<b>Tetrabromophenol Blue .....</b>	<b>24</b>
<b>2.8</b>	<b>Teknik Imobilisasi .....</b>	<b>26</b>
2.8.1.	Adsorpsi .....	26
2.8.2.	<i>Entrapment</i> .....	27
2.8.3.	Enkapsulasi.....	28
2.8.4.	<i>Crosslinking</i> .....	28
2.8.5.	Ikatan Kovalen .....	29
<b>2.9</b>	<b>Sensor Kimia .....</b>	<b>29</b>
2.9.1.	Definisi Sensor Kimia .....	29
2.9.2.	Mekanisme Sensor Kimia .....	30
2.9.3.	Aplikasi Sensor Kimia .....	31
<b>2.10</b>	<b>Karakteristik Sensor Kimia.....</b>	<b>32</b>
2.10.1.	Daerah Kerja .....	32
2.10.2.	Selektivitas .....	33
2.10.3.	Sensitivitas .....	33
2.10.4.	Presisi .....	33
2.10.5.	Akurasi .....	33
2.10.6.	Waktu Respon dan Waktu Pakai.....	34
<b>2.11</b>	<b>LDK (Lab Dalam Kepingan) .....</b>	<b>35</b>
<b>2.12</b>	<b><i>ImageJ</i> .....</b>	<b>37</b>
<b>BAB 3.</b>	<b>METODE PENELITIAN.....</b>	<b>39</b>
<b>3.1</b>	<b>Jenis Penelitian.....</b>	<b>39</b>
<b>3.2</b>	<b>Tempat dan Waktu Penelitian.....</b>	<b>39</b>
3.2.1	Tempat Penelitian.....	39
3.2.2	Waktu Penelitian .....	39
<b>3.3</b>	<b>Rancangan Penelitian .....</b>	<b>39</b>
3.3.1	Rancangan Operasional.....	39

3.3.2 Diagram Alur Penelitian.....	40
<b>3.4 Alat dan Bahan .....</b>	<b>41</b>
3.4.1 Alat.....	41
3.4.2 Bahan.....	41
<b>3.5 Prosedur Penelitian.....</b>	<b>41</b>
3.5.1 Preparasi untuk Penentuan Kadar Kolesterol .....	41
3.5.2 Preparasi untuk Penentuan Kadar Protein .....	42
3.5.3 Preparasi Larutan Blangko .....	43
3.5.4 Preparasi Sampel Urin Simulasi.....	43
<b>3.6 Model LDK yang Dimodifikasi Sensor Kimia .....</b>	<b>43</b>
<b>3.7 Pengukuran Analit Terhadap LDK .....</b>	<b>43</b>
<b>3.8 Optimasi LDK.....</b>	<b>44</b>
3.8.1. Optimasi Volume Reagen .....	44
3.8.2. Optimasi Volume Sampel .....	44
3.8.3. Optimasi Konsentrasi Larutan Reagen <i>2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)</i> .....	44
3.8.4. Optimasi Konsentrasi Larutan Reagen <i>Tetrabromophenol Blue</i> .....	44
3.8.5. Optimasi Intensitas Warna .....	45
3.8.6. Optimasi pH Reagen <i>Tetrabromophenol Blue</i> .....	45
<b>3.9 Karakteristik LDK .....</b>	<b>45</b>
3.9.1 Penentuan Waktu Respon LDK .....	45
3.9.2 Linieritas.....	46
3.9.3 Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi.....	46
3.9.4 Sensitivitas .....	46
3.9.5 Selektivitas .....	47
3.9.6 Presisi .....	47
3.9.7 Akurasi .....	47
3.9.8 Waktu Pakai .....	47
<b>3.10 Populasi dan Sampel.....</b>	<b>48</b>
3.10.1 Populasi.....	48
3.10.2 Sampel .....	48
<b>3.11 Aplikasi LDK pada Sampel Urin Simulasi.....</b>	<b>49</b>
<b>3.12 Komparasi Hasil LDK pada Sampel Urin Simulasi.....</b>	<b>49</b>
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>50</b>

<b>4.1. Fabrikasi LDK</b> .....	50
4.1.1 Proses Imobilisasi Reagen .....	51
<b>4.2. Optimasi LDK</b> .....	52
4.2.1 Optimasi Volume Reagen .....	52
4.2.2 Optimasi Volume Sampel .....	53
4.2.3 Optimasi Konsentrasi Larutan Reagen <i>2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)</i> (ABTS).....	54
4.2.4 Optimasi Konsentrasi Larutan Reagen <i>Tetrabromophenol Blue</i> .....	54
4.2.5 Optimasi Intensitas Warna .....	56
4.2.6 Optimasi pH Reagen <i>Tetrabromophenol Blue</i> .....	60
<b>4.3. Kemampuan LDK dalam Pengukuran Kadar Kolesterol dan Protein</b> .....	61
4.3.1 Waktu Respon LDK .....	62
4.3.2 Linieritas.....	63
4.3.3 Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi.....	69
4.3.4 Sensitivitas .....	70
4.3.5 Selektivitas .....	72
4.3.6 Presisi .....	74
4.3.7 Akurasi .....	76
4.3.8 Waktu Pakai .....	78
<b>4.4. Aplikasi LDK pada Sampel Urin Simulasi</b> .....	81
<b>4.5. Komparasi Hasil LDK dengan Hasil Tes Dipstik Urin pada Sampel Urin Simulasi</b> .....	87
<b>BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....	88
<b>5.1 Kesimpulan</b> .....	88
<b>5.2 Saran</b> .....	89
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	90
<b>LAMPIRAN</b> .....	96

**DAFTAR TABEL**

	Halaman
2. 1 Penafsiran Keberadaan Protein dalam Urin Proteinuria .....	15
2. 2 Klasifikasi PGK .....	16
2. 3 Diagram Deteksi Dini Penyakit Ginjal .....	16
4.1 Nilai $\Delta$ Mean Blue dari Linieritas Standar Kolesterol .....	64
4.2 Nilai $\Delta$ Mean RGB dari Linieritas Standar Protein .....	67
4.3 Nilai Pengukuran % Interferensi Standar Kolesterol .....	73
4.4 Nilai Pengukuran % Interferensi Standar Protein .....	74
4.5 Nilai Presisi Standar Kolesterol .....	75
4.6 Nilai Presisi Standar Protein .....	76
4.7 Nilai Akurasi Standar Kolesterol .....	77
4.8 Nilai Akurasi Standar Protein .....	77
4.9 Presisi Urin Simulasi.....	82
4.10 Nilai Presisi Urin Simulasi 1.....	83
4.11 Nilai Presisi Urin Simulasi 2.....	84
4.12 Nilai Presisi Urin Simulasi 3.....	84
4.13 Nilai Presisi Urin Simulasi 4.....	84
4.14 Nilai Akurasi Urin Simulasi 1.....	85
4.15 Nilai Akurasi Urin Simulasi 2.....	85
4.16 Nilai Akurasi Urin Simulasi 3.....	86
4.17 Nilai Akurasi Urin Simulasi 4.....	86



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Struktur Molekul Kolesterol .....	6
2.2 Jalur Metabolisme Kolesterol .....	8
2.3 Struktur Primer Suatu Protein .....	10
2.4 Siklus Asam Trikarboksilat (TCA) .....	12
2.5 <i>Biochemical Totipotent Molecules</i> .....	12
2.6 Model Kunci Gembok .....	21
2.7 Model Kesesuaian Terinduksi ( <i>Induced fit model</i> ) .....	22
2.8 ABTS ( <i>2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazole-6-sulfonic acid)</i> ) .....	23
2.9 Reaksi <i>2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzthiazole-6-sulfonic acid)</i> dengan <i>Hydrogen Peroxidase</i> .....	24
2.10 Struktur <i>Tetrabromophenol Blue</i> .....	25
2.11 Reaksi <i>Tetrabromophenol Blue</i> dengan Protein .....	25
2.12 Teknik Adsorpsi .....	26
2.13 Teknik <i>Entrapment</i> .....	28
2.14 Teknik enkapsulasi .....	28
2.15 Teknik <i>Crosslinking</i> .....	29
2.16 Teknik Kovalen .....	29
2.17 Skema Sensor Kimia .....	30
2.18 Waktu Respon Sensor .....	34
2.19 Waktu Pakai Sensor .....	35
2.20 Skematis dari $\mu$ TAS dengan detektor optik dan <i>lab-on-a-chip</i> .....	36
2.21 Program <i>ImageJ</i> .....	37
2.22 Tampilan Area Kerja <i>ImageJ</i> .....	38
3.1 Diagram Alur Penelitian .....	40
3.2 Model LDK yang Dimodifikasi Sensor Kimia .....	43
4.1 Bentuk LDK dengan Hasil Cetak Sablon .....	50
4.2 LDK setelah Imobilisasi .....	52
4.3 LDK dengan Penambahan Beberapa Volume Reagen .....	53
4.4 LDK dengan Penambahan Beberapa Volume Sampel .....	53

4.5 LDK dengan Penambahan Beberapa Konsentrasi Larutan Reagen 2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid).....	54
4.6 LDK dengan Penambahan Beberapa Konsentrasi Larutan Reagen Tetrabromophenol Blue .....	56
4.7 Kurva Hubungan antara Konsentrasi Standar Kolesterol dengan $\Delta$ Mean Red .....	57
4.8 Kurva Hubungan antara Konsentrasi Standar Kolesterol dengan $\Delta$ Mean Green .....	57
4.9 Kurva Hubungan antara Konsentrasi Standar Kolesterol dengan $\Delta$ Mean Blue .....	57
4.10 Kurva Hubungan antara Konsentrasi Standar Kolesterol dengan $\Delta$ Mean RGB .....	58
4.11 Kurva Hubungan antara Konsentrasi Standar Protein dengan $\Delta$ Mean Red. 58	
4.12 Kurva Hubungan antara Konsentrasi Standar Protein dengan $\Delta$ Mean Green .....	59
4.13 Kurva Hubungan antara Konsentrasi Standar Protein dengan $\Delta$ Mean Blue 59	
4.14 Kurva Hubungan antara Konsentrasi Standar Protein dengan $\Delta$ Mean RGB 59	
4.15 LDK sebelum Penambahan Standar Protein.....	60
4.16 LDK setelah Penambahan Standar Protein .....	60
4.17 Kurva pH Reagen Tetrabromophenol Blue .....	61
4.18 Kurva Waktu Respon Standar Kolesterol .....	62
4.19 Kurva Waktu Respon Standar Protein .....	63
4.20 Kurva Linieritas Standar Kolesterol .....	66
4.21 Kurva Linieritas Standar Protein .....	68
4.22 Nilai Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi Standar Standar .....	69
4.23 Nilai Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi Standar Protein.....	70
4.24 Kurva Waktu Pakai Suhu Ruang Standar Kolesterol .....	78
4.25 Kurva Waktu Pakai Suhu Ruang Standar Protein.....	79
4.26 Kurva Waktu Pakai Suhu Kulkas Standar Kolesterol.....	80
4.27 Kurva Waktu Pakai Suhu Kulkas Standar Protein.....	80

**DAFTAR LAMPIRAN**

	Halaman
LAMPIRAN A. BAHAN.....	96
LAMPIRAN B. OPTIMASI KONSENTRASI .....	97
LAMPIRAN C. WAKTU RESPON.....	104
LAMPIRAN D. LINIERITAS .....	105
LAMPIRAN E. SELEKTIVITAS .....	107
LAMPIRAN F. PRESISI .....	109
LAMPIRAN G. AKURASI.....	112
LAMPIRAN H. HASIL PRESISI URIN SIMULASI.....	117
LAMPIRAN I. HASIL AKURASI URIN SIMULASI.....	129
LAMPIRAN J. WAKTU PAKAI.....	151
LAMPIRAN K. PERHITUNGAN ENZIM KOLESTEROL.....	153
LAMPIRAN L. DESAIN PRODUK.....	154

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Masalah kesehatan semakin sering terjadi dengan munculnya berbagai macam penyakit baru yang solusi pengobatannya belum ditemukan. Perubahan gaya hidup pada masyarakat sangat signifikan terutama di era globalisasi. Perubahan gaya hidup adalah berubahnya sikap dan perilaku masyarakat dikarenakan datangnya lingkungan hidup baru yang berasal dari luar negeri yang akan berdampak negatif pada globalisasi. Perubahan gaya hidup dapat terjadi karena semakin rendahnya keseimbangan antara aktivitas ataupun olahraga yang dilakukan oleh seseorang dibandingkan dengan pola makan pada masyarakat, sehingga akan menimbulkan masalah kesehatan. (Anggraini dan Nabillah, 2018). Masyarakat di era globalisasi saat ini, lebih sering mengonsumsi *fast food* jika dibandingkan dengan masakan rumahan. Kadar lemak pada *fast food* lebih tinggi terutama lemak jenuh, contohnya makanan hewani yang berlemak, seperti susu dan kuning telur (Nugroho dkk., 2008). Metode *deep fried* yang digunakan dalam mengolah *fast food* menyebabkan kandungan lemak di dalamnya melonjak tinggi sehingga dapat meningkatkan kadar lemak di dalam tubuh dan dapat memicu munculnya penyakit. Contoh penyakit yang sering dialami oleh masyarakat yaitu Penyakit Ginjal Kronik (PGK) yang dapat diakibatkan karena tingginya kadar kolesterol dan protein (Sobotka dkk., 1938).

Sebagian besar kolesterol yang masuk ke dalam tubuh melalui makanan, jika seseorang mengonsumsi makanan secara berlebih maka akan meningkatkan kadar kolesterol secara drastis (Julianus, 2009). Prevalensi penduduk Indonesia dengan perilaku konsumsi makanan berkolesterol yaitu lebih dari atau sama dengan satu kali per hari yaitu 40,7%. Lima provinsi tertinggi dengan konsumsi makanan berkolesterol tertinggi di atas rata-rata adalah Jawa Tengah sebanyak 60,3%, Daerah Istimewa Yogyakarta sebanyak 50,7%, Jawa Barat sebanyak 50,1%, Jawa Timur sebanyak 50,1%, dan Banten sebanyak 48,8% (RISKESDAS, 2013).

Tidak hanya kolesterol saja, namun proteinuria juga sering diderita oleh kalangan masyarakat. Proteinuria terjadi apabila pada urin manusia terdapat protein yang nilainya lebih dari batas normal, pada orang dewasa  $>150$  mg/24 jam, sedangkan untuk anak-anak  $>140$  mg/m<sup>2</sup>. Urin normal, hanya mengandung sedikit protein yaitu  $<10$  mg/dL atau  $<150$  mg/24 jam (Jumaydha dkk., 2016). Apabila memiliki kadar  $>200$  mg/harinya dan dilakukan berulang kali pemeriksaan pada waktu yang berbeda, hal tersebut dapat dikatakan bahwa proteinuria bersifat patologis (Tjiptaningrum dan Bayu Arief Hartanto, 2016). Proteinuria dapat dialami oleh pasien Penyakit Ginjal Kronik (PGK) yang mengalami hipoalbuminemia. Penyakit ginjal kronik adalah proses kerusakan pada ginjal atau penurunan laju filtrasi glomerular di bawah  $60$  mL/min/1,73 m<sup>2</sup> dengan rentang waktu  $>3$  bulan (Kemenkes, 2017).

Urin normal yang mengandung kolesterol sekitar  $6 - 35$  mg/dL (Peng dkk., 1997). Kadar kolesterol pada urin  $0,15 - 4,2$  mg/24 jam (Comings, 1963). Peningkatan kadar kolesterol pada urin dapat menyebabkan hiperkolesteroluria (Sobotka dkk., 1938). Kolesterol urin dan protein urin memiliki korelasi yang positif pada pasien dengan sindrom nefrotik, hal tersebut disebabkan karena peningkatan filtrasi glomerulus lipoprotein plasma (D. Jfingst, J. Wallner, 1980). Sindrom nefrotik merupakan salah satu faktor resiko yang mempengaruhi seseorang menderita PGK (Arif Rifqi Pambudi, 2015).

Prevalensi global PGK sebanyak 13,4%. PGK pada tahun 1990 merupakan penyebab kematian peringkat ke-27 dan pada tahun 2010 mengalami peningkatan menjadi urutan ke-18. Pasien yang terdiagnosis PGK pada umur  $\geq 15$  tahun sebesar 0,2%. Bertambahnya umur dapat meningkatkan prevalensi dari PGK, misalnya pada kelompok usia 35 sampai 44 tahun dapat meningkatkan resiko PGK dibandingkan dengan kelompok usia 25 sampai 34 tahun. Prevalensi pada pria lebih tinggi yaitu sebesar 0,3%, sedangkan wanita sebesar 0,2 %. Prevalensi juga lebih tinggi pada penduduk yang tidak sekolah sebesar 0,4%, penduduk pedesaan sebesar 0,3%, dan petani/buruh/nelayan/pekerja wiraswasta sebesar 0,3%. Prevalensi tertinggi pada provinsi yaitu Sulawesi Tengah sebanyak 0,5%, sedangkan Aceh, Sulawesi Utara, dan Gorontalo sebesar 0,4% (Kemenkes, 2017).

Berbagai teknis analisis laboratorium telah dikembangkan untuk mendeteksi kolesterol, seperti metode *Liebermann Burchard*, *Iron Salt Acid*, *Elektrode-Based Biosensor*. Penelitian untuk deteksi kolesterol menggunakan metode kolorimetrik enzimatik (*Cholesterol Oxidase Methode/CHOD-PAP*). Metode kolorimetri ini dipilih karena memiliki keuntungan, seperti analisis cepat, sensitivitas yang baik, sederhana, mudah dan ekonomis. Metode kolorimetrik enzimatik dilakukan melalui proses  $H_2O_2$ , *2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)* (ABTS) dioksidasi oleh  $H_2O_2$  untuk menghasilkan produk berwarna hijau (Hayat dkk., 2015).

Proteinuria merupakan salah satu tanda penyakit dini yang ada di ginjal. Kadar protein pada urin  $>0,3$  gram/24 jam secara signifikan dapat menyebabkan terjadi proteinuria (Inriani, 2014). Pada jumlah yang besar, protein yang normal melalui kapiler glomerulus dan tidak memasuki urin. Beberapa protein didapatkan dari pemeriksaan urin rutin, baik itu tidak menunjukkan gejala atau dapat menjadi gejala awal dan mungkin merupakan bukti adanya penyakit ginjal yang serius. Apabila terdapat protein pada urin dapat menjadi perhatian yang serius dan membutuhkan penelitian selanjutnya (Sudoyo AW, 2006).

Salah satu reagen yang selektif terhadap protein adalah *tetrabromophenol blue*. Senyawa tersebut dapat diimobilisasi dalam suatu LDK dan akan memberikan perubahan warna apabila bereaksi dengan protein sebagai analit. Perubahan warna ini diharapkan dapat mendeteksi protein dalam sampel klinis secara mudah dan biaya yang dibutuhkan relatif murah. Pemeriksaan kadar protein dalam sampel klinis dapat digunakan untuk memberikan diagnosa atas kondisi patologis yang kurang sempurna (Martinez dkk., 2007).

Berdasarkan uraian diatas, maka penulis mencoba meneliti pengembangan suatu sensor kimia berupa LDK yang berasal dari kertas untuk mendeteksi kolesterol dan protein yang cepat dan praktis dibandingkan menggunakan metode larutan yang membutuhkan waktu lama. Pengembangan tersebut dapat dilakukan dengan pembuatan LDK dan proses imobilisasi reagen di dalamnya sehingga menghasilkan sensor dengan kondisi pengukuran yang sesuai, akurat, dan cepat serta mudah digunakan oleh orang awam sekaligus.

## 1.2 Rumusan Masalah

Permasalahan yang ingin dipelajari dalam penelitian ini adalah:

- 1). Bagaimanakah fabrikasi dan imobilisasi LDK sebagai platform sensor kimia untuk deteksi kolesterol dan protein pada sampel urin?
- 2). Bagaimanakah kondisi optimasi dari volume reagen, volume sampel, konsentrasi enzim kolesterol oksidase, konsentrasi larutan reagen *2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)* (ABTS), konsentrasi larutan reagen *tetrabromophenol-blue*, intensitas warna, dan pH reagen *tetrabromophenol blue* untuk deteksi kolesterol dan protein pada urin dengan LDK yang telah diimobilisasi dengan masing-masing reagen yang sesuai?
- 3). Bagaimanakah karakteristik LDK untuk penentuan kadar kolesterol dan protein pada urin yang meliputi waktu respon, linieritas, batas deteksi, batas kuantitasi, sensitivitas, selektivitas, akurasi, presisi, dan waktu pakai dilihat dari perubahan warnanya?
- 4). Apakah LDK dapat diaplikasikan sebagai sensor kimia untuk mendeteksi kolesterol dan protein pada urin pasien secara langsung?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan yang ingin dicapai dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

- 1). Untuk menentukan fabrikasi dan imobilisasi LDK sebagai platform sensor kimia untuk deteksi kolesterol dan protein pada sampel urin.
- 2). Untuk menentukan kondisi optimasi dari volume reagen, volume sampel, konsentrasi enzim kolesterol oksidase, konsentrasi larutan reagen *2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)* (ABTS), konsentrasi larutan reagen *tetrabromophenol-blue*, intensitas warna, dan pH reagen *tetrabromophenol blue* untuk deteksi kolesterol dan protein pada urin dengan LDK yang telah diimobilisasi dengan masing-masing reagen yang sesuai.
- 3). Untuk menentukan karakteristik LDK untuk penentuan kadar kolesterol dan protein pada urin yang meliputi waktu respon, linieritas, batas deteksi, batas

kuantitasi, sensitivitas, selektivitas, akurasi, presisi, dan waktu pakai dilihat dari perubahan warnanya.

- 4). Untuk menentukan apakah LDK dapat diaplikasikan sebagai sensor kimia untuk mendeteksi kolesterol dan protein pada urin pasien secara langsung.

#### **1.4 Manfaat Penelitian**

Manfaat dilakukannya penelitian ini antara lain:

- 1). Memberi informasi kepada masyarakat tentang teknologi sensor kimia yang berupa LDK.
- 2). Pengembangan teknologi LDK sebagai platform untuk sensor kimia ataupun reagen kering dalam deteksi kolesterol dan protein pada urin secara cepat, praktis dan murah.
- 3). Pengujian awal pada deteksi kolesterol dan protein dalam urin.
- 4). Penelitian diharapkan dapat digunakan sebagai dasar penelitian lebih lanjut.

#### **1.5 Batasan Masalah**

Adapun batasan-batasan masalah dalam penelitian ini adalah:

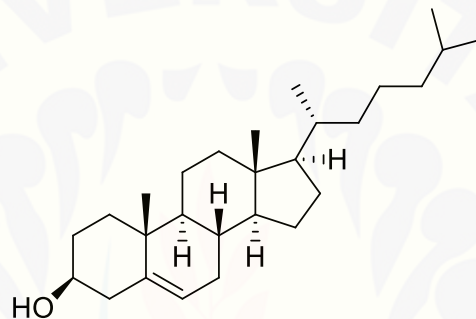
- 1). Teknik imobilisasi yang digunakan pada LDK adalah adsorpsi.
- 2). Kertas saring yang digunakan produk dari “Whatman no 9”.
- 3). Penelitian ini dilakukan pada urin simulasi pasien untuk mendeteksi adanya kolesterol dan protein.
- 4). Sampel urin yang digunakan adalah sampel urin wanita dan pria yang berusia 20-30 tahun.



## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tinjauan Tentang Kolesterol

Kolesterol adalah alkohol steroid yang terdapat dalam empedu, kuning telur, susu, dan minyak/lemak. Kolesterol dalam jumlah besar disintesis di hati dan dalam jumlah kecil akan diserap dengan makanan yang telah dikonsumsi (Tan, 2010). Komponen struktural esensial di membran dan lapisan luar lipoprotein plasma dapat disebut juga kolesterol (Murray, 2009).



Gambar 2.1 Struktur Molekul Kolesterol

Kolesterol berbentuk butiran kecil yang dilapisi dengan lipoprotein (protein tertentu) yang berfungsi untuk mencegah terjadinya penggumpalan. Lipoprotein dapat digunakan untuk mengemulsikan butiran kolesterol dan lemak lain (trigliserida), sehingga tiap komponen bisa tetap stabil walaupun dicampur dengan komponen-komponen lainnya. (Tan, 2010). Kolesterol memiliki struktur dasar yaitu inti sterol yang semuanya disintesis oleh berbagai molekul asetil-KoA dan dapat digunakan sebagai prekursor semua steroid lainnya dalam tubuh, termasuk vitamin D, hormon seks, asam empedu, dan vitamin kortikosteroid. Inti sterol dimodifikasi dengan menggunakan bermacam rantai samping sehingga terbentuknya kolesterol dan asam kolat, asam kolat yaitu dasar dari asam empedu yang dibentuk oleh hati, serta banyak hormon steroid penting yang disekresikan oleh testis, ovarium, dan korteks adrenal (Guyton, A.C., & Hall, 2011).

Kolesterol sebagian kecil digunakan kelenjar adrenal yang dapat membentuk hormon adrenokortikal, ovarium yang berfungsi membentuk estrogen maupun progesteron, serta testis yang digunakan untuk membentuk testosteron. Kolesterol

sebagian besar diendapkan pada startum korneum pada kulit, bersama dengan lipid lain untuk memperoleh kulit yang sangat tahan terhadap penyerapan zat yang larut dalam air dan terhadap aksi agen-agen kimia karena kolesterol dan lipid kulit lainnya sangat *inert* terhadap asam dan terhadap banyak pelarut yang mungkin dengan mudah menembus tubuh (Guyton, A.C., & Hall, 2011).

### 2.1.1 Metabolisme Kolesterol

#### a. Absorpsi dan Sintesis Endogen

Kolesterol yang diperoleh dari makanan sebagian diserap dari jejunum setelah esterifikasi dengan asam lemak rantai panjang dan dimasukkan ke dalam *chylomicron*. *Chylomicron* memasuki aliran darah melalui saluran toraks yang diambil di hati. Pada hati, kolesterol terlepas dari *chylomicron* dan dikembalikan ke plasma sebagai komponen lipoprotein plasma. Kolesterol yang disintesis dalam jaringan dari asetat juga berkontribusi terhadap kolesterol plasma dan merupakan satu-satunya sumber ketika tidak ada kolesterol dalam makanan. Hati merupakan sumber utama kolesterol plasma endogen, tetapi kolesterol yang disintesis di dinding usus kecil juga memasuki plasma. Kemungkinan bahwa sintesis dalam jaringan selain hati dan usus berkontribusi signifikan terhadap kolesterol plasma (Higgins, 1976).

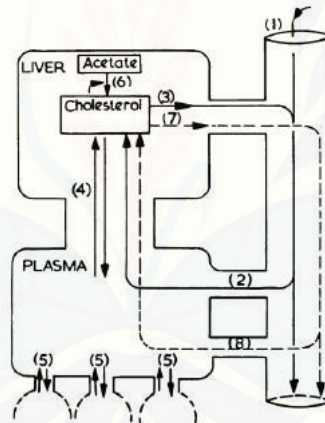
#### b. Penghilangan Kolesterol dari Tubuh

Rute utama untuk menghilangkan kolesterol dari tubuh adalah dengan ekskresi empedu. Kehilangan yang konstan dan penggantian sel-sel yang melapisi usus kecil juga menyebabkan penghilangan kolesterol. Konversi kolesterol menjadi hormon steroid dan ekskresi dalam empedu dan urin menyebabkan hilangnya kolesterol, tetapi hal ini dapat diabaikan jika dibandingkan dengan jumlah yang hilang akibat rute lain. Beberapa kolesterol yang dihilangkan melalui empedu memasuki duodenum tanpa mengalami perubahan kimia. Pada tikus, konversi menjadi asam empedu melalui jalur biokimia utama untuk menghilangkan kolesterol, sedangkan pada manusia,

kurang dari setengah kolesterol yang hilang dari tubuh dikeluarkan sebagai asam empedu (Higgins, 1976).

c. Sirkulasi enterohepatik

Beberapa kolesterol yang diekskresikan pada empedu akan diserap kembali setelah bercampur dengan kolesterol yang telah mencapai usus dari makanan. Kolesterol yang tidak diserap diekskresikan dalam tinja setelah konversi parsial menjadi coprostanol dan steroid lainnya oleh aksi bakteri di usus besar. Garam empedu juga sebagian diserap kembali dalam ileum, fraksi yang tidak diserap melewati usus besar, asam empedu bebas dilepaskan oleh aksi bakteri hidrolitik. Setelah modifikasi lebih lanjut, asam empedu bebas diekskresikan dalam tinja. Dengan demikian ada sirkulasi enterohepatik yang tidak lengkap yang melibatkan kolesterol, baik garam endogen maupun eksogen, dan empedu (Higgins, 1976).



Gambar 2.2 Jalur Metabolisme Kolesterol (Higgins, 1976)

### 2.1.2 Tinjauan Tentang Hiperkolesteroluria

Urin normal yang mengandung kolesterol sekitar 6 - 35 mg/dL (Peng dkk., 1997). Kadar kolesterol pada urin 0,15 – 4,2 mg/24 jam (Comings, 1963). Kolesterol dapat ditemukan sebanyak 11 mg dalam 70,9 liter pada urin normal. Urin yang dikeluarkan setiap hari sebesar 1500 cc dan akan menjadi ekskresi sebanyak 0,23 mg/hari (Gardner dan Gainsborough, 1925). Peningkatan kadar kolesterol pada urin dapat menyebabkan hiperkolesteroluria. Hiperkolesteroluria

ini dapat terjadi pada pasien yang mengalami penyakit ginjal (Sobotka dkk., 1938). Kristal kolesterol tampak regular ataupun irreguler, transparan, dan tampak seperti pelat tipis empat persegi panjang dengan satu atau dua dari sudut persegi yang mempunyai takik (Mustikowati dkk., 2017). Kristal kolesterol dapat ditemukan pada urin dalam kisaran pH <5,4 - 6,7 (Fogazzi, 1996). Kristal ini terkait dengan gangguan yang menimbulkan lipiduria, seperti sindrom nefrotik dan dijumpai bersamaan dengan silinder lemak dan badan lemak oval. Kristal kolesterol bersifat sangat *birefringent* dengan cahaya polarisasi. Penyebab adanya kristal kolesterol pada urin disebabkan karena *Oval Fat Bodies* (OFB) dan adanya kolesterol dapat disertai oleh proteinuria (Santhi dkk., 2015).

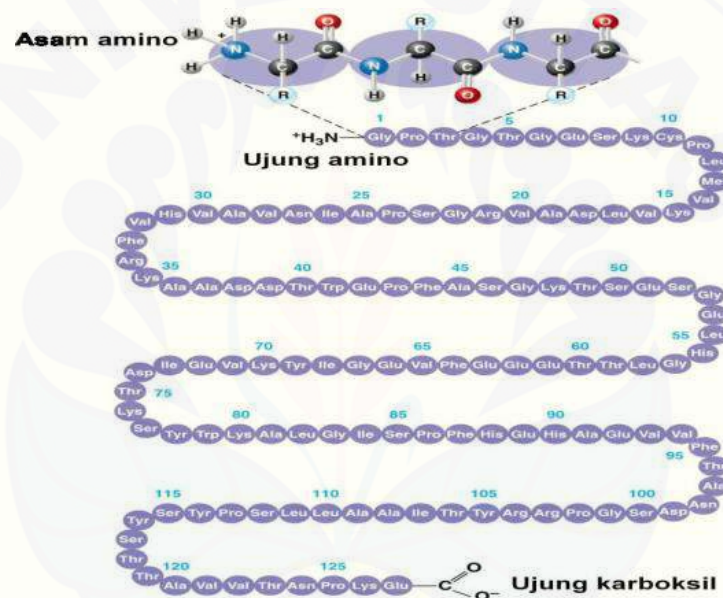
OFB adalah sel abnormal yang seharusnya tidak ditemukan pada urin seseorang, apabila ditemukan OFB pada urin menandakan adanya gangguan pada ginjal atau ginjal mengalami kerusakan, terutama pada glomerulus ginjal. Kerusakan pada ginjal tersebut disebabkan karena gangguan metabolik. OFB yang ditemukan pada urin merupakan penyebab terjadinya kristal kolesterol (Mustikowati dkk., 2017).

## 2.2 Tinjauan Tentang Protein

Istilah protein didapat dari kata Yunani yaitu *proteios*, yang artinya barisan pertama. Pada tahun 1938, kata tersebut diperkenalkan oleh Jons J. Barzelius. Sebuah struktur biomolekuler dari suatu molekul protein dapat disebut sebagai struktur protein. Polipeptida adalah suatu polimer yang terbentuknya urutan dari bermacam asam L- $\alpha$ -amino (dapat disebut juga sebagai urutan residu). Panjang rantai yang memiliki kurang dari 40 residu, dapat diartikan polipeptida dan bukan diartikan protein (Kennely dan Rodwell, 2013).

Molekul makro yang memiliki berat molekul lima ribu sampai beberapa juta dapat disebut sebagai protein. Pada ikatan peptida, protein ini tersusun atas asam amino yang berantai panjang dan berikatan satu dengan yang lainnya. Contoh unsur-unsur pada asam amino yaitu, hidrogen, karbon, nitrogen, dan oksigen. Unsur-unsur pada asam amino juga mengandung sulfur, besi, fosfor, kobalt, dan

iodium. Unsur utama dari protein yang memiliki jumlah 16% dari berat protein merupakan unsur nitrogen. Tidak semua nitrogen terdapat pada lemak dan karbohidrat, namun nitrogen ada pada semua protein. Molekul protein lebih kompleks dibandingkan karbohidrat dan lemak, dalam hal terbutuknya keanekaragaman unit-unit asam amino dan berat molekul. Protein tersusun dari sekian kombinasi berbagai jumlah dan jenis asam amino, sehingga jenis-jenis dari protein ini sekitar  $10^{10}$ - $10^{12}$  (Mardalena dan Suyani, 2016). Struktur protein terdiri dari struktur primer, struktur sekunder, struktur tersier, dan struktur kuaterner (Kennely dan Rodwell, 2013). Struktur primer dapat dilihat pada Gambar 2.3.



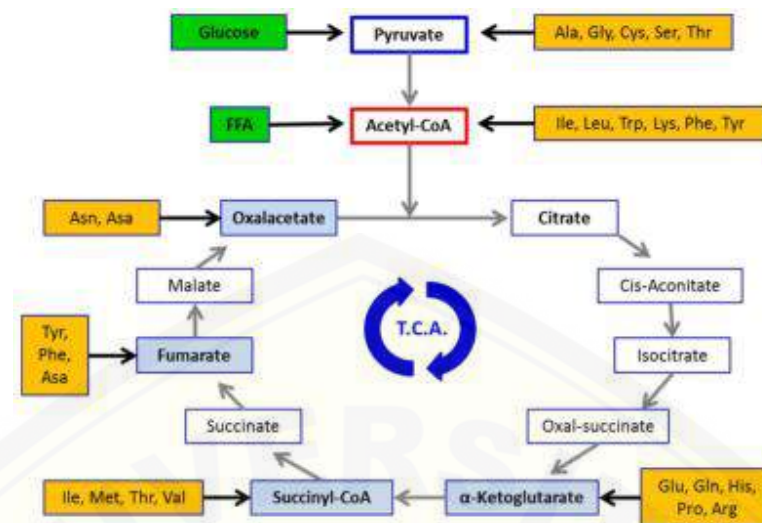
Gambar 2.3 Struktur Primer Suatu Protein (Kennely dan Rodwell, 2013)

Struktur primer suatu protein adalah urutan yang terdiri dari asam amino. Misalnya struktur primer lisozim adalah enzim antibakteri. Lisozim adalah protein yang relatif kecil dan panjang asam aminonya hanya 129. Masing-masing dari 20 asam amino menempati setiap 129 posisi di sepanjang rantai. Struktur primer mirip dengan tatanan huruf dalam sebuah kata yang sangat panjang, jika dibiarkan akan membentuk sendiri  $20^{129}$  cara yang berbeda untuk mengatur asam amino menjadi suatu rantai polipeptida yang panjang (Kennely dan Rodwell, 2013).

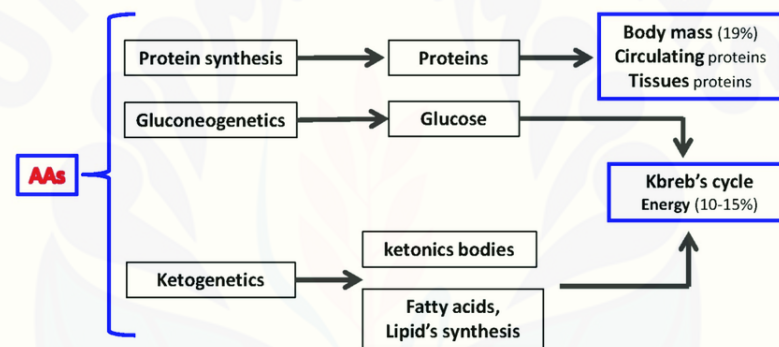
### 2.2.1 Metabolisme Protein

Protein adalah makronutrien yang penting untuk berbagai aktivitas seluler dan metabolisme tubuh. Sintesis protein terutama dikendalikan oleh ketersediaan asam amino dalam jumlah stoikiometrik yang sebanding dengan jumlah protein yang dibutuhkan untuk sintesis dan kebutuhan energi untuk mempertahankan proses sintetik (Pasini dkk., 2018).

Asam amino memiliki banyak fungsi di dalam tubuh dan menjadi satu-satunya sumber nitrogen untuk mamalia. Nitrogen turunan dari asam amino sangat penting untuk mensintesis prekursor (purin dan orrimididin) dari molekul energi utama (yaitu, ATP, ADP, IMP) dan asam nukleat (yaitu, DNA / RNA), dan untuk menghasilkan senyawa yang dapat mengatur jalur pensinyalan biokimia utama, seperti *nitric oxide* (NO). Deaminasi asam amino yang dilepaskan akan bersirkulasi menghasilkan kerangka karbon yang kaya akan oksigen dan hidrogen yang cocok untuk transformasi biokimia berikutnya. Kerangka karbon ini dapat digunakan oleh hati untuk menghasilkan glukosa melalui glukoneogenesis dan makromolekul lain, seperti lipid. Kerangka karbon turunan asam amino juga relevan dalam memproduksi perantara yang memicu terjadinya siklus Krebs yang kemudian diubah menjadi energi dan perantara metabolisme lainnya (Gambar 2.4), sehingga asam amino dapat dianggap "molekul totipoten biokimia" yang dapat dikonversi menjadi energi, karbohidrat, lipid, dan zat antara biokimiawi yang tergantung pada tuntutan metabolisme tubuh (Gambar 2.5) (Pasini dkk., 2018).



Gambar 2.4 Siklus Asam Trikarboksilat (TCA) (Pasini dkk., 2018)



Gambar 2.5 Biochemical Totipotent Molecules (Pasini dkk., 2018)

Berdasarkan sudut pandang gizi, asam amino dikategorikan sebagai "non-esensial" (NEAA) atau "esensial" (EAAs). Non-esensial disintesis di dalam tubuh dari karbohidrat dan lipid yang mendapatkan nitrogen dari asam amino lainnya. Asam amino esensial tidak dapat disintesis dan juga merupakan input nutrisi yang paling relevan untuk sintesis protein. Pada kondisi seperti cedera, operasi atau penyakit kronis, ada peningkatan jumlah yang dibutuhkan untuk asam amino sebagai konsekuensi dari pengeluaran energi untuk istirahat yang lebih tinggi. Konsumsi asam amino esensial ke dalam siklus Krebs dan persaingannya dengan oksidasi glukosa atau asam lemak melalui oksidasi  $\beta$  telah disarankan sebagai strategi untuk mempertahankan produksi energi yang efisien dalam kondisi patologis, hal tersebut disebabkan karena oksidasi lemak menjadi kurang efisien

energi daripada glikolisis dan masuknya piruvat turunan asam amino ke dalam siklus Krebs mitokondria (Pasini dkk., 2018).

Oksidasi  $\beta$  yang sebagian besar sitoplasma, mengurangi rasio ATP / O<sub>2</sub> yang tersedia dan mewajibkan sejumlah besar asam amino esensial untuk digunakan sebagai perantara dari siklus Krebs. Asam amino esensial dapat digunakan sebagai pengganti oksaloasetat turunan piruvat yang dipersingkat oleh sejumlah besar NADH yang dihasilkan dari mitokondria karena  $\beta$ -oksidasi. Pergeseran metabolisme seperti itu adalah salah satu perubahan utama yang menyebabkan ketidakseimbangan antara permintaan nitrogen dan asupan nitrogen yang diamati pada pasien dengan kondisi metabolisme yang berubah secara kronis dan diukur sebagai keseimbangan nitrogen (Pasini dkk., 2018).

### 2.2.2 Tinjauan Tentang Proteinuria

Proteinuria terjadi apabila pada urin manusia terdapat protein yang nilainya lebih dari batas normal, pada orang dewasa >150 mg/24 jam, sedangkan untuk anak-anak >140 mg/m<sup>2</sup>. Urin normal hanya mengandung sedikit protein yaitu <10 mg/dL atau <150 mg/24 jam (Tjiptaningrum dan Bayu Arief Hartanto, 2016). Proteinuria merupakan salah satu tanda penyakit dini yang ada di ginjal. Proteinuria ini memiliki 3 sifat, yaitu *intermittent* atau bersifat sementara, ortostatik atau timbulnya apabila terlalu lama beraktivitas duduk ataupun berdiri, dan bersifat persisten atau selalu ada. Proteinuria sementara dapat sembuh apabila penyebab-penyebabnya dapat teratasi. Ekskresi proteinuria pada seseorang yang terkena proteinuria ortostatik akan kembali normal apabila pasien dalam keadaan istirahat atau berbaring, namun apabila pasien dalam keadaan berdiri maupun duduk kembali, maka akan meningkatkan proteinuria ortostatik pada pasien. Pada orang muda akan mengalami kejadian tersebut sekitar 2% sampai dengan 5%, namun orang yang berusia >30 tahun tidak biasa mengalami kejadian tersebut. Proteinuria persisten disebabkan karena glomerulus ataupun pada tubulusnya mengalami kegagalan. Umumnya sering terjadi pada jenis proteinuria glomerular dengan albumin yang merupakan protein primernya. Jenis-jenis tersebut



disebabkan karena terjadinya peningkatan pada filtrasi albumin. Pada proses filtrasi, sel-sel tubulus yang tidak berfungsi untuk menyerap protein dapat disebut sebagai proteinuria tubular (Inriani, 2014).

Proteinuria adalah gambar lanjutan dari pre-eklampsia namun dihubungkan dengan hasil yang diperoleh lebih jelek. Kadar protein pada urin  $>0,3$  gram/24 jam secara signifikan dapat menyebabkan terjadi proteinuria. Diagnosis dari pre-eklampsia sulit dikerjakan dikarenakan memiliki progresi dan presentasi yang sangat bermacam-macam (Inriani, 2014).

### 2.2.3 Pemeriksaan Proteinuria

Pemeriksaan pada protein tergolong sebagai pemeriksaan rutin. Salah satu cara yang dapat dilakukan untuk membuktikan adanya protein pada urin dapat dilihat dari kekeruhan urin, hal tersebut dikarenakan kasar ataupun padatnya kekeruhan merupakan salah satu tolak ukur untuk mengetahui jumlah kandungan protein, sehingga diperlukan urin yang jernih yang merupakan persyaratan penting untuk mengetes kandungan protein. Cara semikuantitatif merupakan salah satu cara untuk pemeriksaan protein, cara tersebut dapat dilakukan menggunakan asam sulfosalisilat:

1. Disiapkan 2 tabung reaksi, tiap tabung diisi 2 mL urin jernih.
2. Tabung kesatu ditambahkan dengan 8 tetes larutan asam sulfosalisilat 20 % kemudian dikocok.
3. Dibandingkan isi dari kedua tabung tersebut. Apabila kedua tabung memiliki warna yang jernih berarti menunjukkan bahwa hasil tes kandungan protein yaitu negatif.
4. Apabila tabung kesatu memberikan warna yang lebih keruh daripada tabung yang kedua, maka tabung kesatu dipanaskan hingga mendidih diatas nyala api, setelah itu dinginkanlah dengan menggunakan air yang mengalir.
  - a. Apabila tetap keruh ketika dipanaskan dan masih ada setelah didinginkan, maka hasil tes kandungan protein adalah positif.

- b. Apabila keruhnya hilang ketika pemanasan, tetapi setelah proses pendinginan muncul kembali, maka protein tersebut perlu diselidiki lebih lanjut (Inriani, 2014).

Tabel 2.1 Penafsiran Keberadaan Protein dalam Urin Proteinuria (Inriani, 2014)

No.	Kandungan Protein pada Urin	Penyakit atau Gangguan Organ
1.	Proteinuria ringan <0,5 gram per hari	a. Orang tidak sakit yang berkerja jasmani secara berat b. Orang pada kondisi stress emosi, demam dan hipertensi c. Disfungsi tubulusnya d. <i>Polycytic Kidney Disease</i> e. Infeksi saluran urin distal f. Hemoglobinuria yang disebabkan hemolisis berat
2.	Proteinuria sedang 0,5 gram per hari	a. Glomerulonephritis kronis b. Gagal jantung kongesti c. Nefropatie DM d. Pielonefritis e. Mieloma multiple f. Pre-eklampsia g. Eklampsia
3.	Proteinuria berat >3 gram per hari	a. Glomerulonephritis akut b. Glomerulonephritis kronis berat c. Nefrosis lipoid d. Nefropatie pada lupus

### 2.3 Tinjauan Tentang Penyakit Ginjal Kronik (PGK)

Pada kolesterol urin dan protein urin memiliki korelasi yang positif pada pasien dengan sindrom nefrotik, hal tersebut disebabkan karena peningkatan filtrasi glomerulus lipoprotein plasma (D. Jfingst, J. Wallner, 1980). Sindrom nefrotik merupakan salah satu faktor resiko yang mempengaruhi seseorang menderita PGK (Arif Rifqi Pambudi, 2015). Penyakit ginjal kronis (PGK) didefinisikan sebagai penurunan laju filtrasi glomerulus, peningkatan ekskresi albumin urin atau keduanya, dan merupakan masalah kesehatan masyarakat yang meningkat. Pada tahun 2002, Garis pedoman praktik klinis Prakarsa Penyakit

Ginjal Yayasan Ginjal Nasional AS mendefinisikan penyakit ginjal kronis sebagai kerusakan ginjal atau laju filtrasi glomerulus lebih rendah dari 60 mL/menit/1,73 m<sup>2</sup> selama 3 bulan atau lebih (Jha dkk., 2013).

Tabel 2.2 Klasifikasi PGK (Webster dkk., 2017)

Stadium	Deskripsi	GFR (mL/menit/1,73 m <sup>2</sup> )
G1	Normal atau meningkat	≥ 90
G2	Ringan	60-89
G3a	Ringan – sedang	45-59
G3b	Sedang – berat	30-44
G4	Berat	15-29
G5	Gagal ginjal	<15

Tabel 2.3 Diagram Deteksi Dini Penyakit Ginjal ((Kemenkes, 2017)

Berisiko Tinggi Menderita Penyakit Ginjal	Hal Yang Perlu Dilakukan	Waktu Pemeriksaan
<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Umur &gt;50 tahun</li> <li>▪ Diabetes</li> <li>▪ Hipertensi</li> <li>▪ Perokok</li> <li>▪ Obesitas</li> <li>▪ Riwayat keluarga menderita penyakit ginjal</li> </ul>	Periksa: <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Tekanan darah</li> <li>▪ <i>Urine dipstick</i> (microalbuminuria apabila diabetes)</li> <li>▪ CCT atau eGFR</li> </ul>	Tiap 12 bulan

## 2.4 Tinjauan Tentang Urin

### 2.4.1 Definisi Urin

Urin merupakan cairan yang dikeluarkan melalui saluran kencing dan merupakan hasil akhir dari tiga proses yang terjadi pada ginjal, meliputi proses filtrasi, reabsorpsi, dan sekresi. Filtrasi merupakan penyaringan bahan-bahan yang berupa cairan ataupun pelarut yang berasal dari plasma ke filtrat ginjal (filtrat glomerulus), komponen yang memiliki berat molekul lebih besar akan tertahan (misalnya pada sel-sel darah dan juga protein yang memiliki berat molekul besar), sedangkan komponen yang memiliki berat molekul yang kecil dari berat molekul albumin/globulin akan lolos menjadi filtrat, misalnya pada glukosa. Reabsorpsi

merupakan penyerapan kembali ion-ion dan molekul-molekul yang terjadi pada tubuh yang akan dikembalikan ke plasma (seperti air, protein, dan glukosa). Sekresi merupakan penyaluran molekul-molekul dan ion-ion yang berasal dari plasma ke filtrat ginjal karena bahan tersebut sudah tidak diperlukan, yang terdiri dari zat organik (seperti asam urat, urea, dan kreatinin) dan zat anorganik (seperti fosfat, ammonium, sulfat, dan klorida) (Japaries, 1995).

#### 2.4.2 Komposisi Urin

Komposisi urin yang dikeluarkan dari ginjal tergantung dari makanan yang dikonsumsi, metabolisme tubuh, dan kemampuan ginjal untuk melakukan fungsinya. Secara normal, urin mempunyai pH antara 4,6 sampai 8, sedangkan secara umum urin mempunyai pH netral. Komposisi urin terdiri atas 95 % berupa air dan bahan-bahan terlarut pada urin sebagai berikut:

- a. Bahan buangan dari nitrogen yang terdiri atas: urea yang berasal dari deaminasi protein, asam urat yang berasal dari katabolisme asam nukleat, dan kreatinin yang berasal dari proses penguraian keratin fosfat pada jaringan otot.
- b. Asam hipurat merupakan hasil sampingan pencernaan sayur-sayuran dan buah-buahan.
- c. Badan keton yang dihasilkan dari metabolisme lemak adalah sejumlah kecil dari konstituen normal.
- d. Elektrolit yang terdiri dari Na, K,  $\text{NH}_4$ , Ca, Mg, P, Cl, dan  $\text{SO}_4^{2-}$ .
- e. Hormon ataupun katabolit hormon secara normal ada pada urin.
- f. Secara normal pada urin ditemukan sejumlah kecil dari berbagai macam toksin atau zat kimia asing, pigmen, vitamin, atau enzim.
- g. Konstituen abnormal yang terdiri dari albumin, glukosa, sel darah merah, sejumlah besar badan keton, zat kapur (terbentuk saat zat mengeras dalam tubulus di dikeluarkan), dan batu ginjal atau kalkuli (Chalik, 2016).

### 2.4.3 Sifat fisik

Urin encer berwarna kuning pucat, sedangkan urin yang kental berwarna kuning pekat. Urin segar biasanya berwarna jernih dan apabila didiamkan akan berubah menjadi keruh. Urin mempunyai bau khas dan apabila didiamkan akan memiliki bau ammonia. Makanan yang memiliki kandungan protein yang tinggi akan meningkatkan asiditas, namun apabila seseorang mengurangi konsumsi sayuran akan meningkatkan alkalinitas. Urin memiliki berat jenis sekitar 1,001 sampai 1,035 tergantung dari konsentrasi urin (Chalik, 2016).

### 2.4.4 Macam-macam Sampel Urin

Urin pagi merupakan urin yang dikeluarkan pertama kali pada pagi hari setelah bangun tidur. Sifat urin pagi adalah pekat. Sampel urin ini baik digunakan untuk pemeriksaan sedimen, berat jenis, protein, dan tes kehamilan. Urin sewaktu merupakan urin yang dikeluarkan pada satu waktu yang tidak ditentukan secara khusus. Sifat urin sewaktu lebih encer daripada urin pagi. Urin ini lebih baik untuk pemeriksaan rutin. Urin post-prandial merupakan urin yang dikeluarkan pertama kali setelah 1,5-3 jam setelah makan. Biasanya urin post-prandial digunakan untuk pemeriksaan kadar gula (reduksi) sebagai pemeriksaan penyaringan untuk glukosuria. Urin 24 jam merupakan urin yang dikeluarkan selama 24 jam, misalnya urin yang dikeluarkan mulai jam 6 pagi sampai 6 pagi keesokan harinya. Urin 3 gelas atau 2 gelas pada pria dilakukan dengan cara:

1. Gelas pertama ditampung sebanyak 20 - 30 mL urin yang dikeluarkan.
2. Gelas kedua, ditampung urin berikutnya.
3. Gelas ketiga, ditampung beberapa mL urin yang terakhir.

Cara penampungan urin 2 gelas sama seperti cara penampungan urin 3 gelas, hanya gelas ketiga ditiadakan dan gelas pertama ditampung urin sebanyak 50 - 75 mL. Sampel urin ini digunakan untuk menentukan letak infeksi atau lesi pada saluran urin bagian distal dari seorang pria (Gandasoebrata, 1999).

## 2.5 Tinjauan Tentang Enzim

Enzim dapat didefinisikan sebagai biomolekul yang berfungsi sebagai katalis pada suatu reaksi kimia. Apabila tidak ada zat tersebut, maka prosesnya lebih lambat ataupun tidak terjadinya reaksi. Enzim merupakan biokatalisator yang dapat mempercepat suatu reaksi biologi dan tidak mengubah struktur kimianya. Molekul awal reaksi yang dikatalisis oleh enzim merupakan substrat, dan produk merupakan perubahan suatu molekul menjadi molekul-molekul yang berbeda, hal ini diubah oleh enzim (Harahap, 2012).

Menurut Kuhne (1878), asal kata enzim yaitu in + zyme yang artinya sesuatu di dalam ragi, hal tersebut dapat diberi kesimpulan bahwa enzim merupakan suatu protein. Berdasarkan penelitian maka dapat disimpulkan bahwa protein yang berupa molekul-molekul besar dapat disebut sebagai enzim. Apoenzim merupakan enzim pada bagian protein yang tidak tahan terhadap panas. Bagian yang bukan merupakan protein dapat disebut sebagai gugus prostetik (bagian yang aktif). Gugus prostetik dapat berupa logam, misalnya tembaga, besi, seng atau dapat juga bahan organik yang kandungannya logam (Harahap, 2012).

Haloenzim merupakan suatu kesatuan dari apoenzim dan gugus prostetik, tetapi terdapat bagian dari enzim yang tidak menyatu pada apoenzim dan gugus prostetiknya. Koenzim merupakan gugus prostetik yang terlepas. Beberapa contoh koenzim yaitu vitamin (vitamin B2, B6, B1, biotin, dan niasin) (Harahap, 2012).

### 2.5.1. Sifat-Sifat Enzim

Enzim meskipun dalam jumlah yang sedikit dapat aktif. Pada proses biokimia, enzim dalam jumlah yang sedikit dapat mengubah substrak menjadi produk dalam jumlah yang besar. Enzim tidak dipengaruhi dengan reaksi yang dikatalis dalam kondisi yang stabil, dikarenakan aktivitasnya dipengaruhi oleh pH dan suhu. Enzim pada kondisi yang tidak optimum merupakan senyawa relatif yang tidak stabil dan reaksi yang dipengaruhi oleh dikatalisisnya. Meskipun enzim dapat mempercepat proses reaksi, namun enzim tidak dapat mempengaruhi kesetimbangan reaksi tersebut. Kerja katalis dari enzim adalah spesifik. Enzim

dapat memperlihatkan kekhasan dari reaksi yang dikatalis. Enzim hanya dapat mengkatalisis 1 reaksi saja dan tidak dapat mengkatalisis reaksi lain. (Harahap, 2012).

### 2.5.2. Cara Kerja Enzim

Berdasarkan tempat kerjanya, enzim terdiri dari 2 macam yaitu eksoenzim dan endoenzim. Aktivitas enzim yang terjadi di luar sel dapat disebut sebagai eksoenzim, sedangkan aktivitas enzim yang terjadi di dalam sel disebut sebagai endoenzim. Berdasarkan biosintesisnya, enzim terdiri dari enzim konstitutif dan enzim induktif. Enzim yang dibentuk tanpa berhenti (diproduksi terus-menerus) oleh sel dan tanpa melihat keberadaan dari ada maupun tidak ada substrat dapat disebut sebagai enzim konstitutif, sedangkan enzim yang dibentuk apabila ada rangsangan dari substrat ataupun senyawa yang lain dapat disebut sebagai enzim induktif (enzim adaptif) (Harahap, 2012).

Cara kerja enzim dengan menempel dipermukaan molekul-molekul zat yang berinteraksi dan dengan proses tersebut dapat mempercepat suatu reaksi. Percepatan terjadi apabila enzim tersebut menurunkan energi pengaktifannya dan dengan sendirinya akan mempermudah reaksi. Enzim bisa bekerja dengan satu macam senyawa atau reaksi kimia, hal tersebut karena adanya perbedaan struktur kimia (Harahap, 2012).

Cara kerja pada enzim terdiri dari 2 macam, yaitu:

#### a. Model Gembok dan Kunci (*Lock and Key*)

Pada tahun 1894, Emil Fischer mengajukan model yang menjelaskan spesifisitas enzim terhadap substrat seperti gembok dan kunci (*lock and key*). Menurut Fischer, enzim dan substrat mempunyai bentuk yang geometri dan saling memenuhi, hal tersebut dapat disebut dengan model "Gembok dan Kunci". Model kunci dan gembok menjelaskan ada kespesifikan dari suatu enzim. Apabila ada senyawa yang tidak sesuai bentuk maupun muatannya pada tapak aktif, tidak dapat terikat pada tapak aktif. Interaksi enzim dengan substrat melibatkan akselerasi sisi aktif pada enzim dan lokus ikatan pada substrat

untuk menghasilkan produk. Reaksi antara substrat dengan enzim disebabkan karena ada kesesuaian bentuk antara substrat dengan sisi aktif dari enzim. Substrat yang mempunyai daerah polar (-) atau (+) dan nonpolar (H, hidrofobik) dilekatkan pada tapak aktif yang komplementer (baik bentuk maupun muatannya) dengan substrat tersebut. Daerah yang bermuatan positif dan negatif serta hidrofobik pada tapak aktif tercipta oleh rantai peptida. Rantai ini mengandung residu kontak yang menuntun substrat untuk bereaksi dengan residu katalitik. Substrat diumpamakan sebagai kunci masuk ke sisi aktif, sedangkan enzim diumpamakan sebagai gembok yang akan terjadi kompleks antara enzim dan substrat. Apabila terjadi putusya ikatan antara enzim dan substrat, maka hasil produk reaksi akan dilepaskan dan konfigurasi pada enzim akan kembali seperti semula. Proses ini juga melibatkan energi aktivasi. Perubahan sedikit saja pada struktur atau bentuk dari substrat akan menyebabkan enzim tidak dapat bekerja mengubah substrat menjadi produk. Spesifisitas ukuran, bentuk, dan struktur molekuler substrat sangat mempengaruhi proses ikatan enzim-substrat. Meskipun model kunci dan anak kunci dapat menerangkan berbagai kespesifikan substrat, namun pada keadaan tertentu sulit dijelaskan dengan model ini (Susanti dan Febriana, 2017).



Gambar 2.6 Model Kunci Gembok (Susanti dan Febriana, 2017)

b. Model Kesesuaian Terinduksi (*Induced fit model*)

Model ini diusulkan oleh Daniel Koshland pada tahun 1959, merupakan model ikatan enzim-substrat yang lebih diterima dibandingkan dengan model *lock and key*. Teori ini menjelaskan bahwa tapak aktif pada awalnya tidak sesuai dengan substrat, tetapi apabila substrat telah menempel di bagian



tertentu dari tapak aktif akan menginduksi tapak aktif untuk menyesuaikan bentuknya dengan substrat. Proses tersebut dapat digambarkan seperti jari-jari tangan yang menyesuaikan bentuk pada sarung tangan yang dipakai. Menurut teori Koshland, enzim atau tapak aktif ini bersifat fleksibel dan teori ini juga menjelaskan bahwa sisi aktifnya tidak bersifat kaku, namun lebih fleksibel. Sisi aktif enzim terus berubah konformasinya sampai substrat berikatan sempurna dengan enzim (Susanti dan Febriana, 2017).



Gambar 2.7 Model Kesesuaian Terinduksi (*Induced fit model*) (Susanti dan Febriana, 2017)

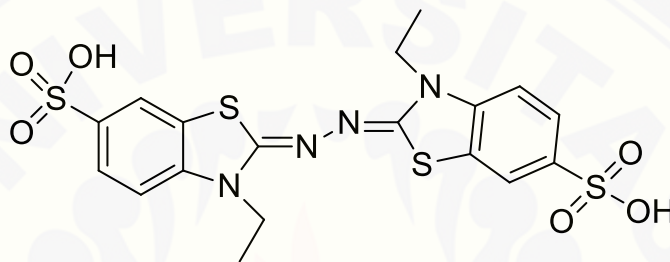
Teori *induced-fit* dapat menjelaskan pengaruh suatu inhibitor bersifat kompetitif atau non kompetitif. Perubahan bentuk tapak aktif suatu enzim, dapat juga diinduksi oleh pengikatan pada tempat permukaan enzim jauh dari tapak aktif. Perubahan tersebut ditransmisi melalui molekul enzim dari tempat pengikatan ke tapak aktif. Perubahan ini dapat meningkatkan atau menurunkan aktivitas enzim (Susanti dan Febriana, 2017).

## 2.6 ABTS (*2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazo line-6- sulfonic acid)*)

ABTS (*2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)*) adalah senyawa radikal yang memiliki atom nitrogen (Wulansari, 2018). *2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)* menghasilkan produk akhir terlarut yang berwarna hijau dan dapat dibaca secara spektrofotometri pada panjang gelombang 405 nm. Reaksi dapat dihentikan dengan menggunakan 1% sodium *dodecyl sulfate* (SDS). ABTS (*2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)*) memiliki nama kimia antara lain sebagai berikut:

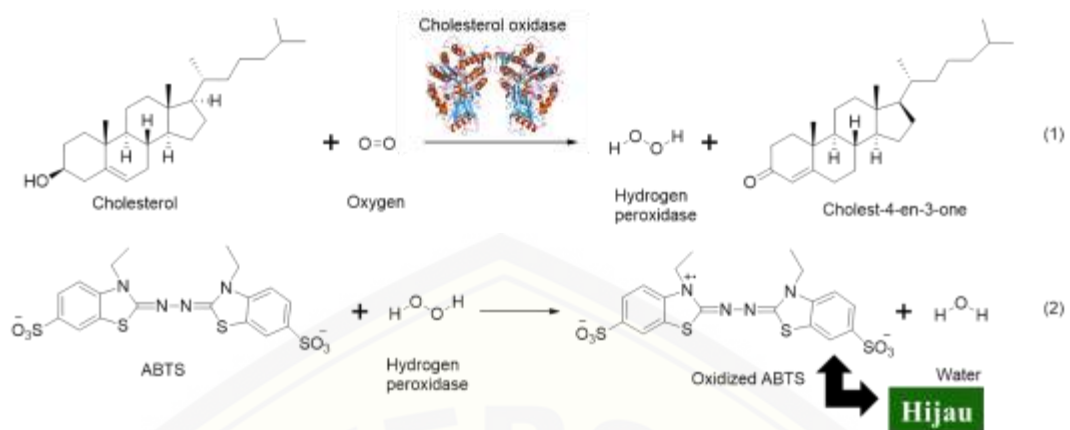
- *Diammonium 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate)*
- *AzBTS-(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>*

ABTS (*2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)*) memiliki rumus empiris C<sub>18</sub>H<sub>24</sub>N<sub>6</sub>O<sub>6</sub>S<sub>4</sub> seperti yang tertera pada gambar dengan bobot molekul 548.68. Kelarutan pada *2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)* yaitu 33,3 mg larut dalam 1 mL air. ABTS (*2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)*) memiliki pH 5,0 (kisaran 4,2 - 5,8) dalam 100 mL air deionisasi (Himedia, 1920).



Gambar 2.8 ABTS (*2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)*)

*2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)* pertama kali diproduksi oleh *Boehringer-Mannheim GmbH (Ingelheim am Rhein, Germany)*. Awalnya *2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)* digunakan untuk penentuan tes darah tinja okultisme (FOBT) dan untuk penentuan glukosa sebagai reagen dalam tes glukosa oksidase / peroksidase. Komposisi reagen termasuk glukosa oksidase, peroksidase, ABTS (*2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)*), dan azide yang telah dipatenkan pada tahun 1973 di Amerika Serikat. ABTS (*2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)*) digunakan sebagai substrat peroksidase untuk studi kinetik karena sifat fisik dan kimianya yang sangat baik, yang meliputi tingkat stabilitas dan kelarutan yang tinggi dalam air (Cano dan Arnao, 2018).



Gambar 2.9 Reaksi 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) dengan *Hydrogen Peroxidase* (Hayat dkk., 2015)

Sensor kolesterol dikembangkan dengan metode kolorimetri enzimatis. Kolesterol dioksidasi dengan bantuan kolesterol oksidasi untuk menghasilkan  $H_2O_2$ .  $H_2O_2$  yang terbentuk pada langkah pertama secara sistematis dikuantifikasi oleh oksidasi ABTS untuk menghasilkan produk berwarna hijau (Hayat dkk., 2015).

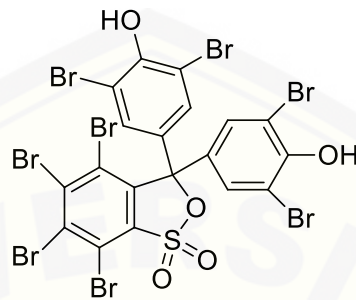
## 2.7 Tetrabromophenol Blue

*Tetrabromophenol blue* adalah pewarna rambut yang terdiri dari octa-, hepta-, dan hexa- bromo phenosulfonphthaleins. *Tetrabromophenol blue* mempunyai nama kimia antara lain sebagai berikut:

- 3,3-Bis(3,5-dibromo-4-hydroxyphenyl)-4,5,6,7-tetrabromo-2,1[3H] benzoxathiol-1,1 dioxide
- Phenol, 4-4'-(4,5,6,7-tetrabromo-1,1-dioxide-3H-2,1-benzoxathiol-3-ylidene)bis[2,6-dibromo-(CA Index name, 6CI)
- 3',3'',4,5,5',5''6,7-Octabromophenolsulfonphthalein
- *Tetrabromophenol blue* (CA Index name, 9CI)

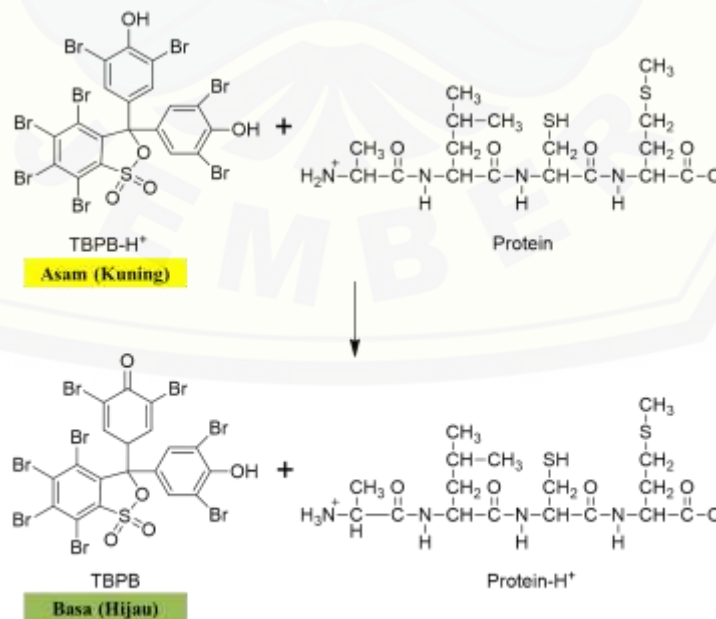
*Tetrabromophenol blue* memiliki rumus empiris  $C_{19}H_6Br_{18}O_5S$  seperti yang tertera pada gambar 2.10 dengan bobot molekul sebesar 985,59, memiliki kelarutan dalam air (pH 3,6) 0,7% w/w, dalam aceton : air (1:1) (pH 2,6) 0,9% w/v, dan dalam DMSO >10% w/w.

Stabilitas sebagai pewarna dalam campuran aseton (2%, w/v), DMSO (2% w/v) dalam buffer fosfat pH 7,5 (1% w/v) ditemukan sangat baik setelah disimpan dalam larutan selama 7 hari pada suhu ruangan dan terlindungi dari cahaya (Colipa, 2010).



Gambar 2.10 Struktur *Tetrabromophenol Blue*

*Tetrabromophenol blue* merupakan reagen warna yang digunakan untuk mendeteksi adanya protein dengan adanya suatu buffer yang dapat merubah warna dalam berbagai konsentrasi protein. Umumnya adanya protein dapat ditunjukkan dengan adanya perubahan warna kuning menjadi biru. Hal tersebut ditunjukkan dengan persamaan reaksi 2.11 yang menjelaskan bahwa dalam keadaan asam, *tetrabromophenol blue* akan berwarna kuning sebelum direaksikan dengan protein. Apabila *tetrabromophenol blue* telah direaksikan dengan protein akan menghasilkan produk berwarna hijau (Hongtanee, 2016).



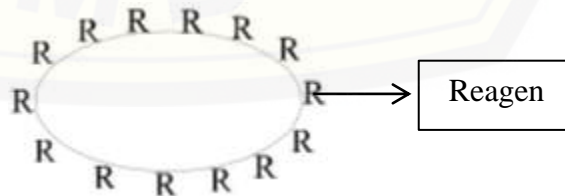
Gambar 2.11 Reaksi *Tetrabromophenol Blue* dengan Protein (Hongtanee, 2016)

## 2.8 Teknik Imobilisasi

Teknik imobilisasi dapat didefinisikan sebagai suatu teknik untuk memerangkap reagen pada matriks polimer dengan aktivitas reagen tetap ada. Terdapat lima teknik Imobilisasi yang dikembangkan dalam sensor kimia yaitu: adsorpsi, *entrapment*, mikroenkapsulasi, *crosslinking*, dan ikatan kovalen. Reagen yang diperlukan pada sensor kimia, harus diimobilisasikan terlebih dahulu ataupun dijadikan pada fase padat (reagen kering) sehingga akan dikendalikan dengan mudah. Imobilisasi adalah proses pengikatan molekul reagen pada bahan pendukung (*solid support material*), yang akan mengakibatkan molekul reagen tersebut dapat tersebar pada fase pendukung secara homogen dan merata. Pengikatan reagen ini dapat ditempuh dengan berbagai cara yaitu fisika dan kimia. Imobilisasi reagen secara garis besar dapat dibedakan menjadi 2 metode Imobilisasi yang terdiri dari metode secara fisika dan kimia. Penyerapan (adsorpsi), pemerangkapan (*entrapment*), dan pengkapsulan (*encapsulasi*) merupakan metode Imobilisasi secara fisika, sedangkan dengan kimia terdiri dari pembentukan ikatan kovalen dan *crosslinking* (Kuswandi, 2008).

### 2.8.1. Adsorpsi

Adsorpsi berasal dari bahasa latin “sorbere” yang artinya proses pengambilan uap, gas, atau cairan (adsorbat) oleh suatu permukaan (adsorben) (Othmer, 1963). Teknik imobilisasi dengan cara adsorpsi sangat sederhana, namun proses imobilisasi reagen (R) terikat sangat lemah dengan matrik polimer (Eggins & Brian, 1996). Gambar imobilisasi teknik adsorpsi pada Gambar 2.12.



Gambar 2.12 Teknik Adsorpsi (Kuswandi, 2008)

Adsorpsi merupakan proses penarikan dan perlekatan molekul suatu benda ke permukaan benda lain tanpa terjadi perubahan kimiawi. Atom atau molekul zat

tersebut akan terkonsentrasikan pada bidang pemisahan yaitu: gas-padat, gas-cair, dan padat-padat. Semua proses adsorpsi disertai penurunan energi bebas gibbs dan entropi sehingga proses tersebut bersifat eksotermis (Othmer, 1963).

Secara umum, proses adsorpsi terdiri dari dua macam, yaitu adsorpsi fisika (physical adsorption: physiosorption) dan adsorpsi kimia (chemical adsorption : chemosorption). Pada adsorpsi fisika terjadi ikatan yang sangat lemah melalui gaya Van Der Waals, dapat juga berupa ikatan Hidrogen dan gaya elektrostatis antara reagen dengan matrik polimer. Adsorpsi kimia memiliki ikatan yang lebih kuat, umumnya reagen dengan matrik polimer terikat secara kovalen (Eggins & Brian, 1996).

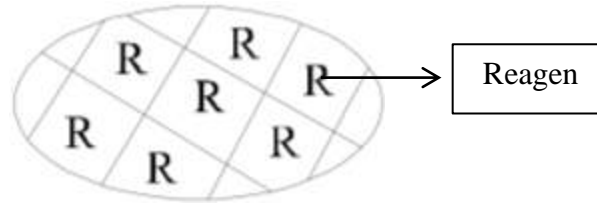
Beberapa keuntungan dari teknik imobilisasi menurut Eggins (1996) adalah sebagai berikut:

- a. Biokatif molekul yang terperangkap dalam membran berada dalam keadaan terkontak langsung dengan transdusernya.
- b. Mudah untuk dipreparasi.
- c. Stabil, perawatannya mudah, sangat reliabel, dan tidak mudah terdegradasi.
- d. Mudah untuk dikembangkan.

### 2.8.2. *Entrapment*

Teknik *entrapment* merupakan teknik imobilisasi lainnya yang sering digunakan. Pada teknik ini reagen di jerap dalam sebuah polimer yang permeabel. Reagen dicampur dengan larutan monomer, ketika terjadi polimerisasi dan membentuk gel reagen akan terjepit pada polimer tersebut (Eggins & Brian, 1996). Beberapa kekurangan dengan menggunakan teknik *entrapment*:

- a. Hasil tersebut menimbulkan penghalangan sehingga menghambat difusi analit, yang menyebabkan reaksi menjadi lambat dan berpengaruh pada respon waktu.
- b. Komponen material kehilangan afinitasnya melalui pori-pori gel (Eggins & Brian, 1996). Imobilisasi teknik *entrapment* ditunjukkan pada Gambar 2.13.



Gambar 2.13 Teknik *Entrapment* (Kuswandi, 2008)

### 2.8.3. Enkapsulasi

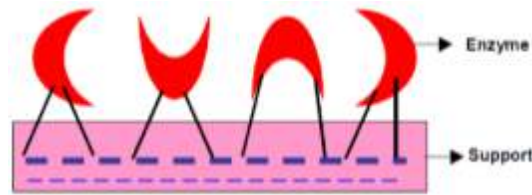
Pada teknik enkapsulasi, biasanya menggunakan sebuah membran semipermeabel yang digunakan untuk memerangkap atau menjerat reagen kimia di dalamnya pada permukaan sensor. Pada teknik enkapsulasi ini, biasanya cukup stabil pada perubahan temperatur, kekuatan ion, pH, dan komposisi kimia (Eggins & Brian, 1996).



Gambar 2.14 Teknik enkapsulasi (M. M. Elnashar, 2010)

### 2.8.4. *Crosslinking*

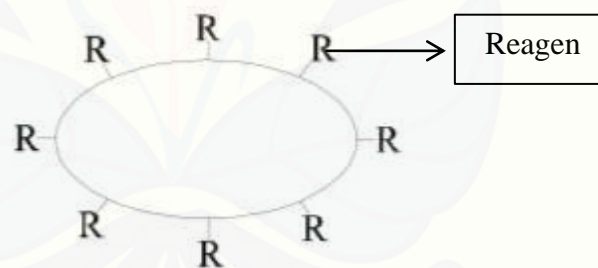
Pada metode *crosslinking*, reagen akan mengikat secara kimia dalam membran maupun bahan pendukung padat lain. Senyawa yang memiliki 2 gugus fungsi (reagen difungsi) dapat mengikat reagen membran maupun bahan pendukung lain. Kelemahan metode *crosslinking* yaitu terjadinya kerusakan dalam kespesifikasikan reagen dan diperoleh hasil senyawa yang sangat *rigid* (Eggins & Brian, 1996).



Gambar 2.15 Teknik *Crosslinking* (M. M. Elnashar, 2010)

### 2.8.5. Ikatan Kovalen

Ikatan kovalen ini dirancang dengan menambahkan gugus fungsi pada membran atau bahan penyusun lain, sehingga akan terjadi ikatan antara reagen dengan gugus fungsi yang ditambahkan. Pada kondisi seperti ini yang perlu dikontrol seperti kekuatan ionik yang rendah, temperatur rendah dan pH netral. Pada teknik ini memiliki kelebihan yaitu tidak akan terjadinya pelepasan material dalam matriks karena ikatan kovalen ini terjadi sangat kuat (Eggins & Brian, 1996). Reagen yang terimobilisasi dalam matrik polimer akan membentuk suatu sensor kimia yang memiliki mekanisme tertentu.



Gambar 2.16 Teknik Kovalen (Kuswandi, 2008)

## 2.9 Sensor Kimia

### 2.9.1. Definisi Sensor Kimia

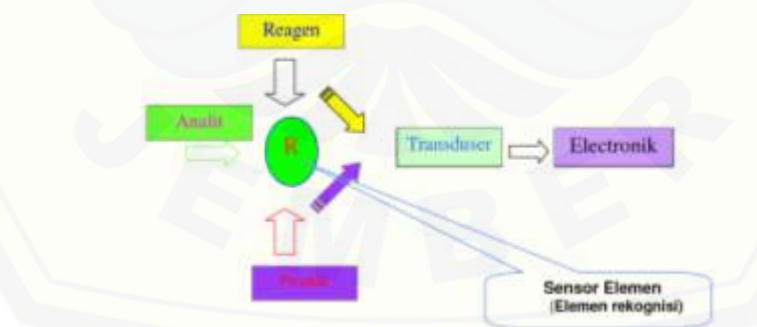
Sensor kimia merupakan alat yang dapat merespon suatu partikel analit dengan proses reaksi kimia yang digunakan untuk menentukan suatu analit secara kualitatif maupun kuantitatif. Berdasarkan jenis transduser yang digunakan, sensor kimia dikategorikan menjadi beberapa kelompok yaitu optik massa selektif, elektrokimia, dan panas selektif. Pengukuran sensor optik dilakukan secara



spektroskopi yang dilakukan berdasarkan adanya interaksi kimia yang dijelaskan pada Gambar 2.17 (Ojeda, C.B & Fuensanta, 2006).

### 2.9.2. Mekanisme Sensor Kimia

Sensor kimia terdiri atas elektrokimia, biosensor dan sensor optik. Pada sensor elektrokimia terjadi interaksi antara analit dengan reagen sehingga perubahan yang terjadi dapat dideteksi melalui arus dan tegangan. Pada biosensor reaksi antara analit dengan reagen sangat dipengaruhi oleh kerja enzim yang sebagian besar berfungsi sebagai katalis. Sensor optik terdiri atas dua macam yaitu *spectroscopic* atau *plain-fiber sensori* dan transduser kimia. Pada jenis pertama, serat optik berfungsi sebagai pengarah sinar (*light-guide*) dengan cara mengirimkan sinar dari sumbernya ke daerah sensoran dan mengirimkan kembali ke detektor. Pada sampel, sinar berinteraksi dengan spesies kimia yang dimonitor. Pada jenis kedua transduser kimia dipasangkan dengan serat optik. Analit berinteraksi dengan transduser, dengan modulasi optik yang dihasilkan dimonitor melalui serat optik. Sensor ini lebih banyak dikembangkan oleh orang, disamping itu banyak spesies analit yang tak berwarna dan non-luminisensi sehingga sensor jenis ini lebih mudah dan lebih cocok untuk diterapkan.



Gambar 2.17 Skema Sensor Kimia (Kuswandi, 2008)

Sensor yang dapat berinteraksi bersama analit secara *reversible*, akan memperoleh sinyal sensor yang dapat dikontrol dengan mudah baik itu secara kinetik atau termodinamik, hal tersebut dapat diartikan sebagai sensor kimia yang ideal.

Beberapa kelebihan sensor kimia, yaitu:

1. Sensor optik bersifat pasif secara elektrik. Hal ini memungkinkan sensor optik tersebut tidak terganggu oleh medan listrik dan medan magnet, sehingga secara intrinsik relatif aman dan dapat dioperasikan pada daerah yang mudah meledak.
2. Sensor kimia dapat diminiaturasi dengan mudah. Apabila kita membuat sensor yang relatif kecil maka sampel yang dibutuhkan juga sedikit.
3. Kontruksinya cukup kuat (tidak mudah pecah seperti pada elektroda gelas).

Selain kelebihan yang dimiliki oleh sensor kimia, ada beberapa kelemahan yang harus diperhatikan, yaitu:

1. Waktu respon relatif lama. Hal ini dimungkinkan karena terjadi transfer masa analit dan membran yang mengandung reagen terimobilisasi dalam bentuk fasa yang berbeda sehingga memerlukan waktu respon yang relatif lama.
2. Terjadinya *photodekomposisi* dan *photobleaching*.
3. Fluktuasi sumber sinar.
4. Hilangnya sinar optik. (Kuswandi, 2001).

### 2.9.3. Aplikasi Sensor Kimia

Pengaplikasian di bidang kesehatan, misalnya pengukuran urin dan darah, gas-gas, ion-ion dan metabolit lainnya sangat penting untuk mengetahui keadaan seseorang, contoh pasien di rumah sakit yang membutuhkan perawatan secara intensif. Sensor kimia dapat digunakan untuk mengetahui analit pada sampel klinis seperti pada darah dan urin, apabila menggunakan analisis klasik di laboratorium hasil yang diperoleh dalam beberapa jam bahkan beberapa hari. Apabila menggunakan sensor kimia hasil yang diperoleh dalam hitungan menit. Sensor kimia dapat digunakan untuk deteksi adanya penyimpanan pada penggunaan obat, seperti penggunaan aspirin atau parasetamol yang over dosis maupun untuk monitoring klinis secara umum (Kuswandi, 2008).

Berdasarkan mekanisme sensor kimia tersebut dapat dijelaskan bahwa kompleks antar reagen yang terimobilisasi pada LDK berbasis kertas dengan

analit akan memberikan suatu respon kimia yaitu terjadinya perubahan warna, sehingga diperlukan karakteristik dari suatu sensor kimia untuk mengetahui kemampuan suatu membran dan reagen untuk mendeteksi analit.

## 2.10 Karakteristik Sensor Kimia

Karakteristik sensor digunakan untuk mengetahui kemampuan suatu membran dan reagen sebagai sensor untuk mendeteksi analit. Karakteristik sensor ini meliputi daerah kerja, selektivitas, sensitivitas, presisi, akurasi, waktu respon dan waktu pakai.

### 2.10.1. Daerah Kerja

Daerah kerja sensor kimia (*dynamic range*) adalah daerah / *range* konsentrasi untuk sensor kimia bisa mendeteksi analit, mulai dari konsentrasi terendah yang pengukurannya dapat dilakukan (LOQ) hingga konsentrasi tertinggi dan kurva kalibrasi mulai menyimpang dari kelinierannya (LOL) (Skoog, D.A., Holler, 2018).

Batas deteksi disebut juga parameter uji batas yang dapat didefinisikan sebagai jumlah terkecil analit pada sampel yang masih dapat dideteksi dan memberikan respon signifikan dibandingkan terhadap blangko. Batas kuantitasi adalah parameter untuk analisis renik dan merupakan kuantitas terkecil analit pada sampel yang masih memenuhi kriteria cermat dan seksama (Harmita, 2004).

Cara untuk menentukan batas deteksi berbeda-beda tergantung dari metode pada analisis tersebut membutuhkan instrument atau tidak. Analisis tidak membutuhkan instrument batas deteksi dapat ditentukan dengan cara mendeteksi analit pada sampel secara pengenceran yang bertingkat. Analisis yang membutuhkan instrument, batas deteksi dapat dihitung dengan mengukur respon blangko berkali-kali kemudian hitung simpangan baku respon blangko (Harmita, 2004).

#### 2.10.2. Selektivitas

Selektivitas atau spesifisitas merupakan kemampuan untuk mengukur suatu zat tertentu secara teliti dan seksama yang disertai dengan komponen lain yang kemungkinan ada pada matrik sampel. Selektivitas juga disebut derajat penyimpanan (*degree of bias*) yaitu suatu metode yang dilakukan dengan cara menambahkan suatu bahan pada sampel, contohnya menambahkan hasil urai, cecaman, senyawa asing lainnya, dan kemudian dibandingkan dengan hasil dari analisis sampel yang tidak ditambahkan bahan lain (Harmita, 2004).

#### 2.10.3. Sensitivitas

Sensitivitas sensor dapat diartikan sebagai suatu kemampuan sensor yang dapat membedakan konsentrasi analit pada konsentrasi yang sangat kecil. Sensitivitas suatu sensor dapat dilihat dari nilai *slope* yang diperoleh yang terdapat pada kurva kalibrasinya (Skoog, D.A., Holler, 2018).

#### 2.10.4. Presisi

Presisi secara definitif dapat disebut sebagai kedekatan nilai respon sensor dibandingkan dengan sensor yang lain pada analit yang sama. Presisi juga dapat dinyatakan sebagai kesesuaian pengulangan respon sensor terhadap analit yang sama, sehingga sering dinyatakan dalam bentuk standar deviasi ( $s$ ), baik standar *deviasi relative* (RSD) maupun koefisien variasi (CV) (Skoog, D.A., Holler, 2018). Reprodusibilitas sensor terhadap analit dapat digolongkan baik bila kesesuaian respon tersebut antara satu respon dengan respon lainnya yang dinyatakan dengan *Standar Deviasi Relative* (RSD)  $<5\%$  (Catrall, 1997).

#### 2.10.5. Akurasi

Akurasi sering dinyatakan sebagai kedekatan nilai respon sensor dibandingkan dengan nilai sebenarnya (*closeness of signal to the true or accepted value*) atau dengan bahasa yang sama dapat dinyatakan pula bahwa akurasi adalah

kesesuaian rata-rata nilai respon sensor dibandingkan dengan nilai yang sebenarnya, sehingga untuk mengukur akurasi sering digunakan tingkat kesalahan baik kesalahan absolut ( $E$ ) maupun kesalahan relatif ( $E_r$ ) (Kuswandi, 2008).

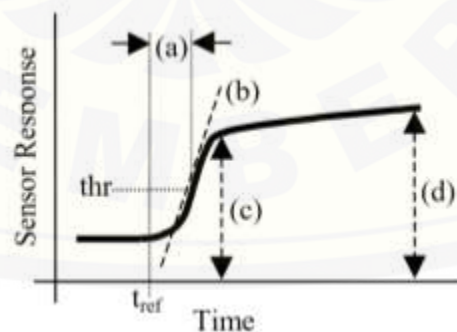
$$E = x_i - x_t \dots\dots\dots (2.1)$$

$$E_r = \frac{x_i - x_t}{x_t} \times 100\% \dots\dots\dots (2.2)$$

$x_i$  adalah nilai individual respon sensor,  $x_t$  adalah nilai respon yang sebenarnya.  $E_r$  dinyatakan sebagai persentase kesalahan karena dinyatakan dalam persen (Kuswandi, 2008).

#### 2.10.6. Waktu Respon dan Waktu Pakai

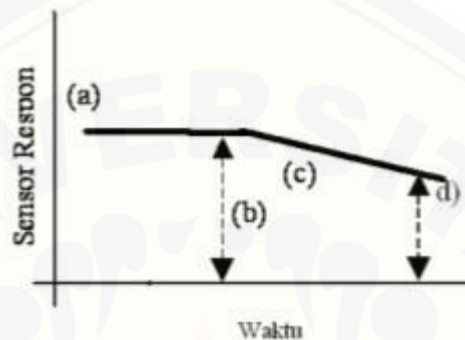
Waktu respon menurut rekomendasi dari IUPAC dapat diartikan sebagai waktu pertama kali sensor direaksikan dengan sampel dan waktu pertama kali respon sensor menghasilkan sinyal yang *steady-state* (dalam keadaan stabil). Waktu sensor memberikan responnya sebesar 90% ( $t_{90}$ ) dari total sinyal yang dihasilkan seperti diberikan pada Gambar 2.18, dalam banyak kasus sering pula digunakan 63% atau 90% yang dikenal dengan ( $t_{63}$  dan  $t_{95}$ ) dari total sinyal sensor terhadap analit yang dihasilkan. Cara ini respon sensor terhadap analit menjadi lebih cepat, sehingga pada gilirannya akan mempercepat proses analisisnya (Kuswandi, 2008).



Gambar 2.18 Waktu Respon Sensor (Kuswandi, 2008)

Waktu pakai sensor dapat dinyatakan sebagai waktu sensor tersebut memberikan reaksi yang sama dan pada konsentrasi yang sama, sensor tersebut stabil terhadap suatu analit hingga waktu dari respon sensor terhadap analit

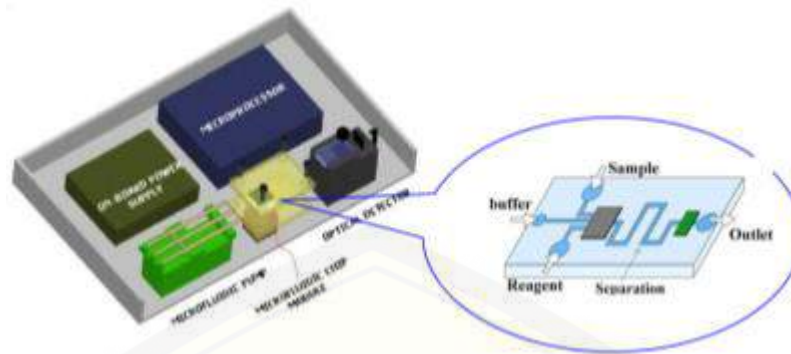
mengalami penurunan yang drastis (biasanya  $>15\%$  dari respon sensor semula atau awal). Pada Gambar 2.19, digambarkan bahwa setelah selang waktu tertentu respon sensor menurun secara drastis, sehingga pada waktu tersebut dapat dinyatakan sebagai waktu pakai sensor. Cara ini respon sensor dapat ditentukan berapa lama dan berapa kali suatu sensor kimia dapat digunakan untuk pengukuran suatu analit (Kuswandi, 2008).



Gambar 2.19 Waktu Pakai Sensor (Kuswandi, 2008)

### 2.11 LDK (Lab Dalam Kepingan)

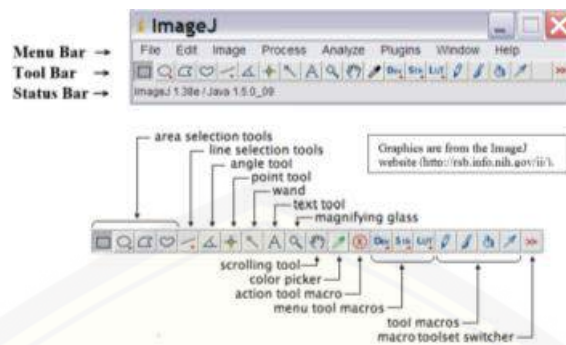
Salah satu perkembangan terbaru dari sensor kimia adalah *micro-total analytical system* ( $\mu$ TAS) atau disebut juga *lab-on-a-chip* (LDK). Kelebihan dari aplikasi  $\mu$ TAS adalah integrasi dari semua proses dalam satu divais, seperti pensamplingan, pre-treatment sampel, separasi, reaksi kimia, deteksi analit dan analisis data dapat dilakukan dalam satu mikrodevais analisis (sering pula disebut dengan: *lab-on-a-chip*), seperti yang tertera pada gambar 2.20, sehingga  $\mu$ TAS banyak digunakan dalam bidang biologi dan medis, serta klinis yang banyak melibatkan pengukuran analit dalam jumlah yang sangat terbatas dan sedikit sekali. Pertama kali konseptual  $\mu$ TAS ini diperkenalkan oleh Manz dkk diawali tahun 1990an dan struktur aslinya pertama kali difabrikasikan menggunakan *micromachining* (polydimethylsiloxane, polymethylmethacrylate, epoxy resin) yang digunakan untuk desain  $\mu$ TAS.



Gambar 2.20 Skematis dari  $\mu$ TAS dengan detektor optik dan *lab-on-a-chip* (Kuswandi, 2008)

Analisis  $\mu$ TAS yang dilakukan dalam sistem ini membutuhkan sampel dan reagen yang sangat sedikit sekali. Pada pemisahan/separasi yang dihasilkan juga lebih baik dari pemisahan dalam skala makro, dan waktu analisis yang dibutuhkan juga sangat pendek. Beberapa persoalan baru terkait dengan ukurannya yang mikro juga muncul, misalnya hidrodinamika fluida dan fenomena dalam kanal yang superkecil, resistivitas kimia dari silikon hingga keberagaman senyawa kimia yang digunakan dan teknologi ikatannya, yaitu antara material substrat untuk membentuk struktur  $\mu$ TAS sering tidak kompatibel dengan imobilisasi kimia dalam kanal *anodic* atau termal, yang biasanya dilakukan pada temperatur tinggi, hal ini tentu berefek pada zat kimia pada LDK (Lab Dalam Kepingan) tersebut. Berdasarkan persoalan tersebut, perkembangan  $\mu$ TAS selama beberapa tahun jarang digunakan sebagai detektor secara langsung dan hampir sebagian besar sistem menggunakan deteksi optik menggunakan spektrometer atau flurometer konvensional. Pada saat ini, konsep baru dalam konstruksi sensor kimia untuk mikrosistem telah dikembangkan. Misalnya, penggunaan  $\mu$ TAS untuk analisis kimia dan medis saat ini telah tersedia secara komersial. Kelebihan dari  $\mu$ TAS dapat disimpulkan bahwa  $\mu$ TAS membutuhkan volume sampel yang sangat sedikit, analisis sangat cepat sehingga menjadikan proses analisis relatif murah (Kuswandi, 2008). LDK yang digunakan di atas sebagai sensor kimia difabrikasi dalam jumlah banyak dengan menggunakan teknik sablon.

## 2.12 ImageJ



Gambar 2.21 Program *ImageJ* (Reinking, 2007)

*ImageJ* yang berbasis pemrograman Java digunakan pada sistem operasi komputer Linux, *Windows*, dan *Machintosh*, serta komputer yang digunakan terdapat *java runtime environment (jre)* (Kurniawan dkk., 2011). *ImageJ* merupakan *free-Software* yang berfungsi sebagai pengolahan gambar digital yang berbasis Java dibuat oleh *National Institute of Mental Health, Wayne Rasband* dari *Research Services Branch, Bethesda, Maryland, dan USA* (Podlasov dan Ageenko, 2003). Pengaplikasian *ImageJ* untuk analisis gambar digital sudah diterapkan secara meluas di bidang biologi dan kesehatan (Abramoff dkk., 2004).

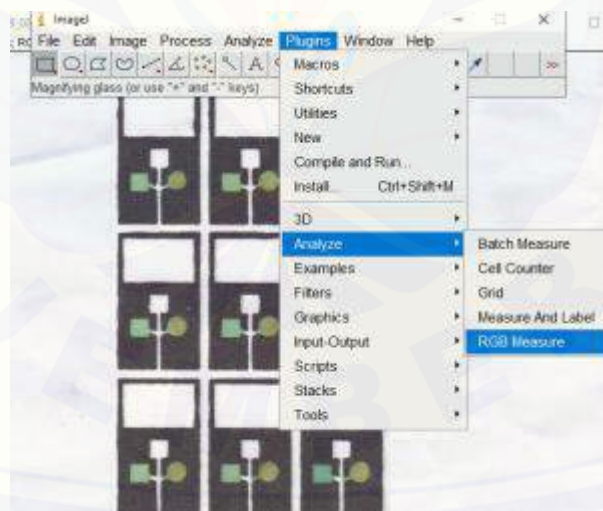
Terdapat dua macam versi untuk pengunduhan *ImageJ* yaitu versi 32-bit dan versi-64 bit (Kurniawan dkk., 2011). Tampilan area kerja pada *ImageJ* terdiri dari *menu bar*, *tool bar*, *status bar*, dan *progress bar*. Hasil pengukuran ditampilkan di area kerja *results*. Histogram dan plot adalah tampilan gambar biasa yang dapat disalin (ke papan klip internal), diedit, dicetak, dan disimpan (Podlasov dan Ageenko, 2003). Cara kerja dari program ini apabila kursor berada di daerah gambar, maka akan muncul koordinat yang akan mengukur dalam pixel/detik. Pixel merupakan titik tunggal dalam pencitraan atau elemen terkecil yang dapat dikenali, ketajaman suatu gambar merupakan jumlah digit biner (bit) yang diperlukan untuk menggambarkan pixel. *ImageJ* dapat mengukur gambar secara nyata dengan kemampuan pengukuran 8 bit, 16 bit, dan 32 bit (Bailer, 2006).

*ImageJ* dapat digunakan juga untuk menggambar *grayscale* yang mempunyai ketajaman lebih dari 1 bit (untuk menunjukkan pixel pada gambar hitam dan putih) sampai 32 bit per pixel. Gambar yang terdiri atas tiga warna



yang mewakili warna primer yaitu warna merah, hijau, dan biru. Ketiga warna tersebut dipilih karena warna tersebut merupakan warna yang menghasilkan spektrum sehingga dapat terlihat oleh pembaca dan ketiga warna tersebut juga dapat bercampur untuk membentuk warna yang lainnya. Intensitas tertinggi dari campuran-campuran maka akan diperoleh cahaya putih. Intensitas akan nol jika semua warna dicampurkan secara bersama-sama, dan dihasilkan cahaya hitam (Reinking, 2007).

Fungsi yang disediakan oleh *ImageJ* dapat diperluas dengan penggunaan plugin. Bahkan, sebagian besar fungsi standar *ImageJ* diimplementasikan sebagai plugin. Pengguna plugin adalah kelas Java yang menghubungkan implementasi yang diperlukan dan ditempatkan ke folder tertentu. Plugin dapat ditulis dalam editor Java *ImageJ* atau di area kerja Java yang ada, direkam dengan perekam makro *ImageJ* atau ditulis pada bahasa makro internal *ImageJ*. Plugin yang ditemukan oleh *ImageJ* ditempatkan ke menu atau submenu Plugin. Ada dua tipe dasar plugin di *ImageJ*, yaitu *implement plugin interface* dan *implement pluginfilter interface* (Podlasov dan Ageenko, 2003).



Gambar 2 22 Tampilan Area Kerja *ImageJ*

## BAB 3. METODE PENELITIAN

### 3.1 Jenis Penelitian

Penelitian yang dilakukan adalah jenis penelitian eksperimental laboratorium.

### 3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

#### 3.2.1 Tempat Penelitian

Tempat penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bio dan Kemosensor Bagian Kimia Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jember.

#### 3.2.2 Waktu Penelitian

Waktu penelitian ini dilaksanakan mulai bulan Februari 2020 sampai bulan Oktober 2020.

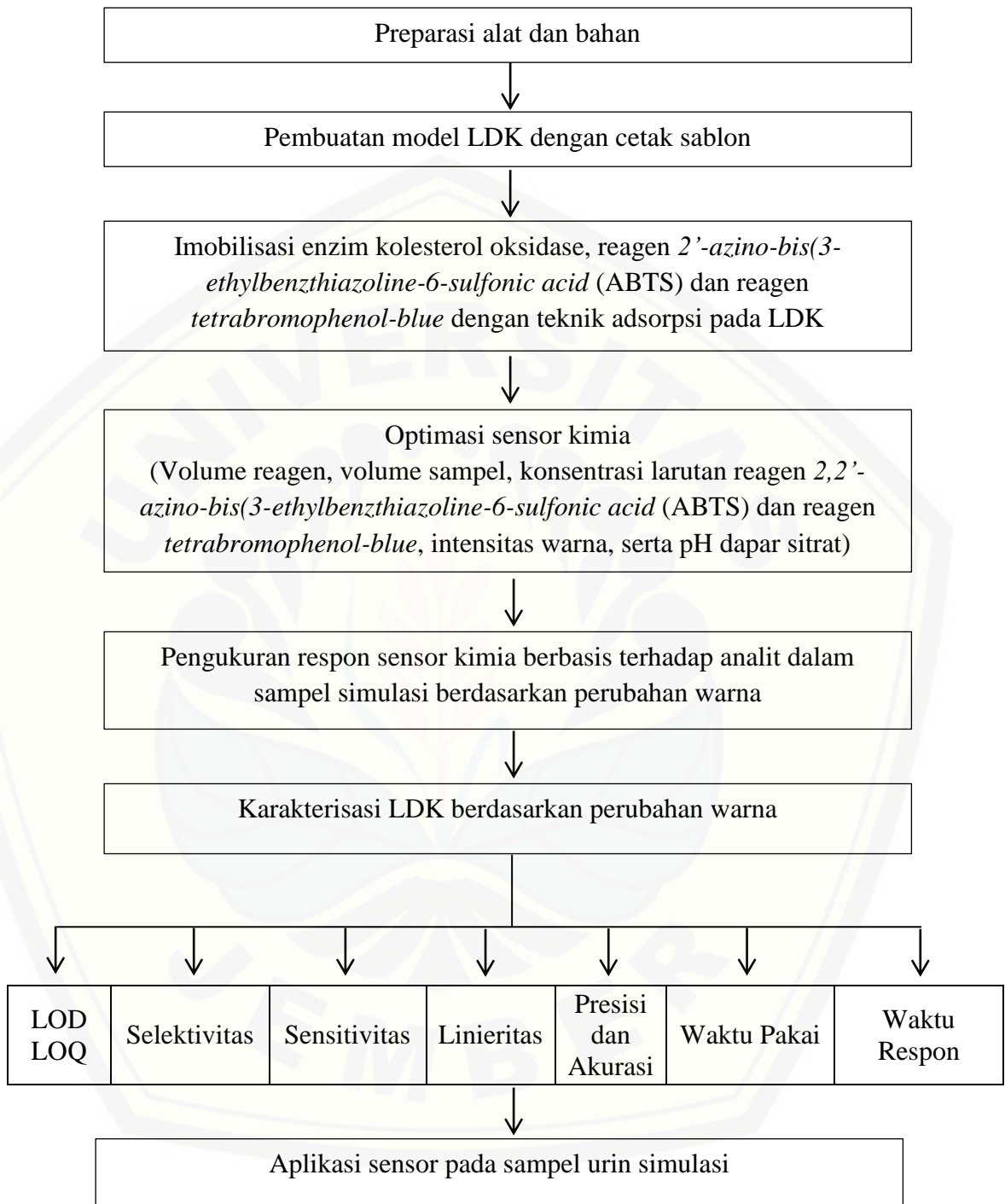
### 3.3 Rancangan Penelitian

#### 3.3.1 Rancangan Operasional

Tahap-tahap yang dilakukan dalam penelitian ini, sebagai berikut:

- a. Pembuatan model LDK dan imobilisasi reagen pada LDK.
- b. Optimasi volume reagen, volume sampel urin yang dibutuhkan, konsentrasi larutan reagen ABTS dan *tetrabromophenol blue* yang digunakan, intensitas warna, dan pH dapar sitrat.
- c. Pengukuran respon sensor kimia berbasis LDK terhadap analit dalam sampel simulasi.
- d. Karakterisasi LDK sensor kimia (waktu respon, linieritas, LOD, LOQ, sensitivitas, selektivitas, akurasi, presisi, dan waktu pakai).
- e. Aplikasi LDK pada sampel simulasi.

## 3.3.2 Diagram Alur Penelitian



Gambar 3.1 Diagram Alur Penelitian

### 3.4 Alat dan Bahan

#### 3.4.1 Alat

Beberapa alat yang diperlukan dalam penelitian ini meliputi keranjang, botol coklat, vial, *ball filler*, botol semprot, beaker glass, labu ukur, lemari es, neraca analitik, pipet tetes, pengaduk, pipet volum, pH meter dan *stopwatch*.

#### 3.4.2 Bahan

Beberapa bahan yang diperlukan dalam penelitian ini meliputi kertas saring “whatman no 9”, serbuk asam sitrat, NaOH, aquadest, standar protein (BSA), reagen *tetrabromophenol-blue*, etanol 97%, standar kolesterol, enzim kolesterol oksidase dari *Pseudomonas sp*, reagen *2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)* (ABTS), aquadest steril, kloroform, pewarna makanan, serbuk  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  dan  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ .

### 3.5 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian meliputi preparasi larutan dapar, larutan standar, larutan blangko dan larutan sampel dari masing-masing analit yang akan ditentukan kadarnya.

#### 3.5.1 Preparasi untuk Penentuan Kadar Kolesterol

##### a. Preparasi Dapar

Larutan dapar fosfat salin (PBS) dengan pH 6,5 dibuat dengan menimbang  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  0,1 M sebanyak 0,4713 gram dan ditimbang 2,3019 gram  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  0,1 M yang dilarutkan aquadest steril dalam labu ukur 100 mL. Larutan  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  dan  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  dimasukkan dalam beaker glass dan dicek pH-nya dengan menggunakan alat pH meter, kemudian ditambahkan tetes demi tetes dengan NaCl 0,75 M sampai diperoleh pH 6,5.

##### b. Preparasi Enzim Kolesterol Oksidase

Enzim kolesterol oksidase dari *Pseudomonas sp* dengan konsentrasi 25 U dilarutkan dalam 5 mL PBS pH 6,5, kemudian larutan tersebut dimasukkan

dalam 5 *microtube*. Tiap *microtube* sebanyak 1 mL dengan konsentrasi 5 U/mL.

c. Preparasi Larutan Standar

Pembuatan larutan standar kolesterol 200 mg/dL disiapkan dengan cara melarutkan 20 mg standar kolesterol dalam 10 mL kloroform. Larutan standar kolesterol 200 mg/dL dilakukan pengenceran dengan konsentrasi 7 - 100 mg/dL.

d. Preparasi Larutan Reagen

Larutan reagen ABTS dengan konsentrasi 2.000 – 5.000 mg/dL diperoleh dari larutan induk reagen ABTS 6.000 mg/dL dibuat dengan cara melarutkan 60 mg reagen ABTS yang ditambahkan aquadest steril dalam labu 10 mL. Larutan reagen ABTS dibuat pengenceran 2.000 – 5.000 mg/dL.

### 3.5.2 Preparasi untuk Penentuan Kadar Protein

a. Preparasi Dapar

Pembuatan larutan dapar sitrat dengan pH 4, 5, 6, 7, dan 8 yang dibuat dengan cara preparasi sejumlah serbuk asam sitrat dan NaOH yang dilarutkan dalam aquadest dengan menggunakan labu 100 mL dan pH dikontrol menggunakan pH meter (kapasitas dapar = 0,01)

b. Preparasi Larutan Standar

Pembuatan larutan standar protein 200 mg/dL disiapkan dengan cara melarutkan 20 mg standar protein dalam 10 mL aquadest. Larutan standar protein 200 mg/dL ini dilakukan pengenceran dengan konsentrasi 2 - 100 mg/dL.

c. Preparasi Larutan Reagen

Larutan reagen *tetrabromophenol-blue* dengan konsentrasi 200 - 1.000 mg/dL diperoleh dari larutan induk reagen *tetrabromophenol-blue* 2.000 mg/dL yang dibuat dengan cara melarutkan 200 mg reagen *tetrabromophenol-blue* yang ditambahkan dengan etanol 97% sampai dengan 10 ml. Larutan reagen *tetrabromophenol-blue* 1000 mg/dL dibuat pengenceran 200 - 1.000 mg/dL.

### 3.5.3 Preparasi Larutan Blangko

Pembuatan larutan blangko disiapkan dengan prosedur yang sama dengan larutan standar tanpa adanya penambahan standar kolesterol dan larutan standar protein tetapi menggantinya dengan aquadest.

### 3.5.4 Preparasi Sampel Urin Simulasi

Larutan sampel urin simulasi disiapkan dengan mengambil sampel urin normal sewaktu dalam pot urin yang bersih. Urin normal diambil 3 tetes dan ditambahkan dengan 3 tetes larutan standar kolesterol konsentrasi tertentu kemudian ditambah 3 tetes larutan standar protein dengan konsentrasi tertentu.

## 3.6 Model LDK yang Dimodifikasi Sensor Kimia

LDK yang diimobilisasi yaitu pada area LDK yang ditetesi dengan menggunakan mikropipet yang berisi larutan untuk mendeteksi kolesterol dan protein. Larutan enzim kolesterol oksidase dan reagen *2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)* (ABTS) untuk deteksi kolesterol dan reagen *tetrabromophenol-blue* untuk deteksi protein.



Gambar 3.2 Model LDK yang Dimodifikasi Sensor Kimia

## 3.7 Pengukuran Analit Terhadap LDK

Sampel urin simulasi volume optimum ditetaskan di atas obyek glass, kemudian sepotong bentuk LDK yang sudah jadi diletakkan berdiri atau dengan posisi tegak lurus terhadap obyek glass dan menyentuh sampel urin. Cairan urin dibiarkan naik ke kertas saring secara kapilaritas hingga mencapai kedua lokasi

reagen, setelah terjadi reaksi antara reagen dan sampel segera diamati perubahan warnanya.

### 3.8 Optimasi LDK

#### 3.8.1. Optimasi Volume Reagen

Reagen sebanyak 0,8  $\mu\text{L}$ , 1,3  $\mu\text{L}$  dan 1,5  $\mu\text{L}$  diteteskan di masing-masing ruangan yang diujikan pada LDK. Beberapa volume reagen tersebut, diamati volume reagen yang memenuhi masing-masing ruangan area deteksi yang tersedia pada LDK.

#### 3.8.2. Optimasi Volume Sampel

Sampel urin sebanyak 10  $\mu\text{L}$ , 20  $\mu\text{L}$ , dan 25  $\mu\text{L}$  diteteskan di atas obyek glass dan diujikan pada LDK. Beberapa volume sampel urin tersebut, diamati volume sampel yang memenuhi seluruh area LDK.

#### 3.8.3. Optimasi Konsentrasi Larutan Reagen *2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid*

Optimasi reagen *2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid* dengan konsentrasi 2.000 – 5.000 mg/dL yang ditambahkan pada LDK kemudian diamati reagen yang memberikan perubahan warna yang signifikan.

#### 3.8.4. Optimasi Konsentrasi Larutan Reagen *Tetrabromophenol Blue*

Larutan reagen *tetrabromophenol blue* dengan berbagai konsentrasi 200 - 1.000 mg/dL yang diimobilisasi pada LDK kemudian diamati reagen yang memberikan perubahan warna yang signifikan setelah diujikan dengan larutan standar protein.

### 3.8.5. Optimasi Intensitas Warna

Penentuan intensitas warna dilakukan dengan mengimobilisasi LDK dengan *tetrabromophenol blue* untuk deteksi protein dan enzim kolesterol oksidase untuk deteksi kolesterol dengan menggunakan beberapa konsentrasi standar protein dan kolesterol yang direplikasi sebanyak 3 atau 4 kali. Pembacaan dalam sensor standar protein dan kolesterol dilakukan dengan pengambilan gambar dengan *scanner* dan dianalisis warna yang terbentuk dengan program “*ImageJ*”. Hasil yang diperoleh dari *ImageJ* berupa nilai *Mean Red*, *Mean Green*, *Mean Blue*, dan *Mean RGB* masing-masing diregresikan dan dilihat nilai *slope* (nilai *b*) dari persamaan regresi yang diperoleh.

### 3.8.6. Optimasi pH Reagen *Tetrabromophenol Blue*

Penentuan optimasi pH sangat diperlukan dalam pembuatan larutan reagen *tetrabromophenol blue*. Larutan buffer sitrat yang dioptimasi adalah pH 4, 5, 6, 7, dan 8, kemudian diamati perubahan warna pada LDK.

## 3.9 Karakteristik LDK

### 3.9.1 Penentuan Waktu Respon LDK

Waktu respon merupakan waktu yang diperlukan reagen *2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)* dan *tetrabromophenol blue* untuk memberikan reaksi hingga memberikan perubahan warna yang sempurna. Konsentrasi larutan standar yang dapat memberikan waktu respon yang optimal akan direplikasi sebanyak tiga kali. Pengukuran intensitas warna dilakukan setiap rentang waktu tertentu hingga reagen *2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)* dan *tetrabromophenol blue* memberikan perubahan warna yang sempurna. Penentuan waktu respon dilakukan dengan membuat kurva antara waktu (menit) vs nilai *Mean RGB*, sehingga didapatkan waktu respon dengan cara mengukur intensitas warna sensor pada waktu pertama kali sensor memberikan respon sinyal yang stabil.



### 3.9.2 Linieritas

Linieritas sensor kimia LDK ditentukan dengan cara sampel direaksikan pada LDK yang sudah diimobilisasi reagen kemudian menentukan konsentrasi terendah dan konsentrasi tertinggi yang memberikan perubahan warna yang jelas dan signifikan dibandingkan dengan blangko. Koefisien korelasi ( $r$ ) dan analisis regresi linier  $y = bx + a$ , merupakan parameter yang digunakan untuk mengetahui adanya hubungan linier. Hubungan linier ini dapat dicapai apabila memiliki nilai  $r = -1$  atau  $+1$  yang tergantung pada arah garis yang diperoleh dan memiliki nilai  $b = 0$ , sedangkan nilai  $a$  digunakan untuk menunjukkan kepekaan dari analisis terutama menggunakan instrument.

### 3.9.3 Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi

Batas deteksi ini dapat ditentukan dengan mengamati konsentrasi minimal larutan protein dan kolesterol yang memberikan perubahan warna yang cukup signifikan dari blangko ketika direaksikan dengan reagen yang sudah diimobilisasi pada LDK. Langkah selanjutnya dengan menentukan nilai *Mean RGB* atau *Mean Blue* menggunakan program *ImageJ*. Perhitungan batas deteksi (LOD) dan batas kuantitasi (LOQ) dapat dihitung dengan persamaan berikut:

$$\text{LOD} = \frac{3 \times S_b}{SI} \dots\dots\dots (3.1)$$

$$\text{LOQ} = \frac{10 \times S_b}{SI} \dots\dots\dots (3.2)$$

Keterangan:

$S_b$  = Simpangan baku respon analitik dari blangko

$SI$  = Arah garis linear (kepekaan arah) dari kurva antara respon terhadap konsentrasi sama dengan *slope* ( $b$  pada persamaan garis  $y = bx + a$ ).

### 3.9.4 Sensitivitas

Sensitivitas sensor kimia LDK ditentukan dengan memperkecil jarak konsentrasi sampel kemudian diamati kemampuan sensor dalam memberikan respon yang cukup signifikan antar konsentrasi tersebut.

### 3.9.5 Selektivitas

Selektivitas sensor kimia LDK ditentukan dengan memberi pengganggu pada sampel, seperti garam, glukosa dan standar asam urat. LDK yang telah diberi pengganggu, kemudian mengamati pengaruh pengganggu tersebut terhadap kertas LDK.

$$\% \text{ Interferen} = \frac{\Delta \text{ RGB matriks}}{\Delta \text{ RGB standar}} \times 100 \% \dots\dots\dots(3.3)$$

### 3.9.6 Presisi

Presisi dilakukan dengan pengulangan respon sensor kimia LDK pada sampel dengan konsentrasi yang sama dan diamati keseksamaan perubahan warna sampel dari hasil pengulangan tersebut. Data diukur menggunakan nilai *Mean* yang dihasilkan dari histogram *RGB* dari tiap pengulangan. *Reproduksibilitas* sensor terhadap analit dapat digolongkan baik apabila kesesuaian respon tersebut antara satu respon dengan respon lainnya dinyatakan dengan nilai *Standar Deviasi Relative (RSD)* <5,3%.

### 3.9.7 Akurasi

Akurasi dilakukan dengan cara sampel urin ditambahkan dengan standar untuk pemeriksaan dengan menggunakan LDK. Konsentrasi yang didapatkan dari hasil pengukuran terhadap konsentrasi yang didapatkan dari nilai teoritis.

$$\% \text{ Recovery} = \frac{\text{Hasil pengukuran}}{\text{Nilai teoritis}} \times 100 \% \dots\dots\dots(3.4)$$

### 3.9.8 Waktu Pakai

Penentuan lama penyimpanan (waktu pakai) dilakukan dengan cara menyimpan LDK dalam plastik berperekat dan diberi penyerap udara dari silika gel dalam kemasan. Lamanya penyimpanan ditentukan dari pertama kali LDK

disimpan pada suhu ruang dan lemari es. Suhu ruang yang digunakan yaitu 20 - 25°C dan suhu lemari es (*chiller* pada suhu 2 – 8°C).

### **3.10 Populasi dan Sampel**

#### **3.10.1 Populasi**

Populasi dapat didefinisikan sebagai unsur atau elemen yang dapat dijadikan sebagai subjek atau objek dari suatu penelitian (Masturoh, 2018).

##### **3.10.1.1 Populasi Target**

Populasi target penelitian ini adalah urin simulasi pasien untuk mendeteksi adanya kolesterol dan protein.

##### **3.10.1.2 Populasi Terjangkau**

Populasi terjangkau penelitian ini adalah urin simulasi pasien usia 20 - 30 tahun untuk mendeteksi adanya kolesterol dan protein di Fakultas Farmasi, Universitas Jember.

#### **3.10.2 Sampel**

Sampel merupakan bagian dari karakteristik dan jumlah yang dimiliki oleh populasi yang secara nyata dapat diteliti dan ditarik kesimpulan (Masturoh, 2018).

##### **3.10.2.1. Kriteria Inklusi**

Kriteria inklusi pada penelitian ini, yaitu:

- a. Sampel urin sewaktu wanita dan pria.
- b. Pasien yang berusia 20 - 30 tahun.
- c. Pasien yang berasal dari Fakultas Farmasi, Universitas Jember.

#### 3.10.2.2. Kriteria Eksklusi

Kriteria eksklusi pada penelitian ini, yaitu:

- a. Pasien merokok atau tidak merokok.
- b. Pasien boleh mengonsumsi kopi atau minuman yang bersoda.

### 3.11 Aplikasi LDK pada Sampel Urin Simulasi

LDK yang sudah diimobilisasi dapat diujikan pada sampel urin secara simulasi, yaitu dengan cara 3 tetes sampel urin normal ditambahkan dengan 3 tetes larutan standar kolesterol dengan konsentrasi tertentu dan 3 tetes larutan standar protein dengan konsentrasi tertentu. LDK diujikan dan diamati perubahan warna yang terjadi untuk mengetahui pengaruhnya terhadap penggunaan urin secara simulasi.

### 3.12 Komparasi Hasil LDK pada Sampel Urin Simulasi

Komparasi dilakukan untuk mengetahui LDK yang telah diimobilisasi dengan reagen *tetrabromophenol blue* dan enzim kolesterol oksidase yang dapat digunakan untuk mendeteksi protein dan kolesterol pada pasien PGK. Hasil LDK pada sampel urin simulasi yang diperoleh untuk deteksi protein dibandingkan dengan hasil tes disptik, sedangkan hasil yang diperoleh untuk deteksi kolesterol dibandingkan dengan standar kolesterol yang dibuat sendiri pada konsentrasi 7 – 70 mg/dL. Hasil yang diperoleh dari kedua perbandingan tersebut dapat dijadikan kesimpulan untuk LDK dapat digunakan sebagai pendeteksi protein dan kolesterol pada pasien PGK.

## BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat diperoleh beberapa kesimpulan sebagai berikut:

1. Fabrikasi dan imobilisasi LDK sebagai platform sensor kimia untuk deteksi kolesterol dan protein pada sampel urin adalah sebagai berikut: LDK merupakan kertas saring dengan model tertentu yang terdiri dari 3 ruang yaitu untuk deteksi kolesterol, deteksi protein, dan sebagai sisa sampel yang dibuat dengan cetak sablon. LDK terbuat dari bahan selulosa yang mampu menyerap cairan dengan baik, sehingga reagen akan mudah diimobilisasi secara fisika yaitu adsorpsi.
2. Kondisi optimum operasional LDK meliputi volume reagen optimum yang digunakan pada LDK 1,3  $\mu\text{L}$ , sedangkan volume sampel optimum adalah 25  $\mu\text{L}$ . Konsentrasi enzim kolesterol oksidasi yang digunakan yaitu 5 U/mL dan larutan reagen *2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)* yang digunakan adalah 5.000 mg/dL untuk deteksi kolesterol, sedangkan konsentrasi larutan reagen *tetrabromophenol blue* yang digunakan 1.000 mg/dL untuk deteksi protein. Intensitas warna yang digunakan untuk deteksi kolesterol adalah *Mean Blue*, sedangkan intensitas warna untuk deteksi protein yaitu *Mean RGB* yang diperoleh dari program aplikasi "*ImageJ*". Reagen *tetrabromophenol blue* optimal pada dapar sitrat pH 4.
3. Secara umum LDK memiliki karakteristik analitis yang cukup baik. Waktu respon yang dihasilkan LDK untuk mencapai nilai konstan untuk deteksi kolesterol  $\pm 15$  menit, sedangkan pada protein  $\pm 10$  menit. LDK sebagai sensor kimia memiliki koefisien korelasi dari linieritas yaitu 0,9999 untuk deteksi kolesterol dan 0,9996 untuk deteksi protein. Nilai LOD dan LOQ untuk deteksi kolesterol meliputi 0,76739270 mg/dL dan 2,30217800 mg/dL, sedangkan nilai LOD dan LOQ pada protein yaitu 0,81388880 mg/dL dan

2,44166600 mg/dL. LDK untuk deteksi kolesterol cukup sensitif dengan nilai *slope* 0,2882 mg/dL, sedangkan nilai sensitivitas pada protein sebesar 0,5044 mg/dL. LDK ini cukup selektif karena dengan adanya pengganggu asam urat dan glukosa pada sampel urin tidak mempengaruhi kerja reagen pada LDK dan nilai selektivitas yang diperoleh <5%. LDK ini juga memiliki nilai presisi dan akurasi yang baik. Nilai RSD yang diperoleh untuk deteksi kolesterol dan protein yaitu <5,3%, LDK untuk deteksi kolesterol dan protein cukup akurat dari hasil akurasinya yang telah memenuhi persyaratan 90 - 107%. Waktu pakai pada LDK tidak dapat digunakan >1 hari pada suhu ruang, sedangkan waktu pakai pada suhu kulkas dapat digunakan sampai hari ke-6.

4. LDK dapat diaplikasikan pada sampel urin simulasi untuk mendeteksi awal Penyakit Ginjal Kronik (PGK). Hal ini dapat dibuktikan dengan kesesuaian hasil deteksi LDK dengan hasil deteksi dipstik urin untuk deteksi protein, sedangkan untuk deteksi kolesterol dibandingkan dengan standar kolesterol yang dibuat sendiri dengan konsentrasi 7 mg/dL - 70 mg/dL. LDK lebih mudah, efisien dan praktis, sehingga LDK sebagai sensor kimia dapat digunakan sebagai alternatif untuk deteksi awal Penyakit Ginjal Kronik.

## 5.2 Saran

Penelitian tentang “Pengembangan Lab Dalam Kepingan (LDK) Berbasis Kertas Untuk Penentuan Kadar Kolesterol dan Protein pada Sampel Urin Secara Simultan” masih diperlukan studi lebih lanjut antara lain:

1. Modifikasi teknik pencetakan sehingga dapat dihasilkan LDK dengan model yang batas cat karetnya benar-benar mampu menahan cairan yang digunakan.
2. Penambahan silika gel dan alumunium foil pada pengemasan LDK untuk meningkatkan waktu pakai agar LDK dapat bertahan lebih lama dalam pemakaiannya.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Abramoff, M. D., P. J. Magalhaes, dan S. J. Ram. 2004. Image processing with imagej. *Biophotonics International*. 11(7):36–41.
- Anggraini, D. I. dan L. F. Nabillah. 2018. Activity test of suji leaf extract (*dracaena angustifolia roxb.*) on in vitro cholesterol lowering. *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi*. 21(2):54–58.
- Arif Rifqi Pambudi, M. H. M. 2015. Karakteristik kejadian penyakit ginjal kronik pada sindrom nefrotik anak. *Media Medika Muda*. 4(4):418–426.
- Bailer, W. 2006. *Writing ImageJ PlugIns – A Tutorial 1 Getting Started*. Hagenberg, Austria: Austria University of Applied Science Dept. of Media Technology and Design. January 2006.
- Baron, D. . 1995. *Kapita Selekta Patologi Klinik (Edisi Keempat)*. Jakarta: EGC Penerbit Buku Kedokteran.
- Cano, A. dan M. B. Arnao. 2018. *ABTS/TEAC (2,2'-azino-bis(3-Ethylbenzothiazoline-6-sulfonic Acid)/Trolox® -Equivalent Antioxidant Capacity) Radical Scavenging Mixed-mode Assay*. Spain: Department of Plant Biology (Plant Physiology), Faculty of Biology, University of Murcia.
- Catrall, R. . 1997. *Chemical Sensor*. Oxford: Oxford University Press.
- Chalik, R. 2016. *Anatomi Fisiologi Manusia*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Colipa, a. 2010. *Opinion On Tetrabromophenol Blue*. European Cosmetics Toiletry and Perfumery Association.
- Comings, D. E. 1963. Anisotropic lipids and urinary cholesterol excretion. *JAMA: The Journal of the American Medical Association*. 183(2):126–131.
- D. Jfingst, J. Wallner, and H. J. K. 1980. Correlation of total cholesterol and protein in urine in patients with the nephrotic syndrome. 58:1215–1216.

- Eggin & Brian, R. 1996. *Biosensor an Introduction*. New York: John Wiley & Sons.
- Ermer, J. 2005. *Method Validation in Pharmaceutical Analysis Edited by Related Titles from Wiley-VCH: LC / MS Applications in Drug Development Reference Materials for Chemical Analysis*. Weinheim: WILEY-VCG Verlag GmbH & Co, KGaA.
- Fogazzi, G. B. 1996. Nephrology dialysis transplantation crystauria : a neglected aspect of urinary sediment analysis. *Education Course*. 11:379–387.
- Gandasoebrata. 1999. *Penuntun Laboratorium Klinik Cetakan Kesembilan*. Jakarta: Dian Rakyat.
- Gardner, J. A. dan H. Gainsborough. 1925. Cholesterol secretion in the urine. part i. *Biochemical Journal*. 19(4):667–671.
- Guyton, A.C., & Hall, J. . 2011. *Guyton And Hall Textbook of Medical Physiology Twelfth Edition*. America: United States of America.
- Harahap, F. 2012. *Fisiologi Tumbuhan: Suatu Pengantar*. Medan: Universitas Stuttgart. *Universitas Stuttgart*.
- Harmita. 2004. Petunjuk pelaksanaan validasi metode dan cara perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 1(3):117–135.
- Hayat, A., W. Haider, Y. Raza, dan J. L. Marty. 2015. Colorimetric cholesterol sensor based on peroxidase like activity of zinc oxide nanoparticles incorporated carbon nanotubes. *Talanta*. 143:1–18.
- Higgins, M. J. P. 1976. The regulation of cholesterol metabolism. *Biochemical Society Transactions*. 4(4):86–88.
- Himedia. 1920. Product information. *Opadry*. 1919–1920.
- Hongtanee, M. L. 2016. *Development of Urinary Albumin Detection KIT*. Thailand: Chulalongkorn University.



- Inriani. 2014. *Gambaran Angka Kejadian Proteinuria Pada Ibu Hamil Di Puskesmas Kassi-Makassar Tahun 2014*. Makassar: Prodi Kebidanan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar. *Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar*.
- Japaries, W. 1995. *Penyakit Ginjal*. Jakarta: Penerbit Arean.
- Jha, V., G. Garcia-Garcia, K. Iseki, Z. Li, S. Naicker, B. Plattner, R. Saran, A. Y. M. Wang, dan C. W. Yang. 2013. Chronic kidney disease: global dimension and perspectives. *The Lancet*. 382:260–272.
- Julianus, S. R. 2009. *Pengembangan Biosensor Dengan Menggunakan Teknik Screen Printing Untuk Deteksi Kadar Kolesterol*. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.
- Jumaydha, L. N., Y. A. Assa, dan Y. M. Mewo. 2016. Gambaran kadar protein dalam urin pada pekerja bangunan. *Jurnal E-Biomedik*. 4(2):1–5.
- Kemenkes. 2017. *Situasi Penyakit Ginjal Kronis*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Kennely, petter j dan victor w Rodwell. 2013. *Struktur Dan Fungsi Protein Dan Enzim*. Jakarta: Biokimia Harper. *Biokimia Harper*.
- Kurniawan, C., T. B. Waluyo, dan Perdamean Sebayang. 2011. Analisis ukuran partikel menggunakan free software image-j. *Seminar Nasional Fisika*. 12:1–9.
- Kuswandi, B. 2001. *Sensor Kimia Optik: Konsep, Desain, Dan Instrumentasi*. Jember: Program Studi Farmasi Universitas Jember.
- Kuswandi, B. 2008. *Sensor Kimia Teori, Praktek Dan Aplikasi*. Jember: Farmasi Universitas Jember.
- Lehninger, A. . 1982. *Principle Of Biochemistry*. Edisi Fifth Edit. United State of America: Worth Publ. Inc.
- M. M. Elnashar, M. 2010. Review article: immobilized molecules using

- biomaterials and nanobiotechnology. *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*. 1(1):61–77.
- Mardalena, I. dan E. Suyani. 2016. *Modul Bahan Ajar Cetak Keperawatan Ilmu Gizi*. Jakarta: Kementeriann Kesehatan Republik Indonesia. *Kementeriann Kesehatan Republik Indonesia*.
- Martinez, A. W., S. T. Phillips, M. J. Butte, dan G. M. Whitesides. 2007. Patterned paper as a platform for inexpensive, low-volume, portable bioassays. *Angewandte Chemie - International Edition*. 46(8):1318–1320.
- Masturoh, I. 2018. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Murray, R. K. 2009. *Biokimia Harper Edisi 27*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Mustikowati, A. Sukeksi, dan E. Rochmawati. 2017. *Hubungan Hiperkolesterolemia Terhadap Adanya Oval Fat Bodies Dalam Urin*. Semarang: Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang.
- Nugroho, Y. S., D. Gunawan, dan U. M. Surakarta. 2008. Decision tree induction for classifying the cholesterol levels. *International Conference on Science, Technology, and Humanity*. 231–240.
- Ojeda, C.B & Fuensanta, S. . 2006. *Recent Development in Optical Chemical Sensors Coupling with Flow Injection Analysis*. Spain: Department of Analytical Chemistry Faculty of Sciences University of Malaga Campus Teations.
- Othmer, K. 1963. *Encyclopedia of Science and Technology*. New York: The Inter Science Encyclopedia, Inc.
- Pasini, E., G. Corsetti, R. Aquilani, C. Romano, A. Picca, R. Calvani, dan F. S. Dioguardi. 2018. Protein-amino acid metabolism disarrangements: the

- hidden enemy of chronic age-related conditions. *Nutrients*. 10(391):1–11.
- Peng, H. W., C. F. Chou, M. S. Shiao, E. Lin, H. J. Zheng, C. C. Chen, dan P. C. Fan. 1997. Urine lipids in patients with a history of filariasis. *Urological Research*. 25(3):217–221.
- Podlasov, A. dan E. Ageenko. 2003. *Working and Development with ImageJ*. Finlandia: Department of Computer Science University of Joensuu. *University of Joensuu - Technical Paper*.
- Rahmatullah, A., I. B. Akbar, dan A. F. Sumantri. 2020. Hubungan kadar gula darah dengan glukosuria pada pasien diabetes mellitus di rsud al-ihsan periode januari – desember 2014. *Prosiding Pendidikan Dokter*. 2:720–724.
- Reinking, L. 2007. ImageJ basics. *Word Journal Of The International Linguistic Association*. 211:1–22.
- RISKESDAS. 2013. *Pokok-Pokok Hasil Riskesdas Indonesia 2013*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. *Badan Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan*.
- Santhi, D., R. Dewi, dan S. AP. 2015. *Penuntun Praktikum Kimia Klinik I*. Denpasar: Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Udayana.
- Skoog, D.A., Holler, F. . & C. S. . 2018. *Principles of Instrumental Analysis*. Edisi sixth edit. New York: Sauders College Publishing. *Conference Record of 51st Asilomar Conference on Signals, Systems and Computers, ACSSC 2017*.
- Sobotka, H., E. Bloch, dan A. B. Rosenbloom. 1938. Urinary cholesterol in cancer. *American Journal of Cancer*. 38(2):567–573.
- Sudoyo AW. 2006. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid I&II Edisi IV 2006*. Jakarta: Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Jakarta.
- Susanti, R. dan F. Febriana. 2017. *Teknologi Enzim*. Yogyakarta: Fakultas

Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang.

Tan, T. . dan R. 2010. *Obat-Obat Sederhana Untuk Gangguan Sehari-Hari*. Jakarta: PT. Alex Media Komputindo Kelompok Gramedia.

Tjiptaningrum, A. dan Bayu Arief Hartanto. 2016. Dampak proteinuria pada anak the impact of proteinuria on the children. *Majority*. 5(2):22–26.

Triyono, A. 2010. *Mempelajari Pengaruh Penambahan Beberapa Asam Pada Proses Isolasi Protein Terhadap Tepung Protein Isolat Kacang Hijau (Phaseolus Radiatus L.)*. Semarang: Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Unversitas Diponegoro.

Utami, D. C. N. 2016. *Pengembangan Chip Kertas Untuk Deteksi Chronic Kidney Disease Secara Dini*. Jember: Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Webster, A. C., E. V. Nagler, R. L. Morton, dan P. Masson. 2017. Chronic kidney disease. *The Lancet*. 389:1238–1252.

Wulansari, A. N. 2018. Alternatif cantigi ungu (vaccinium varingiaefolium) sebagai antioksidan alami : review. *Farmaka*. 16(2):419–429.

Yu, J. H., S. G. Jeong, C. S. Lee, J. Y. Hwang, K. T. Kang, H. Kang, dan S. H. Lee. 2015. Fabrication of a paper-based analytical device for multiple colorimetric analysis via inkjet-printing and paper-cutting. *Biochip Journal*. 9(2):1–5.

Yusuf, Y. 2018. *Modul Sederhana Dan Ilmiah Untuk Belajar*. Jakarta: Penerbit EduCenter Indonesia.

Yuwono, M. dan G. Indrayanto. 2005. Validation of chromatographic methods of analysis. *Assesment Service Unit*. 32(5):243–259.

LAMPIRAN

LAMPIRAN A. BAHAN

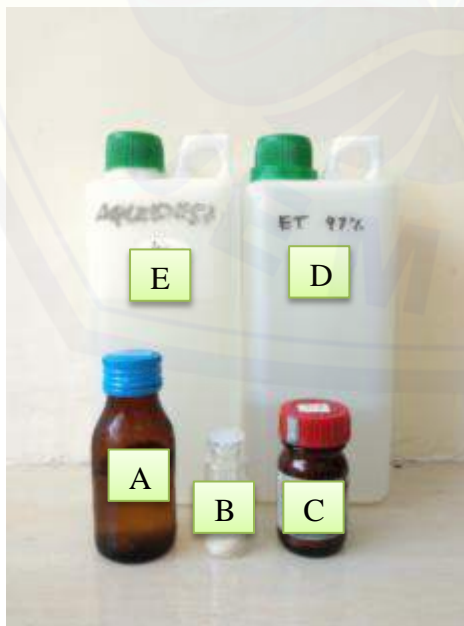
A.1 Bahan Untuk Deteksi Kolesterol



**Keterangan:**

- A. Enzim Kolesterol Oksidase
- B. Reagen ABTS
- C. Standar Kolesterol
- D. PBS pH 6,5
- E. Kloroform
- F. Aquadest steril

A.2 Bahan Untuk Deteksi Protein



**Keterangan :**

- A. Dapar Sitrat pH 4
- B. Standar Protein
- C. Reagen *Tetrabromophenol Blue*
- D. Etanol 97%
- E. Aquadest

## LAMPIRAN B. OPTIMASI KONSENTRASI

### B.1. Optimasi Reagen 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS)

#### B.1.1 Optimasi Konsentrasi Reagen dan Intensitas Warna 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)

##### B.1.1.1 Intensitas Warna Red

Konsentrasi	Mean Red (Blangko)	Mean Red (Produk)	$\Delta$ Mean Red
2.000 mg/dL	246,757	151,835	94,923
3.000 mg/dL	245,829	150,260	95,569
4.000 mg/dL	246,293	150,954	95,340
5.000 mg/dL	246,198	150,570	95,628

a. 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) Sebelum ditambahkan Kolesterol 100 mg/mL (Blangko)

Konsentrasi	R1	R2	R3	Rata-rata	SD
2.000 mg/dL	246,625	246,885	246,762	246,757	0,130
3.000 mg/dL	245,336	245,950	246,200	245,829	0,445
4.000 mg/dL	246,157	245,931	246,792	246,293	0,446
5.000 mg/dL	246,176	246,258	246,160	246,198	0,053

b. 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) Setelah ditambahkan Kolesterol 100 mg/mL (Produk)

Konsentrasi	R1	R2	R3	Rata-rata	SD
2.000 mg/dL	151,333	152,986	151,185	151,835	1,000
3.000 mg/dL	149,434	151,808	149,538	150,260	1,342
4.000 mg/dL	151,663	150,238	150,960	150,954	0,713
5.000 mg/dL	150,405	150,768	150,536	150,570	0,184

##### B.1.1.2 Intensitas Warna Green

Konsentrasi	Mean Green (Blangko)	Mean Green (Produk)	$\Delta$ Mean Green
2.000 mg/dL	246,665	181,611	65,054
3.000 mg/dL	246,148	178,163	67,985
4.000 mg/dL	246,508	175,298	71,209
5.000 mg/dL	246,572	172,351	74,220

- a. *2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)* Sebelum ditambahkan Kolesterol 100 mg/mL (Blangko)

Konsentrasi	R1	R2	R3	Rata-rata	SD
2.000 mg/dL	246,650	246,583	246,762	246,665	0,090
3.000 mg/dL	246,004	246,189	246,250	246,148	0,128
4.000 mg/dL	246,269	246,407	246,847	246,508	0,302
5.000 mg/dL	246,688	246,734	246,293	246,572	0,242

- b. *2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)* Setelah ditambahkan Kolesterol 100 mg/mL (Produk)

Konsentrasi	R1	R2	R3	Rata-rata	SD
2.000 mg/dL	181,641	181,211	181,981	181,611	0,386
3.000 mg/dL	178,093	178,110	178,286	178,163	0,107
4.000 mg/dL	175,601	175,131	175,163	175,298	0,263
5.000 mg/dL	172,506	172,256	172,292	172,351	0,135

#### B.1.1.3 Intensitas Warna Blue

Konsentrasi	Mean Blue (Blangko)	Mean Blue (Produk)	$\Delta$ Mean Blue
2.000 mg/dL	248,769	156,405	92,364
3.000 mg/dL	248,428	151,441	96,987
4.000 mg/dL	248,472	146,540	101,932
5.000 mg/dL	248,620	142,038	106,582

- a. *2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)* Sebelum ditambahkan Kolesterol 100 mg/mL (Blangko)

Konsentrasi	R1	R2	R3	Rata-rata	SD
2.000 mg/dL	248,650	249,126	248,530	248,769	0,315
3.000 mg/dL	248,225	248,629	248,429	248,428	0,202
4.000 mg/dL	248,389	248,759	248,269	248,472	0,255
5.000 mg/dL	248,582	248,871	248,406	248,620	0,235

- b. *2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)* Setelah ditambahkan Kolesterol 100 mg/mL (Produk)

Konsentrasi	R1	R2	R3	Rata-rata	SD
2.000 mg/dL	156,231	155,835	157,148	156,405	0,674
3.000 mg/dL	150,939	150,868	152,516	151,441	0,932
4.000 mg/dL	147,210	146,278	146,132	146,540	0,585
5.000 mg/dL	141,446	143,310	141,357	142,038	1,103

## B.1.1.4 Intensitas Warna RGB

Konsentrasi	Mean RGB (Blangko)	Mean RGB (Produk)	$\Delta$ Mean RGB
2.000 mg/dL	247,452	163,195	84,256
3.000 mg/dL	246,888	160,062	86,826
4.000 mg/dL	247,266	157,548	89,717
5.000 mg/dL	247,276	150,044	92,232

a. 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) Sebelum ditambahkan Kolesterol 100 mg/mL (Blangko)

Konsentrasi	R1	R2	R3	Rata-rata	SD
2.000 mg/dL	247,292	247,720	247,343	247,452	0,234
3.000 mg/dL	246,564	247,025	247,075	246,888	0,282
4.000 mg/dL	247,218	247,074	246,505	247,266	0,255
5.000 mg/dL	247,410	247,289	247,129	247,276	0,141

b. 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) ABTS Setelah ditambahkan Kolesterol 100 mg/mL (Produk)

Konsentrasi	R1	R2	R3	Rata-rata	SD
2.000 mg/dL	163,015	163,182	163,389	163,195	0,187
3.000 mg/dL	159,921	160,313	159,952	160,062	0,218
4.000 mg/dL	158,153	157,290	157,202	157,548	0,526
5.000 mg/dL	154,863	155,476	154,792	150,044	0,376

## B.2. Optimasi Reagen Tetrabromophenol Blue

## B.2.1 Optimasi Konsentrasi Reagen dan Intensitas Warna Tetrabromophenol Blue

## B.2.1.1. Intensitas Warna Red

Konsentrasi	Mean Red (Blangko)	Mean Red (Produk)	$\Delta$ Mean Red
200 mg/dL	164,066	106,251	57,815
400 mg/dL	161,499	93,190	63,309
600 mg/dL	161,280	91,035	70,245
800 mg/dL	158,613	87,430	71,183
1.000 mg/dL	156,468	84,098	72,370



a. *Tetrabromophenol Blue* Sebelum ditambahkan Protein 100 mg/mL (Blangko)

Konsentrasi	R1	R2	R3	R4	Rata-rata	SD
200 mg/dL	164,102	164,084	164,000	164,078	164,066	0,045
400 mg/dL	161,552	161,393	161,587	161,464	161,499	0,088
600 mg/dL	161,304	161,200	161,440	161,176	161,280	0,120
800 mg/dL	158,782	158,703	158,551	158,416	158,613	0,163
1.000 mg/dL	156,335	156,492	156,349	156,696	156,468	0,168

b. *Tetrabromophenol Blue* Setelah ditambahkan Protein 100 mg/mL (Produk)

Konsentrasi	R1	R2	R3	R4	Rata-rata	SD
200 mg/dL	106,324	106,229	106,206	106,245	106,251	0,051
400 mg/dL	93,184	93,101	93,219	93,256	93,190	0,066
600 mg/dL	91,054	91,110	91,002	90,974	91,035	0,060
800 mg/dL	87,659	87,250	87,549	87,262	87,430	0,206
1.000 mg/dL	84,000	84,113	84,005	84,274	84,098	0,128

B.2.1.2. Intensitas Warna *Green*

Konsentrasi	Mean Green (Blangko)	Mean Green (Produk)	$\Delta$ Mean Green
200 mg/dL	173,177	166,405	6,772
400 mg/dL	166,012	153,882	12,130
600 mg/dL	166,593	145,826	20,767
800 mg/dL	159,364	130,702	28,662
1.000 mg/dL	160,472	126,821	33,651

a. *Tetrabromophenol Blue* Sebelum ditambahkan Protein 100 mg/mL (Blangko)

Konsentrasi	R1	R2	R3	R4	Rata-rata	SD
200 mg/dL	173,110	173,033	173,208	173,357	173,177	0,140
400 mg/dL	166,130	166,015	166,009	165,894	166,012	0,096
600 mg/dL	166,569	166,400	166,445	166,958	166,593	0,254
800 mg/dL	159,149	159,407	159,285	159,615	159,364	0,198
1.000 mg/dL	160,407	160,508	160,697	160,276	160,472	0,178

b. *Tetrabromophenol Blue* Setelah ditambahkan Protein 100 mg/mL (Produk)

Konsentrasi	R1	R2	R3	R4	Rata-rata	SD
200 mg/dL	166,321	166,229	166,193	166,887	166,405	0,326
400 mg/dL	153,789	153,651	153,721	154,367	153,882	0,328
600 mg/dL	145,650	145,914	145,371	146,369	145,826	0,442
800 mg/dL	130,662	130,767	130,712	130,668	130,702	0,049
1.000 mg/dL	126,881	126,770	126,952	126,681	126,821	0,120

B.2.1.3. Intensitas Warna *Blue*

Konsentrasi	Mean Blue (Blangko)	Mean Blue (Produk)	$\Delta$ Mean Blue
200 mg/dL	126,800	172,749	-45,949
400 mg/dL	114,159	171,465	-57,306
600 mg/dL	117,371	155,734	-38,363
800 mg/dL	103,327	128,049	-24,722
1.000 mg/dL	107,859	120,688	-12,829

a. *Tetrabromophenol Blue* Sebelum ditambahkan Protein 100 mg/mL (Blangko)

Konsentrasi	R1	R2	R3	R4	Rata-rata	SD
200 mg/dL	126,765	126,723	126,804	126,908	126,800	0,079
400 mg/dL	114,135	114,105	114,210	114,186	114,159	0,048
600 mg/dL	117,556	117,181	117,256	117,491	117,371	0,181
800 mg/dL	103,484	103,703	103,610	103,062	103,327	0,262
1.000 mg/dL	107,714	107,608	107,976	108,138	107,859	0,242

b. *Tetrabromophenol Blue* Setelah ditambahkan Protein 100 mg/mL (Produk)

Konsentrasi	R1	R2	R3	R4	Rata-rata	SD
200 mg/dL	172,654	172,687	172,711	172,942	172,749	0,131
400 mg/dL	171,358	171,491	171,481	171,530	171,465	0,074
600 mg/dL	155,570	155,468	155,545	156,353	155,734	0,415
800 mg/dL	128,105	128,026	128,000	128,065	128,049	0,046
1.000 mg/dL	120,652	120,512	120,719	120,896	120,688	0,162

## B.2.1.4. Intensitas Warna RGB

Konsentrasi	Mean RGB (Blangko)	Mean RGB (Produk)	$\Delta$ Mean RGB
200 mg/dL	154,680	153,500	1,180
400 mg/dL	147,219	139,523	7,696
600 mg/dL	148,427	130,873	17,554
800 mg/dL	140,418	115,374	25,044
1.000 mg/dL	141,605	110,527	31,425

a. *Tetrabromophenol Blue* Sebelum ditambahkan Protein 100 mg/mL (Blangko)

Konsentrasi	R1	R2	R3	R4	Rata-rata	SD
200 mg/dL	154,433	154,801	154,560	154,926	154,680	0,224
400 mg/dL	147,346	147,021	147,192	147,317	147,219	0,148
600 mg/dL	148,219	148,605	148,339	148,545	148,427	0,179
800 mg/dL	140,249	140,591	140,225	140,607	140,418	0,209
1000 mg/dL	141,433	141,220	141,870	141,897	141,605	0,333

b. *Tetrabromophenol Blue* Setelah ditambahkan Protein 100 mg/mL (Produk)

Konsentrasi	R1	R2	R3	R4	Rata-rata	SD
200 mg/dL	153,203	153,498	153,587	153,712	153,500	0,217
400 mg/dL	139,477	139,500	139,522	139,593	139,523	0,050
600 mg/dL	130,661	130,859	131,031	130,941	130,873	0,158
800 mg/dL	115,118	115,419	115,391	115,568	115,374	0,188
1000 mg/dL	110,771	110,319	110,838	110,180	110,527	0,327

B.2.2 Optimasi Dapar Reagen *Tetrabromophenol Blue*

pH	Mean RGB (Blangko)	Mean RGB (Produk)	$\Delta$ Mean RGB
4	142,539	122,682	19,856
5	112,690	97,476	15,214
6	131,472	120,517	10,956
7	112,403	106,579	5,824
8	94,224	90,429	3,795

- a. Dapar Reagen *Tetrabromophenol Blue* Sebelum ditambahkan Protein 100 mg/mL (Blangko)

pH	R1	R2	R3	Rata-rata	SD
4	142,420	142,607	142,589	142,539	0,103
5	112,781	112,507	112,783	112,690	0,159
6	131,886	131,057	131,474	131,472	0,415
7	112,713	112,164	112,333	112,403	0,281
8	94,194	94,282	94,196	94,224	0,050

- b. Dapar Reagen *Tetrabromophenol Blue* Setelah ditambahkan Protein 100 mg/mL (Produk)

pH	R1	R2	R3	Rata-rata	SD
4	122,510	122,672	122,865	122,682	0,178
5	97,470	97,355	97,603	97,476	0,124
6	120,419	120,291	120,840	120,517	0,287
7	160,430	106,492	106,815	106,579	0,207
8	90,485	90,351	90,450	90,429	0,070

## LAMPIRAN C. WAKTU RESPON

C.1 Waktu Respon Reagen *2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)*

Menit ke-	R1	R2	R3	R4	Mean Blue	$\Delta$ Mean Blue	SD
Blangko	248,269	248,582	248,871	248,406	248,532	-	0,260
1	140,757	140,733	140,627	140,821	140,735	107,798	0,081
5	140,329	140,710	140,876	140,861	140,694	107,838	0,255
10	140,841	140,559	140,405	140,764	140,642	107,890	0,198
15	140,810	140,863	140,530	140,179	140,596	107,937	0,314
20	140,754	140,792	140,437	140,391	140,594	107,939	0,209
25	140,717	140,697	140,519	140,445	140,595	107,938	0,134
30	140,778	140,698	140,460	140,435	140,593	107,939	0,171
35	140,883	140,525	140,892	140,075	140,594	107,938	0,386
40	140,641	140,314	140,801	140,625	140,595	107,937	0,204
45	140,639	140,565	140,796	140,376	140,594	107,938	0,151

C.2 Waktu Respon Reagen *Tetrabromophenol Blue*

Menit ke-	R1	R2	R3	Mean RGB	$\Delta$ Mean RGB	SD
Blangko	142,362	142,282	142,492	142,379	-	0,106
0	98,622	98,081	98,253	98,319	44,060	0,276
2	98,142	98,497	98,241	98,293	44,085	0,183
4	98,141	98,244	98,372	98,252	44,126	0,116
6	98,203	98,130	98,242	98,192	44,187	0,057
8	98,200	98,176	98,116	98,164	44,215	0,043
10	98,283	97,872	98,127	98,094	44,285	0,207
12	98,218	98,100	97,967	98,095	44,284	0,126
14	97,894	98,082	98,300	98,092	44,287	0,203
16	98,187	98,014	98,072	98,091	44,288	0,088
18	98,116	98,130	98,038	98,095	44,284	0,050
20	98,071	97,938	98,276	98,095	44,284	0,170

LAMPIRAN D. LINIERITAS

C.1 Linieritas Standar Kolesterol

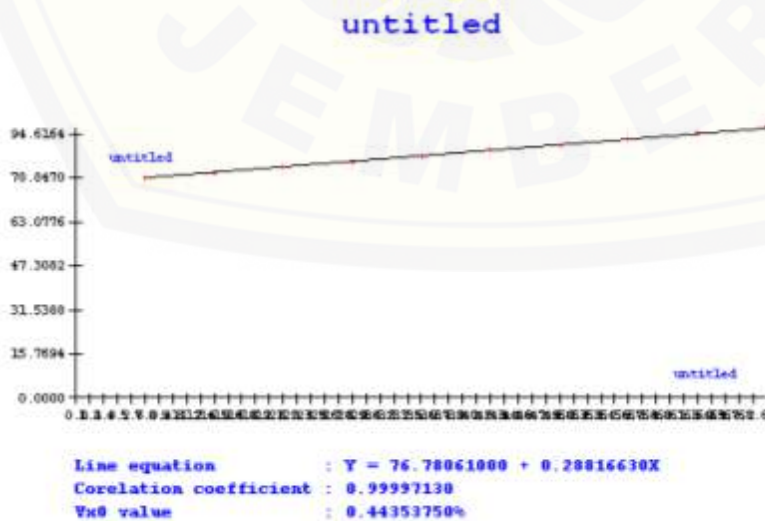
Konsentrasi	R1	R2	R3	R4	Mean Blue	Δ Mean Blue	SD
Blangko	248,582	248,871	248,406	248,389	248,562	-	0,224
7 mg/dL	169,636	169,972	169,587	169,664	169,715	78,847	0,174
14 mg/dL	167,660	167,812	167,500	167,869	167,710	80,852	0,166
21 mg/dL	165,691	165,593	165,853	165,765	165,726	82,837	1,110
28 mg/dL	163,656	163,744	163,969	163,838	163,802	84,760	0,134
35 mg/dL	161,763	161,497	161,870	161,793	161,731	86,831	1,162
42 mg/dL	159,382	159,569	159,875	159,896	159,681	88,882	0,249
49 mg/dL	157,833	157,608	157,625	157,673	157,685	90,877	0,103
56 mg/dL	155,387	155,662	155,452	155,452	155,621	92,941	0,268
63 mg/dL	153,482	153,600	153,750	153,798	153,658	94,905	0,144
70 mg/dL	151,456	151,593	151,722	151,407	151,545	97,018	0,142

- Nilai Linieritas dengan Menggunakan Metode Validasi

```

Method          : Linearity
Probability      : 95%
Number of data   : 10
Line equation    : Y = 76.78061000 + 0.28816630X
Correlation coefficient : 0.99997130
Sy value        : 0.04920783
Vx0 value       : 0.44353750%
Xp value        : 0.76739270

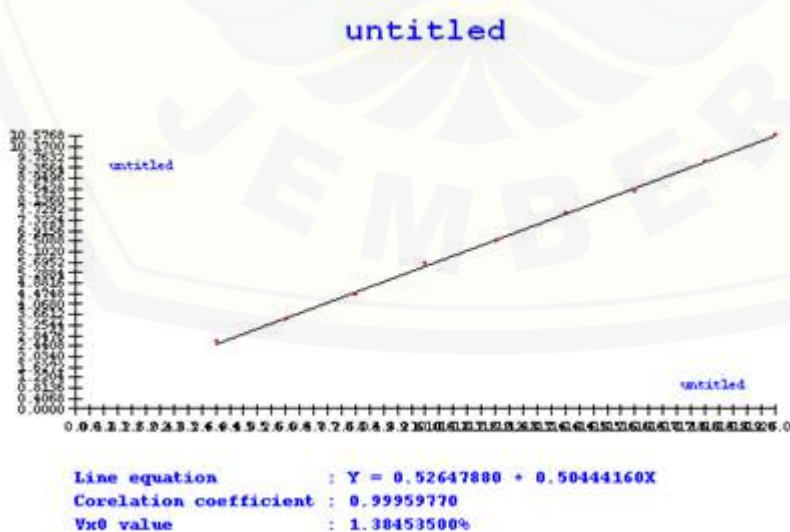
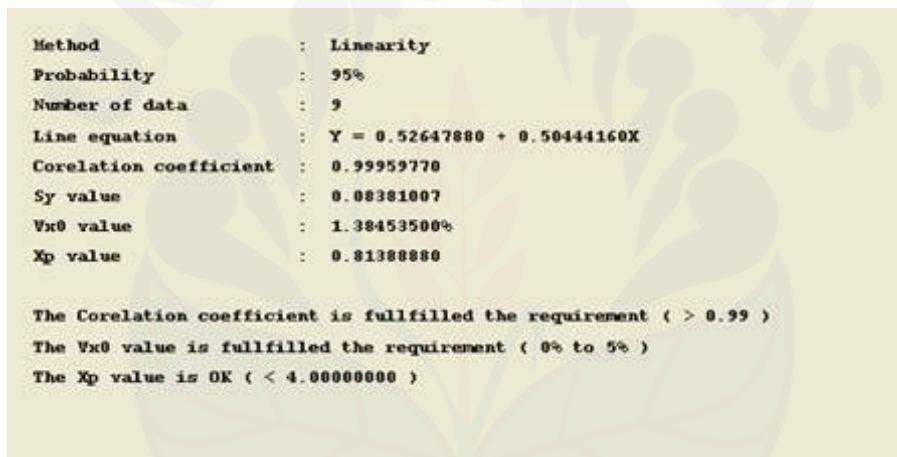
The Correlation coefficient is fulfilled the requirement ( > 0.99 )
The Vx0 value is fulfilled the requirement ( 0% to 5% )
The Xp value is OK ( < 7.00000000 )
    
```



## C.2 Linieritas Standar Protein

Konsentrasi	R1	R2	R3	Mean RGB	$\Delta$ Mean RGB	SD
Blangko	142,321	142,329	142,343	142.331	-	0,011
4 mg/dL	139,888	139,642	139.573	139.701	2,630	0,166
6 mg/dL	138,946	138,886	138,753	138.862	3,469	0,099
8 mg/dL	137,905	137,917	137,726	137.849	4,482	0,107
10 mg/dL	136,774	136,363	136,831	136.656	5,675	0,255
12 mg/dL	135,930	135,478	135,946	135.785	6,546	0,266
14 mg/dL	134,759	134,634	134,670	134.688	7,643	0,064
16 mg/dL	133,935	133,907	133,674	133.839	8,492	0,134
18 mg/dL	132,286	132,952	132,798	132.679	9,652	0,349
20 mg/dL	131,875	131,754	131,476	131.702	10,629	0,205

- Nilai Linieritas dengan Menggunakan Metode Validasi



## LAMPIRAN E. SELEKTIVITAS

## E.1 Selektivitas Standar Kolesterol

Standar : Matriks	R1	R2	R3	R4	Mean Blue	$\Delta$ Mean Blue	SD
Standar kolesterol 35 mg/dL	161,303	161,758	161,992	161,697	161,688	-	0,286
Kolesterol : Asam Urat (1 : 0,3)	161,547	160,675	160,803	161,359	161,096	0,591	0,423
Kolesterol : Asam Urat (1 : 1)	160,930	160,601	160,091	160,063	160,421	1,266	0,420
Kolesterol : Asam Urat (1 : 2)	159,857	159,989	159,536	159,471	159,713	1,974	0,250
Kolesterol : Glukosa (1 : 1)	160,997	160,923	160,746	161,485	161,038	0,650	0,316
Kolesterol : Glukosa (1 : 5)	160,632	160,535	159,514	160,563	160,311	1,376	0,533
Kolesterol : Glukosa (1 : 7)	159,457	159,375	159,838	159,288	159,490	2,198	0,242

$$\% \text{ Interferensi} = \frac{\text{Mean Blue Standar} - \text{Mean Blue Matriks}}{\text{Mean Blue Standar}} \times 100\%$$

Contoh perhitungan:

a) % Interferensi Standar Kolesterol : Asam Urat (1 : 0,3)

$$\begin{aligned} \% \text{ Interferensi} &= \frac{161,688 - 161,096}{161,688} \times 100\% \\ &= 0,366\% \end{aligned}$$



**E.2 Selektivitas Standar Protein**

<b>Standar : Matriks</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>	<b>Mean RGB</b>	<b><math>\Delta</math> Mean RGB</b>	<b>SD</b>
Standar protein 10 mg/dL	144,633	144,416	144,578	144,542	-	0,113
Protein : Asam Urat (1 : 1)	144,442	144,147	144,047	144,212	0,330	0,205
Protein : Asam Urat (1 : 2,5)	143,490	143,943	143,774	143,736	0,807	0,229
Protein : Asam Urat (1 : 6)	142,932	142,557	142,267	142,585	1,957	0,333
Protein : Glukosa (1 : 1)	144,694	144,365	143,556	144,205	0,337	0,586
Protein : Glukosa (1 : 16)	143,714	143,929	143,054	143,566	0,977	0,456
Protein : Glukosa (1 : 20)	142,633	142,068	142,481	142,394	2,148	0,292

$$\% \text{ Interferensi} = \frac{\text{Mean RGB standar} - \text{Mean RGB matriks}}{\text{Mean RGB standar}} \times 100\%$$

Contoh perhitungan:

a) % Interferensi Standar Protein : Asam Urat (1 : 1)

$$\begin{aligned} \% \text{ Interferensi} &= \frac{144,542 - 144,212}{144,542} \times 100\% \\ &= 0,228\% \end{aligned}$$

## LAMPIRAN F. PRESISI

## F.1 Presisi Standar Kolesterol 40 mg/dL

a) Hari ke-1

Replikasi	Mean Blue	$\Delta$ Mean Blue	Kadar (mg/dL)
Blangko	248,562	-	
Replikasi 1	160,108	88,454	40,509
Replikasi 2	160,037	88,525	40,756
Replikasi 3	160,012	88,550	40,842
Replikasi 4	160,225	88,337	40,103
Replikasi 5	160,125	88,437	40,450
Replikasi 6	160,161	88,401	40,325
Rata-rata kadar 40,498 mg/dL			
SD 0,273			
RSD 0,674%			

Contoh perhitungan SD dan RSD uji presisi standar kolesterol 40 mg/dL.

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata kadar} &= \frac{40,509+40,756+40,842+40,103+40,450+40,325}{6} \\ &= 40,498 \text{ mg/dL} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{SD} &= \sqrt{\frac{\sum(x_1 - x \text{ rata-rata})^2}{n-1}} \\ &= \sqrt{\frac{0,011^2 + 0,258^2 + 0,344^2 + 0,395^2 + 0,048^2 + 0,173^2}{5}} \\ &= 0,273 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{RSD} &= \frac{\text{SD}}{x \text{ rata-rata}} \times 100\% \\ &= \frac{0,273}{40,498} \times 100\% \\ &= 0,674\% \end{aligned}$$

b) Hari ke-2

Replikasi	Mean Blue	$\Delta$ Mean Blue	Kadar (mg/dL)
Blangko	248,562	-	
Replikasi 1	160,150	88,412	40,363
Replikasi 2	160,220	88,342	40,121
Replikasi 3	160,142	88,420	40,391
Replikasi 4	160,208	88,354	40,162
Replikasi 5	160,033	88,529	40,769
Replikasi 6	160,117	88,445	40,478
Rata-rata kadar 40,381 mg/dL			
SD 0,235			
RSD 0,582%			

c) Hari ke-3

Replikasi	Mean Blue	$\Delta$ Mean Blue	Kadar (mg/dL)
Blangko	248,562	-	
Replikasi 1	160,156	88,406	40,343
Replikasi 2	160,185	88,377	40,242
Replikasi 3	160,204	88,358	40,176
Replikasi 4	160,606	88,502	40,676
Replikasi 5	160,162	88,400	40,322
Replikasi 6	160,245	88,317	40,034
Rata-rata kadar 40,299 mg/dL			
SD 0,216			
RSD 0,535%			

## F.2 Presisi Standar Protein 11 mg/dL

a) Hari ke-1

Replikasi	Mean RGB	$\Delta$ Mean RGB	Kadar (mg/dL)
Blangko	142,331	-	
Replikasi 1	136,161	6,170	11,188
Replikasi 2	136,153	6,178	11,204
Replikasi 3	136,065	6,266	11,378
Replikasi 4	136,198	6,133	11,114
Replikasi 5	136,145	6,186	11,219
Replikasi 6	136,174	6,157	11,162
Rata-rata kadar 11,211 mg/dL			
SD 0,090			
RSD 0,803%			

Contoh perhitungan SD dan RSD uji presisi standar protein 11 mg/dL

- Rata-rata kadar  $= \frac{11,188+11,204+11,378+11,114+11,219+11,162}{6}$   
 $= 11,211 \text{ mg/dL}$
- SD  $= \sqrt{\frac{\sum(x_1 - x \text{ rata-rata})^2}{n-1}}$   
 $= \sqrt{\frac{0,023^2 + 0,007^2 + 0,167^2 + 0,097^2 + 0,008^2 + 0,049^2}{5}}$   
 $= 0,090$
- RSD  $= \frac{SD}{x \text{ rata-rata}} \times 100\%$   
 $= \frac{0,090}{11,211} \times 100\%$   
 $= 0,803\%$

b) Hari ke-2

Replikasi	Mean RGB	$\Delta$ Mean RGB	Kadar (mg/dL)
Blangko	142,331	-	
Replikasi 1	136,000	6,331	11,507
Replikasi 2	136,156	6,175	11,198
Replikasi 3	136,141	6,190	11,227
Replikasi 4	136,166	6,165	11,172
Replikasi 5	136,078	6,253	11,352
Replikasi 6	136,047	6,284	11,414
Rata-rata kadar 11,313 mg/dL			
SD 0,133			
RSD 1,176%			

c) Hari ke-3

Replikasi	Mean RGB	$\Delta$ Mean RGB	Kadar (mg/dL)
Blangko	142,331	-	
Replikasi 1	136,174	6,157	11,162
Replikasi 2	136,188	6,143	11,134
Replikasi 3	136,193	6,138	11,124
Replikasi 4	136,071	6,260	11,366
Replikasi 5	136,221	6,110	11,069
Replikasi 6	136,169	6,162	11,172
Rata-rata kadar 11,171 mg/dL			
SD 0,102			
RSD 0,913%			

## LAMPIRAN G. AKURASI

### G.1 Akurasi Standar Kolesterol

#### G.1.1 Adisi Standar 30%

Replikasi	Mean Blue	$\Delta$ Mean Blue	Konsentrasi Percobaan	Konsentrasi Teoritis	% recovery	SD
Blangko	248,562	-	-	-	-	0,224
Replikasi 1	156,651	91,911	52,506	52,511	99,990%	0,024
Replikasi 2	156,603	91,959	52,672	52,511	100,307%	
Replikasi 3	156,619	91,943	52,617	52,511	100,202%	
Rata-rata % recovery					100,166%	

Perhitungan:

- Konsentrasi presisi yang digunakan  $40 \text{ mg/dL} = \frac{40 \text{ mg}}{100 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 400 \text{ mg/L}$  (40 mg/dL)
- Rata-rata hasil presisi selama 3 hari  $= \frac{40,498 + 40,381 + 40,299}{3} = \frac{121,178}{3} = 40,393 \text{ mg/dL}$
- Rata-rata hasil presisi  $40,393 \text{ mg/dL} = \frac{40,393 \text{ mg}}{100 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 403,93 \text{ mg/L}$  (40,393 mg/dL)
- Adisi 30%  $\rightarrow 40,393 \text{ mg/dL} \times 0,3 = 12,118 \text{ mg/dL}$
- Penimbangan  $12,1179 \text{ mg/dL} = \frac{12,118 \text{ mg}}{100 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 121,18 \text{ mg/L}$  (12,118 mg/dL)
- Ditimbang  $40 \text{ mg} + 12,118 \text{ mg} = 52,118 \text{ mg}$
- Teoritis  $= 40,393 \text{ mg/dL} + 12,118 \text{ mg/dL} = 52,511 \text{ mg/dL}$

Perhitungan % recovery:

$$\% \text{ Recovery} = \frac{\text{Konsentrasi Percobaan}}{\text{Konsentrasi Teoritis}} \times 100\%$$

Contoh perhitungan % recovery replikasi 1:

a) Replikasi 1

$$\begin{aligned} \% \text{ Recovery} &= \frac{52,506}{52,511} \times 100\% \\ &= 99,990\% \end{aligned}$$

## G.1.2 Adisi Standar 45%

Replikasi	Mean Blue	$\Delta$ Mean Blue	Konsentrasi Percobaan	Konsentrasi Teoritis	% <i>recovery</i>	SD
Blangko	248,562	-	-	-	-	0,224
Replikasi 1	154,921	93,641	58,509	58,570	99,896%	0,017
Replikasi 2	154,897	93,665	58,593	58,570	100,039%	
Replikasi 3	154,929	93,633	58,481	58,570	99,848%	
Rata-rata % <i>recovery</i>					99,928%	

Perhitungan:

- Konsentrasi presisi yang digunakan  $40 \text{ mg/dL} = \frac{40 \text{ mg}}{100 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 400 \text{ mg/L}$  (40 mg/dL)
- Rata-rata hasil presisi selama 3 hari  $= \frac{40,498 + 40,381 + 40,299}{3} = \frac{121,178}{3} = 40,393 \text{ mg/dL}$
- Rata-rata hasil presisi  $40,393 \text{ mg/dL} = \frac{40,393 \text{ mg}}{100 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 403,93 \text{ mg/L}$  (40,393 mg/dL)
- Adisi 45%  $\rightarrow 40,393 \text{ mg/dL} \times 0,45 = 18,177 \text{ mg/dL}$
- Penimbangan  $18,177 \text{ mg/dL} = \frac{18,177 \text{ mg}}{100 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 181,77 \text{ mg/L}$  (18,177 mg/dL)
- Ditimbang  $40 \text{ mg} + 18,177 \text{ mg} = 58,177 \text{ mg}$
- Teoritis  $= 40,393 \text{ mg/dL} + 18,177 \text{ mg/dL} = 58,570 \text{ mg/dL}$

## G.1.3 Adisi Standar 60%

Replikasi	Mean Blue	$\Delta$ Mean Blue	Konsentrasi Percobaan	Konsentrasi Teoritis	% <i>recovery</i>	SD
Blangko	248,562	-	-	-	-	0,224
Replikasi 1	153,175	95,387	64,568	64,629	99,906%	0,032
Replikasi 2	153,111	95,451	64,790	64,629	100,249%	
Replikasi 3	153,151	95,411	64,652	64,629	100,036%	
Rata-rata % <i>recovery</i>					100,064%	

Perhitungan:

- Konsentrasi presisi yang digunakan  $40 \text{ mg/dL} = \frac{40 \text{ mg}}{100 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 400 \text{ mg/L}$  (40 mg/dL)

- Rata-rata hasil presisi selama 3 hari =  $\frac{40,498 + 40,381 + 40,299}{3} = \frac{121,178}{3} = 40,393$  mg/dL
- Rata-rata hasil presisi 40,393 mg/dL =  $\frac{40,393 \text{ mg}}{100 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 403,93 \text{ mg/L}$  (40,393 mg/dL)
- Adisi 60%  $\rightarrow 40,393 \text{ mg/dL} \times 0,6 = 24,236 \text{ mg/dL}$
- Penimbangan 24,236 mg/dL =  $\frac{24,236 \text{ mg}}{100 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 242,36 \text{ mg/L}$  (24,236 mg/dL)
- Ditimbang 40 mg + 24,236 mg = 64,236 mg
- Teoritis = 40,393 mg/dL + 24,236 mg/dL = 64,629 mg/dL

## G.2 Akurasi Standar Protein

### G.2.1. Adisi Standar 30%

Replikasi	Mean RGB	$\Delta$ Mean RGB	Konsentrasi Percobaan	Konsentrasi Teoritis	% recovery	SD
Blangko	142,331	-	-	-	-	0,011
Replikasi 1	134,479	7,852	14,522	14,602	99,452%	0,030
Replikasi 2	134,419	7,912	14,641	14,602	100,267%	
Replikasi 3	134,453	7,878	14,574	14,602	99,808%	
Rata-rata % recovery					99,842%	

Perhitungan:

- Konsentrasi presisi yang digunakan 11 mg/dL =  $\frac{11 \text{ mg}}{100 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 110$  mg/L (11 mg/dL)
- Rata-rata hasil presisi selama 3 hari =  $\frac{11,211 + 11,313 + 11,171}{3} = \frac{33,695}{3} = 11,232$  mg/dL
- Rata-rata hasil presisi 11,232 mg/dL =  $\frac{11,232 \text{ mg}}{100 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 112,32 \text{ mg/L}$  (11,232 mg/dL)
- Adisi 30%  $\rightarrow 11,232 \text{ mg/dL} \times 0,3 = 3,370 \text{ mg/dL}$
- Penimbangan 3,370 mg/dL =  $\frac{3,370 \text{ mg}}{100 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 33,70 \text{ mg/L}$  (3,370 mg/dL)
- Ditimbang 11 mg + 3,370 mg = 14,370 mg

- Teoritis = 11,232 mg/dL + 3,370 mg/dL = 14,602 mg/dL

Perhitungan % *recovery*:

$$\% \text{ Recovery} = \frac{\text{Konsentrasi Percobaan}}{\text{Konsentrasi Teoritis}} \times 100\%$$

Contoh perhitungan % *recovery* replikasi 1:

a) Replikasi 1

$$\begin{aligned} \% \text{ Recovery} &= \frac{14,522}{14,602} \times 100\% \\ &= 99,452\% \end{aligned}$$

#### G.2.2. Adisi Standar 45%

Replikasi	Mean RGB	$\Delta$ mean RGB	Konsentrasi Percobaan	Konsentrasi Teoritis	% <i>recovery</i>	SD
Blangko	142,331	-	-	-	-	0,011
Replikasi 1	133,591	8,740	16,282	16,286	99,975%	0,033
Replikasi 2	133,639	8,692	16,187	16,286	99,392%	
Replikasi 3	133,575	8,756	16,314	16,286	100,172%	
Rata-rata % <i>recovery</i>					99,846%	

Perhitungan:

- Konsentrasi presisi yang digunakan 11 mg/dL =  $\frac{11 \text{ mg}}{100 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 110 \text{ mg/L}$  (11 mg/dL)
- Rata-rata hasil presisi selama 3 hari =  $\frac{11,211 + 11,313 + 11,171}{3} = \frac{33,695}{3} = 11,232 \text{ mg/dL}$
- Rata-rata hasil presisi 11,232 mg/dL =  $\frac{11,232 \text{ mg}}{100 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 112,32 \text{ mg/L}$  (11,232 mg/dL)
- Adisi 45%  $\rightarrow 11,232 \text{ mg/dL} \times 0,45 = 5,054 \text{ mg/dL}$
- Penimbangan 5,054 mg/dL =  $\frac{5,054 \text{ mg}}{100 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 50,54 \text{ mg/L}$  (5,054 mg/dL)
- Ditimbang 11 mg + 5,054 mg = 16,054 mg
- Teoritis = 11,232 mg/dL + 5,054 mg/dL = 16,286 mg/dL



## G.2.3. Adisi Standar 60%

Replikasi	Mean RGB	$\Delta$ mean RGB	Konsentrasi Percobaan	Konsentrasi Teoritis	% recovery	SD
Blangko	142,331	-	-	-	-	0,011
Replikasi 1	132,797	9,534	17,856	17,972	99,355%	0,042
Replikasi 2	132,802	9,529	17,847	17,972	99,304%	
Replikasi 3	132,727	9,604	17,995	17,972	100,128%	
Rata-rata % recovery					99,596%	

Perhitungan:

- Konsentrasi presisi yang digunakan  $11 \text{ mg/dL} = \frac{11 \text{ mg}}{100 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 110 \text{ mg/L}$  (11 mg/dL)
- Rata-rata hasil presisi selama 3 hari  $= \frac{11,211 + 11,313 + 11,171}{3} = \frac{33,695}{3} = 11,232 \text{ mg/dL}$
- Rata-rata hasil presisi  $11,232 \text{ mg/dL} = \frac{11,232 \text{ mg}}{100 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 112,32 \text{ mg/L}$  (11,232 mg/dL)
- Adisi 60%  $\rightarrow 11,232 \text{ mg/dL} \times 0,6 = 6,740 \text{ mg/dL}$
- Penimbangan  $6,740 \text{ mg/dL} = \frac{6,740 \text{ mg}}{100 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 67,40 \text{ mg/L}$  (6,740 mg/dL)
- Ditimbang  $11 \text{ mg} + 6,740 \text{ mg} = 17,74 \text{ mg}$
- Teoritis  $= 11,232 \text{ mg/dL} + 6,740 \text{ mg/dL} = 17,972 \text{ mg/dL}$

**LAMPIRAN H. HASIL PRESISI URIN SIMULASI****H.1. Presisi Urin Simulasi 1****H.1.1 Presisi Urin Simulasi Standar Kolesterol 22 mg/dL**

a) Hari ke-1

<b>Replikasi</b>	<b>Mean Blue</b>	<b><math>\Delta</math> Mean Blue</b>	<b>Kadar (mg/dL)</b>
Blangko	248,562	-	
Replikasi 1	165,254	83,308	22,651
Replikasi 2	165,167	83,395	22,953
Replikasi 3	165,244	83,318	22,686
Replikasi 4	165,206	83,356	22,818
Replikasi 5	165,277	83,285	22,572
Replikasi 6	165,235	83,327	22,717
Rata-rata kadar 22,733 mg/dL			
SD 0,135			
RSD 0,594%			

Contoh perhitungan SD dan RSD uji presisi urin simulasi standar kolesterol 22 mg/dL:

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata kadar} &= \frac{22,651+22,953+22,686+22,818+22,572+22,717}{6} \\ &= 22,733 \text{ mg/dL} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{SD} &= \sqrt{\frac{\sum(x_1 - x_{\text{rata-rata}})^2}{n-1}} \\ &= \sqrt{\frac{0,082^2 + 0,22^2 + 0,047^2 + 0,085^2 + 0,161^2 + 0,016^2}{5}} \\ &= 0,135 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{RSD} &= \frac{\text{SD}}{x_{\text{rata-rata}}} \times 100\% \\ &= \frac{0,135}{22,733} \times 100\% \\ &= 0,594\% \end{aligned}$$

b) Hari ke-2

<b>Replikasi</b>	<b>Mean Blue</b>	<b><math>\Delta</math> Mean Blue</b>	<b>Kadar (mg/dL)</b>
Blangko	248,562	-	
Replikasi 1	165,222	83,340	22,763
Replikasi 2	165,214	83,348	22,790
Replikasi 3	165,395	83,167	22,162
Replikasi 4	165,267	83,295	22,606
Replikasi 5	165,251	83,311	22,662
Replikasi 6	165,332	83,230	22,381
Rata-rata kadar 22,561 mg/dL			
SD 0,244			
RSD 1,082%			

c) Hari ke-3

<b>Replikasi</b>	<b>Mean Blue</b>	<b><math>\Delta</math> Mean Blue</b>	<b>Kadar (mg/dL)</b>
Blangko	248,562	-	
Replikasi 1	165,231	83,331	22,731
Replikasi 2	165,216	83,346	22,783
Replikasi 3	165,379	83,183	22,218
Replikasi 4	165,255	83,307	22,648
Replikasi 5	165,212	83,350	22,797
Replikasi 6	165,391	83,171	22,176
Rata-rata kadar 22,559 mg/dL			
SD 0,285			
RSD 1,263%			

H.1.2 Presisi Urin Simulasi Standar Protein 8 mg/dL

a) Hari ke-1

<b>Replikasi</b>	<b>Mean RGB</b>	<b><math>\Delta</math> Mean RGB</b>	<b>Kadar (mg/dL)</b>
Blangko	142,331	-	
Replikasi 1	137,620	4,711	8,295
Replikasi 2	137,428	4,903	8,676
Replikasi 3	137,472	4,859	8,589
Replikasi 4	137,760	4,571	8,018
Replikasi 5	137,659	4,672	8,218
Replikasi 6	137,550	4,781	8,434
Rata-rata kadar 8,372 mg/dL			
SD 0,244			
RSD 2,914%			

Contoh perhitungan SD dan RSD uji presisi urin simulasi standar protein 8 mg/dL:

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata kadar} &= \frac{8,295+8,676+8,589+8,018+8,218+8,434}{6} \\ &= 8,372 \text{ mg/dL} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{SD} &= \sqrt{\frac{\sum(x_1 - x \text{ rata-rata})^2}{n-1}} \\ &= \sqrt{\frac{0,077^2 + 0,304^2 + 0,217^2 + 0,354^2 + 0,154^2 + 0,062^2}{5}} \\ &= 0,244 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{RSD} &= \frac{\text{SD}}{x \text{ rata-rata}} \times 100\% \\ &= \frac{0,244}{8,372} \times 100\% \\ &= 2,914\% \end{aligned}$$

b) Hari ke-2

Replikasi	Mean RGB	$\Delta$ Mean RGB	Kadar (mg/dL)
Blangko	142,331	-	
Replikasi 1	137,587	4,744	8,361
Replikasi 2	137,578	4,753	8,379
Replikasi 3	137,656	4,675	8,224
Replikasi 4	137,568	4,763	8,398
Replikasi 5	137,594	4,737	8,347
Replikasi 6	137,411	4,920	8,710
Rata-rata kadar 8,403 mg/dL			
SD 0,162			
RSD 1,928%			

c) Hari ke-3

Replikasi	Mean RGB	$\Delta$ Mean RGB	Kadar (mg/dL)
Blangko	142,331	-	
Replikasi 1	137,530	4,801	8,474
Replikasi 2	137,483	4,848	8,567
Replikasi 3	137,500	4,831	8,533
Replikasi 4	137,674	4,657	8,188
Replikasi 5	137,602	4,729	8,331
Replikasi 6	137,619	4,712	8,297
Rata-rata kadar 8,398 mg/dL			
SD 0,149			
RSD 1,774%			

## H.2. Presisi Urin Simulasi 2

### H.2.1 Presisi Urin Simulasi Standar Kolesterol 30 mg/dL

a) Hari ke-1

Replikasi	Mean Blue	$\Delta$ Mean Blue	Kadar (mg/dL)
Blangko	248,562	-	
Replikasi 1	162,968	85,594	30,584
Replikasi 2	162,960	85,602	30,612
Replikasi 3	162,924	85,638	30,737
Replikasi 4	162,931	85,631	30,713
Replikasi 5	162,965	85,597	30,595
Replikasi 6	162,941	85,621	22,678
Rata-rata kadar 30,653 mg/dL			
SD 0,065			
RSD 0,212%			

Contoh perhitungan SD dan RSD uji presisi urin simulasi standar kolesterol 30 mg/dL:

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata kadar} &= \frac{30,584+30,612+30,737+30,713+30,595+30,678}{6} \\ &= 30,653 \text{ mg/dL} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{SD} &= \sqrt{\frac{\sum(x_1 - x \text{ rata-rata})^2}{n-1}} \\ &= \sqrt{\frac{0,069^2 + 0,041^2 + 0,084^2 + 0,06^2 + 0,058^2 + 0,025^2}{5}} \\ &= 0,065 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{RSD} &= \frac{\text{SD}}{x \text{ rata-rata}} \times 100\% \\ &= \frac{0,065}{30,653} \times 100\% \\ &= 0,212\% \end{aligned}$$

## b) Hari ke-2

<b>Replikasi</b>	<b>Mean Blue</b>	<b><math>\Delta</math> Mean Blue</b>	<b>Kadar (mg/dL)</b>
Blangko	248,562	-	
Replikasi 1	162,932	85,630	30,709
Replikasi 2	162,901	85,661	30,817
Replikasi 3	162,922	85,640	30,744
Replikasi 4	162,854	85,708	30,980
Replikasi 5	163,005	85,557	30,456
Replikasi 6	162,896	85,666	30,834
Rata-rata kadar 30,757 mg/dL			
SD 0,175			
RSD 0,569%			

## c) Hari ke-3

<b>Replikasi</b>	<b>Mean Blue</b>	<b><math>\Delta</math> Mean Blue</b>	<b>Kadar (mg/dL)</b>
Blangko	248,562	-	
Replikasi 1	163,000	85,562	30,473
Replikasi 2	162,938	85,624	30,688
Replikasi 3	162,862	85,700	30,952
Replikasi 4	163,009	85,553	30,442
Replikasi 5	162,973	85,589	30,567
Replikasi 6	162,888	85,674	30,862
Rata-rata kadar 30,664 mg/dL			
SD 0,209			
RSD 0,682%			

## H.2.2 Presisi Urin Simulasi Standar Protein 9 mg/dL

## a) Hari ke-1

<b>Replikasi</b>	<b>Mean RGB</b>	<b><math>\Delta</math> Mean RGB</b>	<b>Kadar (mg/dL)</b>
Blangko	142,331	-	
Replikasi 1	137,125	5,206	9,277
Replikasi 2	137,260	5,071	9,009
Replikasi 3	137,164	5,164	9,193
Replikasi 4	137,116	5,215	9,294
Replikasi 5	137,118	5,213	9,291
Replikasi 6	137,188	5,143	9,152
Rata-rata kadar 9,203 mg/dL			
SD 0,111			
RSD 1,206%			

Contoh perhitungan SD dan RSD uji presisi urin simulasi standar protein 9 mg/dL:

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata kadar} &= \frac{9,277+9,009+9,193+9,294+9,291+9,152}{6} \\ &= 9,203 \text{ mg/dL} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{SD} &= \sqrt{\frac{\sum(x_1 - x \text{ rata-rata})^2}{n-1}} \\ &= \sqrt{\frac{0,074^2 + 0,194^2 + 0,01^2 + 0,091^2 + 0,088^2 + 0,051^2}{5}} \\ &= 0,111 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{RSD} &= \frac{\text{SD}}{x \text{ rata-rata}} \times 100\% \\ &= \frac{0,111}{9,203} \times 100\% \\ &= 1,206\% \end{aligned}$$

b) Hari ke-2

Replikasi	Mean RGB	$\Delta$ Mean RGB	Kadar (mg/dL)
Blangko	142,331	-	
Replikasi 1	137,145	5,186	9,237
Replikasi 2	137,037	5,294	9,451
Replikasi 3	137,112	5,219	9,302
Replikasi 4	137,262	5,069	9,005
Replikasi 5	137,224	5,107	9,080
Replikasi 6	137,210	5,121	9,108
Rata-rata kadar 9,197 mg/dL			
SD 0,165			
RSD 1,794%			

c) Hari ke-3

Replikasi	Mean RGB	$\Delta$ Mean RGB	Kadar (mg/dL)
Blangko	142,331	-	
Replikasi 1	137,221	5,110	9,086
Replikasi 2	137,168	5,163	9,191
Replikasi 3	137,178	5,153	9,172
Replikasi 4	137,120	5,211	9,287
Replikasi 5	137,231	5,100	9,067
Replikasi 6	137,087	5,244	9,352
Rata-rata kadar 9,193 mg/dL			
SD 0,111			
RSD 1,207%			

### H.3. Presisi Urin Simulasi 3

#### H.3.1 Presisi Urin Simulasi Standar Kolesterol 37 mg/dL

a) Hari ke-1

Replikasi	Mean Blue	$\Delta$ Mean Blue	Kadar (mg/dL)
Blangko	248,562	-	
Replikasi 1	160,882	87,680	37,823
Replikasi 2	160,971	87,591	37,514
Replikasi 3	161,059	87,503	37,209
Replikasi 4	160,854	87,708	37,920
Replikasi 5	161,088	87,474	37,108
Replikasi 6	160,912	87,650	37,719
Rata-rata kadar 37,549 mg/dL			
SD 0,333			
RSD 0,887%			

Contoh perhitungan SD dan RSD uji presisi urin simulasi standar kolesterol 37 mg/dL:

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata kadar} &= \frac{37,823+37,514+37,209+37,920+37,108+37,719}{6} \\ &= 37,549 \text{ mg/dL} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{SD} &= \sqrt{\frac{\sum(x_1 - x \text{ rata-rata})^2}{n-1}} \\ &= \sqrt{\frac{0,274^2 + 0,035^2 + 0,34^2 + 0,371^2 + 0,441^2 + 0,17^2}{5}} \\ &= 0,333 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{RSD} &= \frac{\text{SD}}{x \text{ rata-rata}} \times 100\% \\ &= \frac{0,333}{37,549} \times 100\% \\ &= 0,887\% \end{aligned}$$



## b) Hari ke-2

<b>Replikasi</b>	<b>Mean Blue</b>	<b><math>\Delta</math> Mean Blue</b>	<b>Kadar (mg/dL)</b>
Blangko	248,562	-	
Replikasi 1	160,992	87,570	37,442
Replikasi 2	161,089	87,473	37,105
Replikasi 3	161,048	87,514	37,247
Replikasi 4	160,984	87,578	37,469
Replikasi 5	160,887	87,675	37,806
Replikasi 6	160,863	87,699	37,889
Rata-rata kadar 37,493 mg/dL			
SD 0,306			
RSD 0,816%			

## c) Hari ke-3

<b>Replikasi</b>	<b>Mean Blue</b>	<b><math>\Delta</math> Mean Blue</b>	<b>Kadar (mg/dL)</b>
Blangko	248,562	-	
Replikasi 1	161,000	87,562	37,414
Replikasi 2	161,087	87,475	37,112
Replikasi 3	161,081	87,481	37,133
Replikasi 4	160,968	87,594	37,525
Replikasi 5	160,960	87,602	37,553
Replikasi 6	160,911	87,651	37,723
Rata-rata kadar 37,410 mg/dL			
SD 0,244			
RSD 0,652%			

## H.3.2 Presisi Urin Simulasi Standar Protein 10 mg/dL

## a) Hari ke-1

<b>Replikasi</b>	<b>Mean RGB</b>	<b><math>\Delta</math> Mean RGB</b>	<b>Kadar (mg/dL)</b>
Blangko	142,331	-	
Replikasi 1	136,733	5,598	10,054
Replikasi 2	136,515	5,816	10,486
Replikasi 3	136,692	5,639	10,135
Replikasi 4	136,584	5,747	10,349
Replikasi 5	136,686	5,645	10,147
Replikasi 6	136,654	5,677	10,254
Rata-rata kadar 10,238 mg/dL			
SD 0,159			
RSD 1,553%			

Contoh perhitungan SD dan RSD uji presisi urin simulasi standar protein 10 mg/dL:

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata kadar} &= \frac{10,054+10,486+10,135+10,349+10,147+10,254}{6} \\ &= 10,238 \text{ mg/dL} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{SD} &= \sqrt{\frac{\sum(x_1 - x \text{ rata-rata})^2}{n-1}} \\ &= \sqrt{\frac{0,184^2 + 0,248^2 + 0,103^2 + 0,111^2 + 0,091^2 + 0,016^2}{5}} \\ &= 0,159 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{RSD} &= \frac{\text{SD}}{x \text{ rata-rata}} \times 100\% \\ &= \frac{0,159}{10,238} \times 100\% \\ &= 1,553\% \end{aligned}$$

b) Hari ke-2

Replikasi	Mean RGB	$\Delta$ Mean RGB	Kadar (mg/dL)
Blangko	142,331	-	
Replikasi 1	136,625	5,706	10,268
Replikasi 2	136,680	5,651	10,159
Replikasi 3	136,593	5,738	10,331
Replikasi 4	136,706	5,625	10,107
Replikasi 5	136,538	5,793	10,440
Replikasi 6	136,695	5,636	10,129
Rata-rata kadar 10,239 mg/dL			
SD 0,131			
RSD 1,279%			

c) Hari ke-3

Replikasi	Mean RGB	$\Delta$ Mean RGB	Kadar (mg/dL)
Blangko	142,331	-	
Replikasi 1	136,556	5,775	10,405
Replikasi 2	136,597	5,734	10,323
Replikasi 3	136,629	5,702	10,260
Replikasi 4	136,613	5,718	10,292
Replikasi 5	136,694	5,637	10,131
Replikasi 6	136,653	5,678	10,212
Rata-rata kadar 10,271 mg/dL			
SD 0,094			
RSD 0,915%			

#### H.4. Presisi Urin Simulasi 4

##### H.4.1. Presisi Urin Simulasi Standar Kolesterol 41 mg/dL

a) Hari ke-1

Replikasi	Mean Blue	$\Delta$ Mean Blue	Kadar (mg/dL)
Blangko	248,562	-	
Replikasi 1	159,798	88,764	41,585
Replikasi 2	159,809	88,753	41,547
Replikasi 3	159,775	88,787	41,665
Replikasi 4	159,865	88,679	41,352
Replikasi 5	159,910	88,652	41,196
Replikasi 6	159,889	88,673	41,269
Rata-rata kadar 41,436 mg/dL			
SD 0,189			
RSD 0,456%			

Contoh perhitungan SD dan RSD uji presisi urin simulasi standar kolesterol 41 mg/dL:

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata kadar} &= \frac{41,585+41,547+41,665+41,352+41,196+41,269}{6} \\ &= 41,436 \text{ mg/dL} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{SD} &= \sqrt{\frac{\sum(x_1 - x \text{ rata-rata})^2}{n-1}} \\ &= \sqrt{\frac{0,149^2 + 0,111^2 + 0,229^2 + 0,084^2 + 0,24^2 + 0,167^2}{5}} \\ &= 0,189 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{RSD} &= \frac{\text{SD}}{x \text{ rata-rata}} \times 100\% \\ &= \frac{0,189}{41,436} \times 100\% \\ &= 0,456\% \end{aligned}$$

b) Hari ke-2

<b>Replikasi</b>	<b>Mean Blue</b>	<b><math>\Delta</math> Mean Blue</b>	<b>Kadar (mg/dL)</b>
Blangko	248,562	-	
Replikasi 1	159,885	88,677	41,283
Replikasi 2	159,770	88,792	41,682
Replikasi 3	159,750	88,812	41,752
Replikasi 4	159,797	88,765	41,588
Replikasi 5	159,858	88,704	41,377
Replikasi 6	159,804	88,758	41,564
Rata-rata kadar 41,541 mg/dL			
SD 0,164			
RSD 0,395%			

c) Hari ke-3

<b>Replikasi</b>	<b>Mean Blue</b>	<b><math>\Delta</math> Mean Blue</b>	<b>Kadar (mg/dL)</b>
Blangko	248,562	-	
Replikasi 1	159,808	88,754	41,550
Replikasi 2	159,851	88,711	41,401
Replikasi 3	159,848	88,714	41,411
Replikasi 4	159,779	88,783	41,651
Replikasi 5	159,819	88,743	41,512
Replikasi 6	159,786	88,776	41,627
Rata-rata kadar 41,525 mg/dL			
SD 0,105			
RSD 0,253%			

## H.4.2. Presisi Urin Simulasi Standar Protein 11 mg/dL

a) Hari ke-1

<b>Replikasi</b>	<b>Mean RGB</b>	<b><math>\Delta</math> Mean RGB</b>	<b>Kadar (mg/dL)</b>
Blangko	142,331	-	
Replikasi 1	136,199	6,132	11,112
Replikasi 2	136,023	6,308	11,461
Replikasi 3	136,193	6,138	11,124
Replikasi 4	136,188	6,143	11,134
Replikasi 5	136,205	6,126	11,100
Replikasi 6	136,085	6,246	11,338
Rata-rata kadar 11,212 mg/dL			
SD 0,151			
RSD 1,347%			

Contoh perhitungan SD dan RSD uji presisi urin simulasi standar protein 11 mg/dL:

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata kadar} &= \frac{11,112+11,461+11,124+11,134+11,100+11,338}{6} \\ &= 11,212 \text{ mg/dL} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{SD} &= \sqrt{\frac{\sum(x_1 - x_{\text{rata-rata}})^2}{n-1}} \\ &= \sqrt{\frac{0,100^2 + 0,249^2 + 0,088^2 + 0,078^2 + 0,112^2 + 0,126^2}{5}} \\ &= 0,151 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{RSD} &= \frac{\text{SD}}{x_{\text{rata-rata}}} \times 100\% \\ &= \frac{0,151}{11,212} \times 100\% \\ &= 1,347\% \end{aligned}$$

b) Hari ke-2

Replikasi	Mean RGB	$\Delta$ Mean RGB	Kadar (mg/dL)
Blangko	142,331	-	
Replikasi 1	136,006	6,325	11,495
Replikasi 2	136,017	6,314	11,473
Replikasi 3	136,068	6,263	11,372
Replikasi 4	136,102	6,229	11,305
Replikasi 5	136,182	6,149	11,146
Replikasi 6	136,051	6,280	11,406
Rata-rata kadar 11,366 mg/dL			
SD 0,128			
RSD 1,126%			

c) Hari ke-3

Replikasi	Mean RGB	$\Delta$ Mean RGB	Kadar (mg/dL)
Blangko	142,331	-	
Replikasi 1	136,000	6,331	11,507
Replikasi 2	136,148	6,183	11,213
Replikasi 3	136,114	6,217	11,281
Replikasi 4	136,142	6,189	11,225
Replikasi 5	136,011	6,320	11,485
Replikasi 6	136,176	6,155	11,158
Rata-rata kadar 11,312 mg/dL			
SD 0,148			
RSD 1,308%			

## LAMPIRAN I. HASIL AKURASI URIN SIMULASI

### I.1 Akurasi Urin Simulasi 1

#### I.1.1. Akurasi Urin Simulasi Standar Kolesterol 22 mg/dL

##### A. Adisi 30%

Replikasi	Mean Blue	$\Delta$ mean Blue	Konsentrasi Percobaan	Konsentrasi Teoritis	% recovery	SD
Blangko	248,562	-	-	-	-	0,224
Replikasi 1	162,974	85,588	30,564	30,472	100,302%	0,009
Replikasi 2	162,990	85,572	30,508	30,472	100,118%	
Replikasi 3	162,989	85,573	30,512	30,472	100,131%	
Rata-rata % recovery					100,184%	

Perhitungan:

- Rata-rata hasil presisi selama 3 hari  $\rightarrow \frac{22,733 + 22,561 + 22,559}{3} = 22,618 \text{ mg/dL}$
- Rata-rata hasil presisi 22,618 mg/dL  $\rightarrow \frac{2,2618 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 226,18 \text{ mg/L}$   
(22,618 mg/dL)
- Dibuat dalam 10 mL  $\rightarrow 226,18 \text{ mg/dL} = \frac{x}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ml/L}$   
 $= 2,2618 \text{ mg}$   
 $= 0,002618 \text{ gram}$
- %b/v =  $\frac{0,002618 \text{ gram}}{10 \text{ mL}} = \frac{0,02618 \text{ gram}}{100 \text{ mL}}$
- Adisi 30% =  $\frac{10 \text{ mL} \times 0,02618 \text{ gram} \times 0,3}{100}$   
 $= 0,0007854 \text{ gram}$   
 $= 0,7854 \text{ mg}$
- Teoritis  $\rightarrow 2,2618 \text{ mg} + 0,7854 \text{ mg} = 3,0472 \text{ mg}$   
 $\frac{3,0472 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 304,72 \text{ mg/L} (30,472 \text{ mg/dL})$

Perhitungan % recovery:

$$\% \text{ Recovery} = \frac{\text{Konsentrasi Percobaan}}{\text{Konsentrasi Teoritis}} \times 100\%$$

Contoh perhitungan % *recovery* replikasi 1:

a) Replikasi 1

$$\begin{aligned} \% \text{ Recovery} &= \frac{30,564}{30,472} \times 100\% \\ &= 100,302\% \end{aligned}$$

B. Adisi 45%

Replikasi	Mean Blue	$\Delta$ mean Blue	Konsentrasi Percobaan	Konsentrasi Teoritis	% <i>recovery</i>	SD
Blangko	248,562	-	-	-	-	0,224
Replikasi 1	161,874	86,688	34,381	34,399	99,948%	0,016
Replikasi 2	161,865	86,697	34,412	34,399	100,038%	
Replikasi 3	161,896	86,666	34,304	34,399	99,724%	
Rata-rata % <i>recovery</i>					99,903%	

Perhitungan:

- Rata-rata hasil presisi selama 3 hari  $\rightarrow \frac{22,733 + 22,561 + 22,559}{3} = 22,618 \text{ mg/dL}$
- Rata-rata hasil presisi 22,618 mg/dL  $\rightarrow \frac{2,2618 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 226,18 \text{ mg/L}$   
(22,618 mg/dL)
- Dibuat dalam 10 mL  $\rightarrow 226,18 \text{ mg/dL} = \frac{x}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ml/L}$   
 $= 2,2618 \text{ mg}$   
 $= 0,002618 \text{ gram}$
- % b/v =  $\frac{0,002618 \text{ gram}}{10 \text{ mL}} = \frac{0,02618 \text{ gram}}{100 \text{ mL}}$
- Adisi 45% =  $\frac{10 \text{ mL} \times 0,02618 \text{ gram} \times 0,45}{100}$   
 $= 0,0011781 \text{ gram}$   
 $= 1,1781 \text{ mg}$
- Teoritis  $\rightarrow 2,2618 \text{ mg} + 1,1781 \text{ mg} = 3,4399 \text{ mg}$   
 $\frac{3,4399 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 343,99 \text{ mg/L}$  (34,399 mg/dL)

## C. Adisi 60%

Replikasi	Mean Blue	$\Delta$ mean Blue	Konsentrasi Percobaan	Konsentrasi Teoritis	% recovery	SD
Blangko	248,562	-	-	-	-	0,224
Replikasi 1	160,302	88,260	39,836	39,897	99,847%	0,010
Replikasi 2	160,312	88,250	39,801	39,897	99,760%	
Replikasi 3	160,292	88,270	39,871	39,897	99,935%	
Rata-rata % recovery					99,747%	

Perhitungan:

- Rata-rata hasil presisi selama 3 hari  $\rightarrow \frac{22,733 + 22,561 + 22,559}{3} = 22,618 \text{ mg/dL}$
- Rata-rata hasil presisi 22,618 mg/dL  $\rightarrow \frac{2,2618 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 226,18 \text{ mg/L}$   
(22,618 mg/dL)
- Dibuat dalam 10 mL  $\rightarrow 226,18 \text{ mg/dL} = \frac{x}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ml/L}$   
 $= 2,2618 \text{ mg}$   
 $= 0,002618 \text{ gram}$
- %b/v =  $\frac{0,002618 \text{ gram}}{10 \text{ mL}} = \frac{0,02618 \text{ gram}}{100 \text{ mL}}$
- Adisi 60% =  $\frac{10 \text{ mL} \times 0,02618 \text{ gram} \times 0,6}{100}$   
 $= 0,00172788 \text{ gram}$   
 $= 1,72788 \text{ mg}$
- Teoritis  $\rightarrow 2,2618 \text{ mg} + 1,72788 \text{ mg} = 3,98968 \text{ mg}$   
 $\frac{3,98968 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 398,97 \text{ mg/L} (39,897 \text{ mg/dL})$

## I.1.2. Akurasi Urin Simulasi Standar Protein 8 mg/dL

## A. Adisi Standar 30%

Replikasi	Mean RGB	$\Delta$ mean RGB	Konsentrasi Percobaan	Konsentrasi Teoritis	% recovery	SD
Blangko	142,331	-	-	-	-	0,011
Replikasi 1	136,278	6,053	10,956	17,972	100,440%	0,028
Replikasi 2	136,322	6,009	10,868	17,972	99,633%	
Replikasi 3	136,270	6,061	10,972	17,972	100,587%	
Rata-rata % recovery					100,220%	



Perhitungan:

- Rata-rata hasil presisi selama 3 hari  $\rightarrow \frac{8,372 + 8,403 + 8,398}{3} = 8,391 \text{ mg/dL}$
- Rata-rata hasil presisi 8,391 mg/dL  $\rightarrow \frac{0,8391 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 83,91 \text{ mg/L}$   
(8,391 mg/dL)
- Dibuat dalam 10 mL  $\rightarrow 83,91 \text{ mg/dL} = \frac{x}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ml/L}$   
 $= 0,8391 \text{ mg}$   
 $= 0,0008391 \text{ gram}$
- %b/v =  $\frac{0,0008391 \text{ gram}}{10 \text{ mL}} = \frac{0,008391 \text{ gram}}{100 \text{ mL}}$
- Adisi 30% =  $\frac{10 \text{ mL} \times 0,008391 \text{ gram} \times 0,3}{100}$   
 $= 0,00025173 \text{ gram}$   
 $= 0,25173 \text{ mg}$
- Teoritis  $\rightarrow 0,8391 \text{ mg} + 0,25173 \text{ mg} = 1,09083 \text{ mg}$   
 $\frac{1,09083 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 109,08 \text{ mg/L}$  (10,908 mg/dL)

Perhitungan % recovery:

$$\% \text{ Recovery} = \frac{\text{Konsentrasi Percobaan}}{\text{Konsentrasi Teoritis}} \times 100\%$$

Contoh perhitungan % recovery replikasi 1:

a) Replikasi 1

$$\% \text{ Recovery} = \frac{10,956}{10,908} \times 100\%$$

$$= 100,440\%$$

B. Adisi Standar 45%

Replikasi	Mean RGB	$\Delta$ mean RGB	Konsentrasi Percobaan	Konsentrasi Teoritis	% recovery	SD
Blangko	142,331	-	-	-	-	0,011
Replikasi 1	135,700	6,631	12,102	12,167	99,466%	0,050
Replikasi 2	135,609	6,722	12,282	12,167	100,945%	
Replikasi 3	135,691	6,640	12,119	12,167	99,605%	
Rata-rata % recovery					100,005%	

Perhitungan:

- Rata-rata hasil presisi selama 3 hari  $\rightarrow \frac{8,372 + 8,403 + 8,398}{3} = 8,391 \text{ mg/dL}$
- Rata-rata hasil presisi 8,391 mg/dL  $\rightarrow \frac{0,8391 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 83,91 \text{ mg/L}$   
(8,391 mg/dL)
- Dibuat dalam 10 mL  $\rightarrow 83,91 \text{ mg/dL} = \frac{x}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ml/L}$   
 $= 0,8391 \text{ mg}$   
 $= 0,0008391 \text{ gram}$
- %b/v =  $\frac{0,0008391 \text{ gram}}{10 \text{ mL}} = \frac{0,008391 \text{ gram}}{100 \text{ mL}}$
- Adisi 45% =  $\frac{10 \text{ mL} \times 0,008391 \text{ gram} \times 0,45}{100}$   
 $= 0,000377595 \text{ gram}$   
 $= 0,377595 \text{ mg}$
- Teoritis  $\rightarrow 0,8391 \text{ mg} + 0,377595 \text{ mg} = 1,216695 \text{ mg}$   
 $\frac{1,216695 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 121,67 \text{ mg/L} (12,167 \text{ mg/dL})$

C. Adisi Standar 60%

Replikasi	Mean RGB	$\Delta$ mean RGB	Konsentrasi Percobaan	Konsentrasi Teoritis	% recovery	SD
Blangko	142,331	-	-	-	-	0,011
Replikasi 1	134,965	7,366	13,559	13,426	100,991%	0,025
Replikasi 2	134,997	7,334	13,495	13,426	100,514%	
Replikasi 3	134,948	7,383	13,592	13,426	101,236%	
Rata-rata % recovery					100,914%	

Perhitungan:

- Rata-rata hasil presisi selama 3 hari  $\rightarrow \frac{8,372 + 8,403 + 8,398}{3} = 8,391 \text{ mg/dL}$
- Rata-rata hasil presisi 8,391 mg/dL  $\rightarrow \frac{0,8391 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 83,91 \text{ mg/L}$   
(8,391 mg/dL)
- Dibuat dalam 10 mL  $\rightarrow 83,91 \text{ mg/dL} = \frac{x}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ml/L}$   
 $= 0,8391 \text{ mg}$   
 $= 0,0008391 \text{ gram}$

- $\%b/v = \frac{0,0008391 \text{ gram}}{10 \text{ mL}} = \frac{0,008391 \text{ gram}}{100 \text{ mL}}$
- Adisi 60% =  $\frac{10 \text{ mL} \times 0,008391 \text{ gram} \times 0,6}{100}$   
= 0,00050346 gram  
= 0,50346 mg
- Teoritis  $\rightarrow 0,8391 \text{ mg} + 0,50346 \text{ mg} = 1,34256 \text{ mg}$   
 $\frac{1,34256 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 134,26 \text{ mg/L} (13,426 \text{ mg/dL})$

## I.2 Akurasi Urin Simulasi 2

### I.2.1. Akurasi Urin Simulasi Standar Kolesterol 30 mg/dL

#### A. Adisi 30%

Replikasi	Mean Blue	$\Delta$ mean Blue	Konsentrasi Percobaan	Konsentrasi Teoritis	% recovery	SD
Blangko	248,562	-	-	-	-	0,224
Replikasi 1	160,297	88,265	39,853	39,898	99,887%	0,016
Replikasi 2	160,281	88,281	39,909	39,898	100,028%	
Replikasi 3	160,312	88,250	39,801	39,898	99,757%	
Rata-rata % recovery					99,891%	

Perhitungan:

- Rata-rata hasil presisi selama 3 hari  $\rightarrow \frac{30,653 + 30,757 + 30,664}{3} = 30,691 \text{ mg/dL}$
- Rata-rata hasil presisi 30,691 mg/dL  $\rightarrow \frac{3,0691 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 306,91 \text{ mg/L}$   
(30,691 mg/dL)
- Dibuat dalam 10 mL  $\rightarrow 306,91 \text{ mg/dL} = \frac{x}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ml/L}$   
= 3,0691 mg  
= 0,0030691 gram
- $\%b/v = \frac{0,0030691 \text{ gram}}{10 \text{ mL}} = \frac{0,030691 \text{ gram}}{100 \text{ mL}}$
- Adisi 30% =  $\frac{10 \text{ mL} \times 0,030691 \text{ gram} \times 0,3}{100}$   
= 0,00092073 gram  
= 0,92073 mg
- Teoritis  $\rightarrow 3,0691 \text{ mg} + 0,92073 \text{ mg} = 3,98983 \text{ mg}$

$$\frac{3,98983 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 398,98 \text{ mg/L (39,898 mg/dL)}$$

Perhitungan % *recovery*:

$$\% \text{ Recovery} = \frac{\text{Konsentrasi Percobaan}}{\text{Konsentrasi Teoritis}} \times 100\%$$

Contoh perhitungan % *recovery* replikasi 1:

a) Replikasi 1

$$\begin{aligned} \% \text{ Recovery} &= \frac{39,853}{39,898} \times 100\% \\ &= 99,887\% \end{aligned}$$

B. Adisi 45%

Replikasi	Mean Blue	$\Delta$ mean Blue	Konsentrasi Percobaan	Konsentrasi Teoritis	% <i>recovery</i>	SD
Blangko	248,562	-	-	-	-	0,224
Replikasi 1	158,953	89,609	44,517	39,898	100,011%	0,034
Replikasi 2	158,906	89,656	44,680	39,898	100,377%	
Replikasi 3	158,971	89,591	44,455	39,898	99,872%	
Rata-rata % <i>recovery</i>					100,087%	

Perhitungan:

- Rata-rata hasil presisi selama 3 hari  $\rightarrow \frac{30,653 + 30,757 + 30,664}{3} = 30,691 \text{ mg/dL}$
- Rata-rata hasil presisi 30,691 mg/dL  $\rightarrow \frac{3,0691 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 306,91 \text{ mg/L}$   
(30,691 mg/dL)
- Dibuat dalam 10 mL  $\rightarrow 306,91 \text{ mg/dL} = \frac{x}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ml/L}$   
 $= 3,0691 \text{ mg}$   
 $= 0,0030691 \text{ gram}$
- %b/v =  $\frac{0,0030691 \text{ gram}}{10 \text{ mL}} = \frac{0,030691 \text{ gram}}{100 \text{ mL}}$
- Adisi 45% =  $\frac{10 \text{ mL} \times 0,030691 \text{ gram} \times 0,45}{100}$   
 $= 0,001381095 \text{ gram}$   
 $= 1,381095 \text{ mg}$
- Teoritis  $\rightarrow 3,0691 \text{ mg} + 1,381095 \text{ mg} = 4,450195 \text{ mg}$

$$\frac{4,450195 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 445,12 \text{ mg/L (44,512 mg/dL)}$$

## C. Adisi 60%

Replikasi	Mean Blue	$\Delta$ mean Blue	Konsentrasi Percobaan	Konsentrasi Teoritis	% recovery	SD
Blangko	248,562	-	-	-	-	0,224
Replikasi 1	157,622	90,940	49,136	49,106	100,061%	0,025
Replikasi 2	157,607	90,955	49,188	49,106	100,167%	
Replikasi 3	157,656	90,906	49,018	49,106	99,821%	
Rata-rata % recovery					100,016%	

Perhitungan:

- Rata-rata hasil presisi selama 3 hari  $\rightarrow \frac{30,653 + 30,757 + 30,664}{3} = 30,691 \text{ mg/dL}$
- Rata-rata hasil presisi 30,691 mg/dL  $\rightarrow \frac{3,0691 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 306,91 \text{ mg/L}$   
(30,691 mg/dL)
- Dibuat dalam 10 mL  $\rightarrow 306,91 \text{ mg/dL} = \frac{x}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ml/L}$   
 $= 3,0691 \text{ mg}$   
 $= 0,0030691 \text{ gram}$
- %b/v =  $\frac{0,0030691 \text{ gram}}{10 \text{ mL}} = \frac{0,030691 \text{ gram}}{100 \text{ mL}}$
- Adisi 60% =  $\frac{10 \text{ mL} \times 0,030691 \text{ gram} \times 0,6}{100}$   
 $= 0,00184146 \text{ gram}$   
 $= 1,84146 \text{ mg}$
- Teoritis  $\rightarrow 3,0691 \text{ mg} + 1,84146 \text{ mg} = 4,91056 \text{ mg}$   
 $\frac{4,91056 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 491,06 \text{ mg/L (49,106 mg/dL)}$

## I.2.2. Akurasi Urin Simulasi Standar Protein 9 mg/dL

## A. Adisi Standar 30%

Replikasi	Mean RGB	$\Delta$ mean RGB	Konsentrasi Percobaan	Konsentrasi Teoritis	% recovery	SD
Blangko	142,331	-	-	-	-	0,011
Replikasi 1	135,757	6,574	11,989	11,957	100,268%	0,019
Replikasi 2	135,794	6,537	11,915	11,957	99,649%	
Replikasi 3	135,779	6,552	11,945	11,957	100,900%	
Rata-rata % recovery					100,272%	

Perhitungan:

- Rata-rata hasil presisi selama 3 hari  $\rightarrow \frac{9,203 + 9,197 + 9,193}{3} = 9,198 \text{ mg/dL}$
- Rata-rata hasil presisi 9,198 mg/dL  $\rightarrow \frac{0,9198 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 91,98 \text{ mg/L}$   
(9,198 mg/dL)
- Dibuat dalam 10 mL  $\rightarrow 91,98 \text{ mg/dL} = \frac{x}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ml/L}$   
 $= 0,9198 \text{ mg}$   
 $= 0,0009198 \text{ gram}$
- %b/v =  $\frac{0,0009198 \text{ gram}}{10 \text{ mL}} = \frac{0,009198 \text{ gram}}{100 \text{ mL}}$
- Adisi 30% =  $\frac{10 \text{ mL} \times 0,009198 \text{ gram} \times 0,3}{100}$   
 $= 0,00027594 \text{ gram}$   
 $= 0,27594 \text{ mg}$
- Teoritis  $\rightarrow 0,9198 \text{ mg} + 0,27594 \text{ mg} = 1,19574 \text{ mg}$   
 $\frac{1,19574 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 119,57 \text{ mg/L} (11,957 \text{ mg/dL})$

Perhitungan % recovery:

$$\% \text{ Recovery} = \frac{\text{Konsentrasi Percobaan}}{\text{Konsentrasi Teoritis}} \times 100\%$$

Contoh perhitungan % recovery replikasi 1:

a) Replikasi 1

$$\begin{aligned} \% \text{ Recovery} &= \frac{11,989}{11,957} \times 100\% \\ &= 100,268\% \end{aligned}$$

## B. Adisi Standar 45%

Replikasi	Mean RGB	$\Delta$ mean RGB	Konsentrasi Percobaan	Konsentrasi Teoritis	% recovery	SD
Blangko	142,331	-	-	-	-	0,011
Replikasi 1	135,078	7,253	13,335	13,337	99,985%	0,021
Replikasi 2	135,038	7,293	13,414	13,337	100,577%	
Replikasi 3	135,048	7,283	13,394	13,337	100,427%	
Rata-rata % recovery					100,330%	

Perhitungan:

- Rata-rata hasil presisi selama 3 hari  $\rightarrow \frac{9,203 + 9,197 + 9,193}{3} = 9,198 \text{ mg/dL}$
- Rata-rata hasil presisi 9,198 mg/dL  $\rightarrow \frac{0,9198 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 91,98 \text{ mg/L}$   
(9,198 mg/dL)
- Dibuat dalam 10 mL  $\rightarrow 91,98 \text{ mg/dL} = \frac{x}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ml/L}$   
 $= 0,9198 \text{ mg}$   
 $= 0,0009198 \text{ gram}$
- %b/v =  $\frac{0,0009198 \text{ gram}}{10 \text{ mL}} = \frac{0,009198 \text{ gram}}{100 \text{ mL}}$
- Adisi 45% =  $\frac{10 \text{ mL} \times 0,009198 \text{ gram} \times 0,45}{100}$   
 $= 0,00041391 \text{ gram}$   
 $= 0,41391 \text{ mg}$
- Teoritis  $\rightarrow 0,9198 \text{ mg} + 0,41391 \text{ mg} = 1,33371 \text{ mg}$   
 $\frac{1,33371 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 133,37 \text{ mg/L} (13,337 \text{ mg/dL})$

## C. Adisi Standar 60%

Replikasi	Mean RGB	$\Delta$ mean RGB	Konsentrasi Percobaan	Konsentrasi Teoritis	% recovery	SD
Blangko	142,331	-	-	-	-	0,011
Replikasi 1	134,381	7,950	14,716	14,717	99,993%	0,032
Replikasi 2	134,327	8,004	14,823	14,717	100,720%	
Replikasi 3	134,385	7,946	14,708	14,717	99,939%	
Rata-rata % recovery					100,212%	

Perhitungan:

- Rata-rata hasil presisi selama 3 hari  $\rightarrow \frac{9,203 + 9,197 + 9,193}{3} = 9,198 \text{ mg/dL}$
- Rata-rata hasil presisi 9,198 mg/dL  $\rightarrow \frac{0,9198 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 91,98 \text{ mg/L}$   
(9,198 mg/dL)
- Dibuat dalam 10 mL  $\rightarrow 91,98 \text{ mg/dL} = \frac{x}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ml/L}$   
 $= 0,9198 \text{ mg}$   
 $= 0,0009198 \text{ gram}$
- %b/v =  $\frac{0,0009198 \text{ gram}}{10 \text{ mL}} = \frac{0,009198 \text{ gram}}{100 \text{ mL}}$
- Adisi 60% =  $\frac{10 \text{ mL} \times 0,009198 \text{ gram} \times 0,6}{100}$   
 $= 0,00055188 \text{ gram}$   
 $= 0,55188 \text{ mg}$
- Teoritis  $\rightarrow 0,9198 \text{ mg} + 0,55188 \text{ mg} = 1,47168 \text{ mg}$   
 $\frac{1,47168 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 147,17 \text{ mg/L} (14,717 \text{ mg/dL})$

### I.3 Akurasi Urin Simulasi 3

#### I.3.1. Akurasi Urin Simulasi Standar Kolesterol 37 mg/dL

##### A. Adisi 30%

Replikasi	Mean Blue	$\Delta$ mean Blue	Konsentrasi Percobaan	Konsentrasi Teoritis	% recovery	SD
Blangko	248,562	-	-	-	-	0,224
Replikasi 1	157,762	90,800	48,650	48,792	99,709%	0,012
Replikasi 2	157,738	90,824	48,734	48,792	99,881%	
Replikasi 3	157,746	90,816	48,706	48,792	99,824%	
Rata-rata % recovery					99,805%	

Perhitungan:

- Rata-rata hasil presisi selama 3 hari  $\rightarrow \frac{37,549 + 37,493 + 37,410}{3} = 37,484 \text{ mg/dL}$
- Rata-rata hasil presisi 37,484 mg/dL  $\rightarrow \frac{3,7484 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 374,84 \text{ mg/L}$   
(37,484 mg/dL)
- Dibuat dalam 10 mL  $\rightarrow 374,84 \text{ mg/dL} = \frac{x}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ml/L}$



$$= 3,7484 \text{ mg}$$

$$= 0,0037484 \text{ gram}$$

$$\blacksquare \text{ \%b/v} = \frac{0,0037484 \text{ gram}}{10 \text{ mL}} = \frac{0,037484 \text{ gram}}{100 \text{ mL}}$$

$$\blacksquare \text{ Adisi 30\%} = \frac{10 \text{ mL} \times 0,037484 \text{ gram} \times 0,3}{100}$$

$$= 0,00112452 \text{ gram}$$

$$= 1,12452 \text{ mg}$$

$$\blacksquare \text{ Teoritis} \rightarrow 3,7484 \text{ mg} + 1,12452 \text{ mg} = 4,87292 \text{ mg}$$

$$\frac{4,87292 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 487,29 \text{ mg/L (48,792 mg/dL)}$$

Perhitungan % recovery:

$$\% \text{ Recovery} = \frac{\text{Konsentrasi Percobaan}}{\text{Konsentrasi Teoritis}} \times 100\%$$

Contoh perhitungan % recovery replikasi 1:

a) Replikasi 1

$$\% \text{ Recovery} = \frac{48,650}{48,792} \times 100\%$$

$$= 99,709\%$$

B. Adisi 45%

Replikasi	Mean Blue	$\Delta$ mean Blue	Konsentrasi Percobaan	Konsentrasi Teoritis	% recovery	SD
Blangko	248,562	-	-	-	-	0,224
Replikasi 1	156,159	92,403	54,213	54,352	99,744%	0,024
Replikasi 2	156,111	92,451	54,380	54,352	100,052%	
Replikasi 3	156,127	92,435	54,324	54,352	99,948%	
Rata-rata % recovery					99,915%	

Perhitungan:

$$\blacksquare \text{ Rata-rata hasil presisi selama 3 hari} \rightarrow \frac{37,549 + 37,493 + 37,410}{3} = 37,484 \text{ mg/dL}$$

$$\blacksquare \text{ Rata-rata hasil presisi } 37,484 \text{ mg/dL} \rightarrow \frac{3,7484 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 374,84 \text{ mg/L}$$

(37,484 mg/dL)

$$\blacksquare \text{ Dibuat dalam } 10 \text{ mL} \rightarrow 374,84 \text{ mg/dL} = \frac{x}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ml/L}$$

$$= 3,7484 \text{ mg}$$

$$= 0,0037484 \text{ gram}$$

- $\%b/v = \frac{0,0037484 \text{ gram}}{10 \text{ mL}} = \frac{0,037484 \text{ gram}}{100 \text{ mL}}$
- Adisi 45% =  $\frac{10 \text{ mL} \times 0,037484 \text{ gram} \times 0,45}{100}$   
 $= 0,00168678 \text{ gram}$   
 $= 1,68678 \text{ mg}$
- Teoritis  $\rightarrow 3,7484 \text{ mg} + 1,68678 \text{ mg} = 5,43518 \text{ mg}$   
 $\frac{5,43518 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 543,52 \text{ mg/L} (54,352 \text{ mg/dL})$

### C. Adisi 60%

Replikasi	Mean Blue	$\Delta$ mean Blue	Konsentrasi Percobaan	Konsentrasi Teoritis	% recovery	SD
Blangko	248,562	-	-	-	-	0,224
Replikasi 1	154,492	90,070	59,998	59,974	100,040%	0,030
Replikasi 2	154,548	90,014	59,804	59,974	99,717%	
Replikasi 3	154,500	90,062	59,970	59,974	99,993%	
Rata-rata % recovery					99,917%	

Perhitungan:

- Rata-rata hasil presisi selama 3 hari  $\rightarrow \frac{37,549 + 37,493 + 37,410}{3} = 37,484 \text{ mg/dL}$
- Rata-rata hasil presisi  $37,484 \text{ mg/dL} \rightarrow \frac{3,7484 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 374,84 \text{ mg/L}$   
 $(37,484 \text{ mg/dL})$
- Dibuat dalam  $10 \text{ mL} \rightarrow 374,84 \text{ mg/dL} = \frac{x}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ml/L}$   
 $= 3,7484 \text{ mg}$   
 $= 0,0037484 \text{ gram}$
- $\%b/v = \frac{0,0037484 \text{ gram}}{10 \text{ mL}} = \frac{0,037484 \text{ gram}}{100 \text{ mL}}$
- Adisi 60% =  $\frac{10 \text{ mL} \times 0,037484 \text{ gram} \times 0,6}{100}$   
 $= 0,00224904 \text{ gram}$   
 $= 2,24904 \text{ mg}$
- Teoritis  $\rightarrow 3,7484 \text{ mg} + 2,24904 \text{ mg} = 5,99744 \text{ mg}$

$$\frac{5,99744 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 599,74 \text{ mg/L (59,974 mg/dL)}$$

### I.3.2. Akurasi Urin Simulasi Standar Protein 10 mg/dL

#### A. Adisi Standar 30%

Replikasi	Mean RGB	$\Delta$ mean RGB	Konsentrasi Percobaan	Konsentrasi Teoritis	% recovery	SD
Blangko	142,331	-	-	-	-	0,011
Replikasi 1	135,102	7,229	13,287	13,324	99,722%	0,048
Replikasi 2	135,054	7,277	13,382	13,324	100,435%	
Replikasi 3	135,150	7,181	13,192	13,324	99,009%	
Rata-rata % recovery					99,722%	

Perhitungan:

- Rata-rata hasil presisi selama 3 hari  $\rightarrow \frac{10,238 + 10,239 + 10,271}{3} = 10,249 \text{ mg/dL}$
- Rata-rata hasil presisi 10,249 mg/dL  $\rightarrow \frac{1,0249 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 102,49 \text{ mg/L}$   
(10,249 mg/dL)
- Dibuat dalam 10 mL  $\rightarrow 102,49 \text{ mg/dL} = \frac{x}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ml/L}$   
 $= 1,0249 \text{ mg}$   
 $= 0,0010249 \text{ gram}$
- %b/v =  $\frac{0,0010249 \text{ gram}}{10 \text{ mL}} = \frac{0,010249 \text{ gram}}{100 \text{ mL}}$
- Adisi 30% =  $\frac{10 \text{ mL} \times 0,010249 \text{ gram} \times 0,3}{100}$   
 $= 0,00030747 \text{ gram}$   
 $= 0,30747 \text{ mg}$
- Teoritis  $\rightarrow 1,0249 \text{ mg} + 0,30747 \text{ mg} = 1,33237 \text{ mg}$   
 $\frac{1,33237 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 133,24 \text{ mg/L (13,324 mg/dL)}$

Perhitungan % recovery:

$$\% \text{ Recovery} = \frac{\text{Konsentrasi Percobaan}}{\text{Konsentrasi Teoritis}} \times 100\%$$

Contoh perhitungan % *recovery* replikasi 1:

a) Replikasi 1

$$\begin{aligned} \% \text{ Recovery} &= \frac{13,287}{13,324} \times 100\% \\ &= 99,722\% \end{aligned}$$

B. Adisi Standar 45%

Replikasi	Mean RGB	$\Delta$ mean RGB	Konsentrasi Percobaan	Konsentrasi Teoritis	% <i>recovery</i>	SD
Blangko	142,331	-	-	-	-	0,011
Replikasi 1	134,313	8,018	14,851	14,861	99,933%	0,009
Replikasi 2	134,297	8,034	14,883	14,861	100,148%	
Replikasi 3	134,299	8,032	14,879	14,861	100,121%	
Rata-rata % <i>recovery</i>					100,067%	

Perhitungan:

- Rata-rata hasil presisi selama 3 hari  $\rightarrow \frac{10,238 + 10,239 + 10,271}{3} = 10,249 \text{ mg/dL}$
- Rata-rata hasil presisi 10,249 mg/dL  $\rightarrow \frac{1,0249 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 102,49 \text{ mg/L}$   
(10,249 mg/dL)
- Dibuat dalam 10 mL  $\rightarrow 102,49 \text{ mg/dL} = \frac{x}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ml/L}$   
 $= 1,0249 \text{ mg}$   
 $= 0,0010249 \text{ gram}$
- % b/v =  $\frac{0,0010249 \text{ gram}}{10 \text{ mL}} = \frac{0,010249 \text{ gram}}{100 \text{ mL}}$
- Adisi 45% =  $\frac{10 \text{ mL} \times 0,010249 \text{ gram} \times 0,45}{100}$   
 $= 0,000461205 \text{ gram}$   
 $= 0,461205 \text{ mg}$
- Teoritis  $\rightarrow 1,0249 \text{ mg} + 0,461205 \text{ mg} = 1,486105 \text{ mg}$   
 $\frac{1,486105 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 148,61 \text{ mg/L}$  (14,861 mg/dL)

## C. Adisi Standar 60%

Replikasi	Mean RGB	$\Delta$ mean RGB	Konsentrasi Percobaan	Konsentrasi Teoritis	% recovery	SD
Blangko	142,331	-	-	-	-	0,011
Replikasi 1	133,531	8,800	16,401	16,398	100,018%	0,034
Replikasi 2	133,558	8,773	16,348	16,398	99,695%	
Replikasi 3	133,599	8,732	16,267	16,398	99,201%	
Rata-rata % recovery					99,638%	

Perhitungan:

- Rata-rata hasil presisi selama 3 hari  $\rightarrow \frac{10,238 + 10,239 + 10,271}{3} = 10,249 \text{ mg/dL}$
- Rata-rata hasil presisi 10,249 mg/dL  $\rightarrow \frac{1,0249 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 102,49 \text{ mg/L}$   
(10,249 mg/dL)
- Dibuat dalam 10 mL  $\rightarrow 102,49 \text{ mg/dL} = \frac{x}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ml/L}$   
 $= 1,0249 \text{ mg}$   
 $= 0,0010249 \text{ gram}$
- %b/v =  $\frac{0,0010249 \text{ gram}}{10 \text{ mL}} = \frac{0,010249 \text{ gram}}{100 \text{ mL}}$
- Adisi 60% =  $\frac{10 \text{ mL} \times 0,010249 \text{ gram} \times 0,6}{100}$   
 $= 0,00061494 \text{ gram}$   
 $= 0,61494 \text{ mg}$
- Teoritis  $\rightarrow 1,0249 \text{ mg} + 0,61494 \text{ mg} = 1,63984 \text{ mg}$   
 $\frac{1,63984 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 163,98 \text{ mg/L} (16,398 \text{ mg/dL})$

Perhitungan % recovery:

$$\% \text{ Recovery} = \frac{\text{Konsentrasi Percobaan}}{\text{Konsentrasi Teoritis}} \times 100\%$$

#### I.4 Akurasi Urin Simulasi 4

##### I.4.1 Akurasi Urin Simulasi Standar Kolesterol 41 mg/dL

###### A. Adisi 30%

Replikasi	Mean Blue	$\Delta$ mean Blue	Konsentrasi Percobaan	Konsentrasi Teoritis	% recovery	SD
Blangko	248,562	-	-	-	-	0,224
Replikasi 1	156,272	92,290	53,821	53,951	99,759%	0,015
Replikasi 2	156,242	92,320	53,925	53,951	99,952%	
Replikasi 3	156,258	92,304	53,870	53,951	99,850%	
Rata-rata % recovery					99,853%	

Perhitungan:

- Rata-rata hasil presisi selama 3 hari  $\rightarrow \frac{41,436 + 41,541 + 41,525}{3} = 41,501 \text{ mg/dL}$
- Rata-rata hasil presisi 41,501 mg/dL  $\rightarrow \frac{4,1501 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 415,01 \text{ mg/L}$   
(41,501 mg/dL)
- Dibuat dalam 10 mL  $\rightarrow 415,01 \text{ mg/dL} = \frac{x}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ml/L}$   
 $= 4,1501 \text{ mg}$   
 $= 0,0041501 \text{ gram}$
- %b/v =  $\frac{0,0041501 \text{ gram}}{10 \text{ mL}} = \frac{0,041501 \text{ gram}}{100 \text{ mL}}$
- Adisi 30% =  $\frac{10 \text{ mL} \times 0,041501 \text{ gram} \times 0,3}{100}$   
 $= 0,00124503 \text{ gram}$   
 $= 1,24503 \text{ mg}$
- Teoritis  $\rightarrow 4,1501 \text{ mg} + 1,24503 \text{ mg} = 5,39513 \text{ mg}$   
 $\frac{5,39513 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 539,51 \text{ mg/L} (53,951 \text{ mg/dL})$

Perhitungan % recovery:

$$\% \text{ Recovery} = \frac{\text{Konsentrasi Percobaan}}{\text{Konsentrasi Teoritis}} \times 100\%$$

Contoh perhitungan % recovery replikasi 1:

a) Replikasi 1

$$\% \text{ Recovery} = \frac{53,821}{53,951} \times 100\%$$

$$= 99,759\%$$

## B. Adisi 45%

Replikasi	Mean Blue	$\Delta$ mean Blue	Konsentrasi Percobaan	Konsentrasi Teoritis	% recovery	SD
Blangko	248,562	-	-	-	-	0,224
Replikasi 1	154,444	94,118	60,165	60,176	99,982%	0,014
Replikasi 2	154,417	94,145	60,258	60,176	100,136%	
Replikasi 3	154,424	94,138	60,234	60,176	100,096%	
Rata-rata % recovery					100,071%	

Perhitungan:

- Rata-rata hasil presisi selama 3 hari  $\rightarrow \frac{41,436 + 41,541 + 41,525}{3} = 41,501 \text{ mg/dL}$
- Rata-rata hasil presisi 41,501 mg/dL  $\rightarrow \frac{4,1501 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 415,01 \text{ mg/L}$   
(41,501 mg/dL)
- Dibuat dalam 10 mL  $\rightarrow 415,01 \text{ mg/dL} = \frac{x}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ml/L}$   
 $= 4,1501 \text{ mg}$   
 $= 0,0041501 \text{ gram}$
- %b/v =  $\frac{0,0041501 \text{ gram}}{10 \text{ mL}} = \frac{0,041501 \text{ gram}}{100 \text{ mL}}$
- Adisi 45% =  $\frac{10 \text{ mL} \times 0,041501 \text{ gram} \times 0,45}{100}$   
 $= 0,001867545 \text{ gram}$   
 $= 1,867545 \text{ mg}$
- Teoritis  $\rightarrow 4,1501 \text{ mg} + 1,867545 \text{ mg} = 6,017645 \text{ mg}$   
 $\frac{6,017645 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 601,76 \text{ mg/L} (60,176 \text{ mg/dL})$

## C. Adisi 60%

Replikasi	Mean Blue	$\Delta$ mean Blue	Konsentrasi Percobaan	Konsentrasi Teoritis	% recovery	SD
Blangko	248,562	-	-	-	-	0,224
Replikasi 1	152,623	95,939	66,484	66,402	100,123%	0,032
Replikasi 2	152,596	93,966	66,577	66,402	100,264%	
Replikasi 3	152,659	93,903	66,359	66,402	99,935%	
Rata-rata % recovery					100,107%	

Perhitungan:

- Rata-rata hasil presisi selama 3 hari  $\rightarrow \frac{41,436 + 41,541 + 41,525}{3} = 41,501 \text{ mg/dL}$
- Rata-rata hasil presisi 41,501 mg/dL  $\rightarrow \frac{4,1501 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 415,01 \text{ mg/L}$   
(41,501 mg/dL)
- Dibuat dalam 10 mL  $\rightarrow 415,01 \text{ mg/dL} = \frac{x}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ml/L}$   
 $= 4,1501 \text{ mg}$   
 $= 0,0041501 \text{ gram}$
- %b/v =  $\frac{0,0041501 \text{ gram}}{10 \text{ mL}} = \frac{0,041501 \text{ gram}}{100 \text{ mL}}$
- Adisi 60% =  $\frac{10 \text{ mL} \times 0,041501 \text{ gram} \times 0,6}{100}$   
 $= 0,00249006 \text{ gram}$   
 $= 2,49006 \text{ mg}$
- Teoritis  $\rightarrow 4,1501 \text{ mg} + 2,49006 \text{ mg} = 6,64016 \text{ mg}$   
 $\frac{6,64016 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 664,02 \text{ mg/L} (66,402 \text{ mg/dL})$

## I.4.2 Akurasi Urin Simulasi Standar Protein 11 mg/dL

## A. Adisi Standar 30%

Replikasi	Mean RGB	$\Delta$ mean RGB	Konsentrasi Percobaan	Konsentrasi Teoritis	% recovery	SD
Blangko	142,331	-	-	-	-	0,011
Replikasi 1	134,397	7,934	14,685	14,686	99,993%	0,028
Replikasi 2	134,432	7,899	14,615	14,686	99,517%	
Replikasi 3	134,377	7,954	14,724	14,686	100,259%	
Rata-rata % recovery					99,923%	



Perhitungan:

- Rata-rata hasil presisi selama 3 hari  $\rightarrow \frac{11,212 + 11,366 + 11,312}{3} = 11,297 \text{ mg/dL}$
- Rata-rata hasil presisi  $11,297 \text{ mg/dL} \rightarrow \frac{1,1297 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 112,97 \text{ mg/L}$   
( $11,297 \text{ mg/dL}$ )
- Dibuat dalam  $10 \text{ mL} \rightarrow 112,97 \text{ mg/dL} = \frac{x}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ml/L}$   
 $= 1,1297 \text{ mg}$   
 $= 0,0011297 \text{ gram}$
- $\%b/v = \frac{0,0011297 \text{ gram}}{10 \text{ mL}} = \frac{0,011297 \text{ gram}}{100 \text{ mL}}$
- Adisi  $30\% = \frac{10 \text{ mL} \times 0,011297 \text{ gram} \times 0,3}{100}$   
 $= 0,00033891 \text{ gram}$   
 $= 0,33891 \text{ mg}$
- Teoritis  $\rightarrow 1,1297 \text{ mg} + 0,33891 \text{ mg} = 1,46861 \text{ mg}$   
 $\frac{1,46861 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 146,86 \text{ mg/L}$  ( $14,686 \text{ mg/dL}$ )

Perhitungan *% recovery*:

$$\% \text{ Recovery} = \frac{\text{Konsentrasi Percobaan}}{\text{Konsentrasi Teoritis}} \times 100\%$$

Contoh perhitungan *% recovery* replikasi 1:

a) Replikasi 1

$$\% \text{ Recovery} = \frac{14,685}{14,686} \times 100\%$$

$$= 99,993\%$$

B. Adisi Standar 45%

Replikasi	Mean RGB	$\Delta$ mean RGB	Konsentrasi Percobaan	Konsentrasi Teoritis	<i>% recovery</i>	SD
Blangko	142,331	-	-	-	-	0,011
Replikasi 1	133,577	8,754	16,310	16,381	99,567%	0,024
Replikasi 2	133,596	8,735	16,272	16,381	99,335%	
Replikasi 3	133,548	8,783	16,368	16,381	99,921%	
Rata-rata <i>% recovery</i>					99,608%	

Perhitungan:

- Rata-rata hasil presisi selama 3 hari  $\rightarrow \frac{11,212 + 11,366 + 11,312}{3} = 11,297 \text{ mg/dL}$
- Rata-rata hasil presisi 11,297 mg/dL  $\rightarrow \frac{1,1297 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 112,97 \text{ mg/L}$   
(11,297 mg/dL)
- Dibuat dalam 10 mL  $\rightarrow 112,97 \text{ mg/dL} = \frac{x}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ml/L}$   
 $= 1,1297 \text{ mg}$   
 $= 0,0011297 \text{ gram}$
- %b/v =  $\frac{0,0011297 \text{ gram}}{10 \text{ mL}} = \frac{0,011297 \text{ gram}}{100 \text{ mL}}$
- Adisi 45% =  $\frac{10 \text{ mL} \times 0,011297 \text{ gram} \times 0,45}{100}$   
 $= 0,000508365 \text{ gram}$   
 $= 0,508365 \text{ mg}$
- Teoritis  $\rightarrow 1,1297 \text{ mg} + 0,508365 \text{ mg} = 1,638135 \text{ mg}$   
 $\frac{1,638135 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 163,81 \text{ mg/L}$  (16,381 mg/dL)

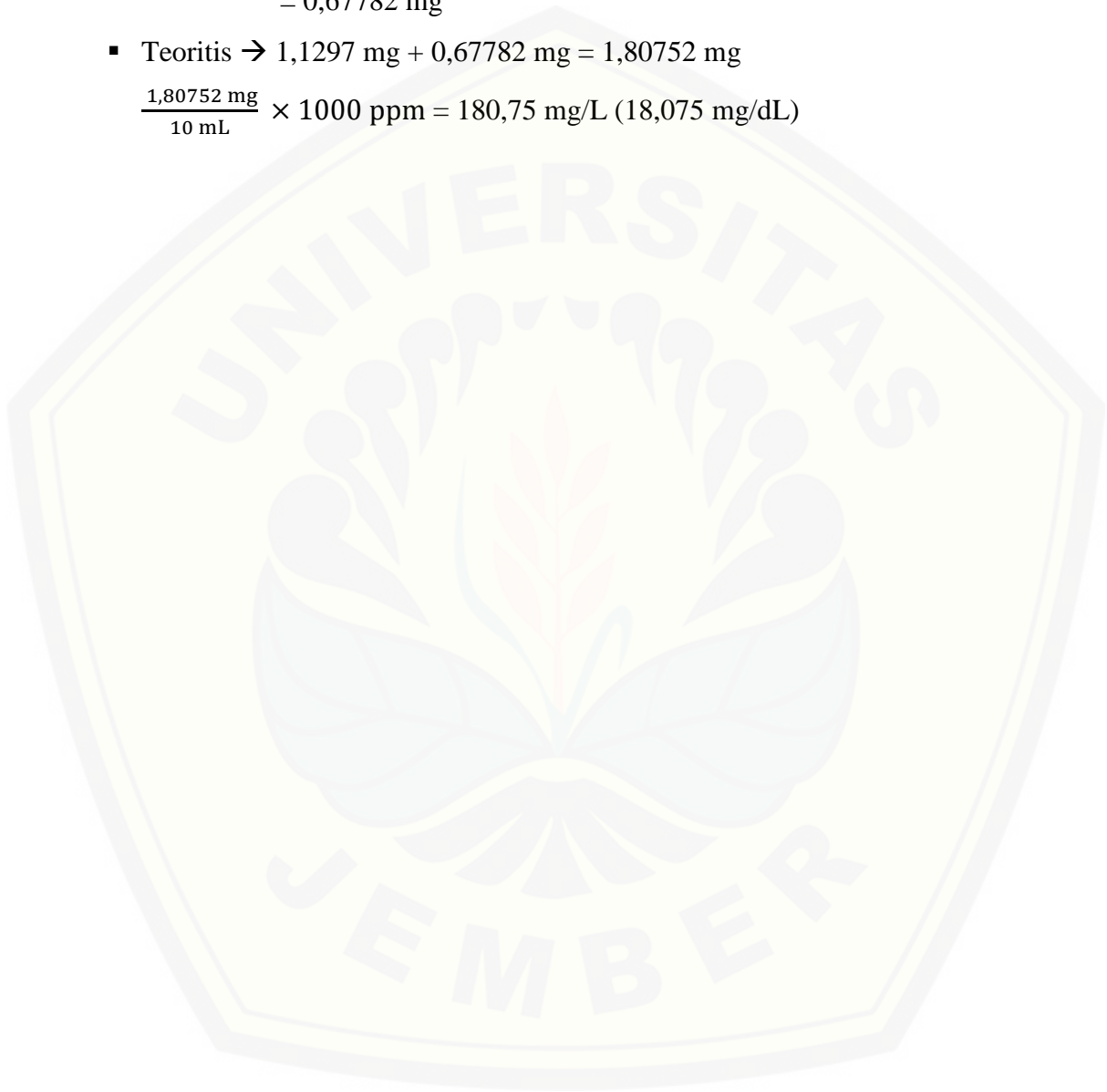
C. Adisi Standar 60%

Replikasi	Mean RGB	$\Delta$ mean RGB	Konsentrasi Percobaan	Konsentrasi Teoritis	% recovery	SD
Blangko	142,331	-	-	-	-	0,011
Replikasi 1	132,685	9,646	18,078	18,075	100,017%	0,026
Replikasi 2	132,692	9,639	18,065	18,075	99,945%	
Replikasi 3	132,644	9,687	18,160	18,075	100,470%	
Rata-rata % recovery					100,144%	

Perhitungan:

- Rata-rata hasil presisi selama 3 hari  $\rightarrow \frac{11,212 + 11,366 + 11,312}{3} = 11,297 \text{ mg/dL}$
- Rata-rata hasil presisi 11,297 mg/dL  $\rightarrow \frac{1,1297 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 112,97 \text{ mg/L}$   
(11,297 mg/dL)
- Dibuat dalam 10 mL  $\rightarrow 112,97 \text{ mg/dL} = \frac{x}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ml/L}$   
 $= 1,1297 \text{ mg}$   
 $= 0,0011297 \text{ gram}$

- $\%b/v = \frac{0,0011297 \text{ gram}}{10 \text{ mL}} = \frac{0,011297 \text{ gram}}{100 \text{ mL}}$
- Adisi 60% =  $\frac{10 \text{ mL} \times 0,011297 \text{ gram} \times 0,6}{100}$   
= 0,00067782 gram  
= 0,67782 mg
- Teoritis  $\rightarrow 1,1297 \text{ mg} + 0,67782 \text{ mg} = 1,80752 \text{ mg}$   
 $\frac{1,80752 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 180,75 \text{ mg/L (18,075 mg/dL)}$



**LAMPIRAN J. WAKTU PAKAI****J.1. Waktu Pakai Ruang LDK dengan Menggunakan Reagen  
*Tetrabromophenol Blue* (Deteksi Protein)**

Hari ke-	R1	R2	R3	Mean RGB	$\Delta$ Mean RGB	% Penurunan
0	140,361	140,254	140,382	140,332	-	-
1	138,421	138,601	138,343	138,455	1,877	1,338
2	135,436	135,611	135,111	135,386	4,946	3,573
3	131,000	131,474	131,277	131,250	9,082	6,708
4	127,583	127,564	127,474	127,540	12,792	9,746
5	124,312	124,233	124,170	124,238	16,094	12,619
6	121,488	121,549	121,490	121,509	18,823	15,151
7	117,875	117,754	117,476	117,702	22,631	18,625

$$\% \text{ Penurunan} = \frac{\text{Mean RGB hari ke 0} - \text{Mean RGB hari ke 1,2,dst}}{\text{Mean RGB hari ke 0}} \times 100\%$$

Contoh perhitungan % penurunan hari ke-1:

a) % Penurunan Hari ke-1

$$\begin{aligned} \% \text{ Penurunan} &= \frac{140,332 - 138,455}{140,332} \times 100\% \\ &= 1,338\% \end{aligned}$$

**J.2. Waktu Pakai Ruang LDK dengan Menggunakan Reagen *2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)* (Deteksi Kolesterol)**

Hari ke-	R1	R2	R3	Mean Blue	$\Delta$ Mean Blue	% Penurunan
0	169,541	169,610	169,857	169,669	-	-
1	144,145	144,075	144,281	144,167	25,502	15,031
2	118,413	118,201	119,034	118,549	51,120	30,129

**J.3. Waktu Pakai Kulkas LDK dengan Menggunakan Reagen  
*Tetrabromophenol Blue* (Deteksi Protein)**

Hari ke-	R1	R2	R3	Mean RGB	$\Delta$ Mean RGB	% Penurunan
0	140,361	140,254	140,382	140,332	-	-
1	139,121	139,062	139,133	139,105	1,227	0,874
2	136,860	137,529	137,515	137,301	3,031	2,179
3	134,562	134,904	134,630	134,699	5,634	4,103
4	131,493	131,270	131,419	131,394	8,938	6,636
5	129,821	128,262	128,429	128,837	11,495	8,748
6	125,645	125,500	125,304	125,483	14,849	10,582
7	121,358	121,424	122,464	122,082	18,250	13,120
8	119,825	119,380	119,219	119,475	20,858	15,191
9	115,795	115,711	115,826	115,777	24,555	18,230

$$\% \text{ Penurunan} = \frac{\text{Mean RGB hari ke 0} - \text{Mean RGB hari ke 1,2,dst}}{\text{Mean RGB hari ke 0}} \times 100\%$$

Contoh perhitungan % penurunan hari ke-1:

a) % Penurunan Hari ke-1

$$\begin{aligned} \% \text{ Penurunan} &= \frac{140,332 - 139,105}{140,332} \times 100\% \\ &= 0,874\% \end{aligned}$$

**J.4. Waktu Pakai Kulkas LDK dengan Menggunakan Reagen *2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)* (Deteksi Kolesterol)**

Hari ke-	R1	R2	R3	Mean RGB	$\Delta$ Mean RGB	% Penurunan
0	169,541	169,610	169,857	169,669	-	-
1	165,900	165,917	165,483	165,433	4,236	2,497
2	161,295	161,352	161,125	161,257	8,412	5,085
3	157,183	157,849	157,802	157,611	12,058	7,477
4	154,683	154,436	154,443	154,521	15,149	9,611
5	151,469	151,604	151,229	151,434	18,235	11,801
6	147,217	147,504	147,670	147,464	22,206	13,088
7	143,997	144,114	143,716	143,942	25,727	15,551
8	139,676	139,946	139,297	139,640	30,030	18,622

**LAMPIRAN K. PERHITUNGAN ENZIM KOLESTEROL**

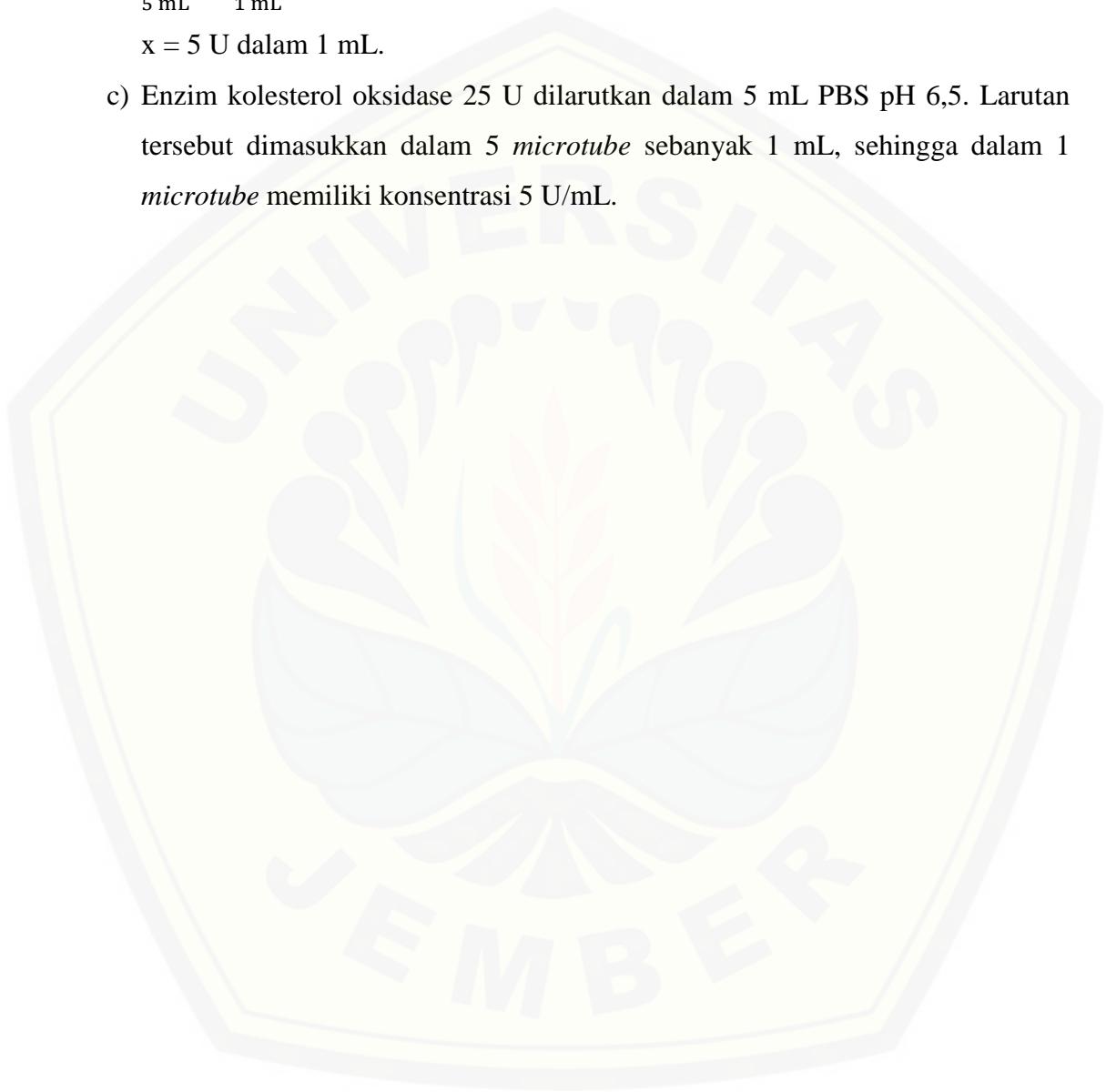
a) Enzim Kolesterol Oksidase → 25 U

b) Perhitungan :

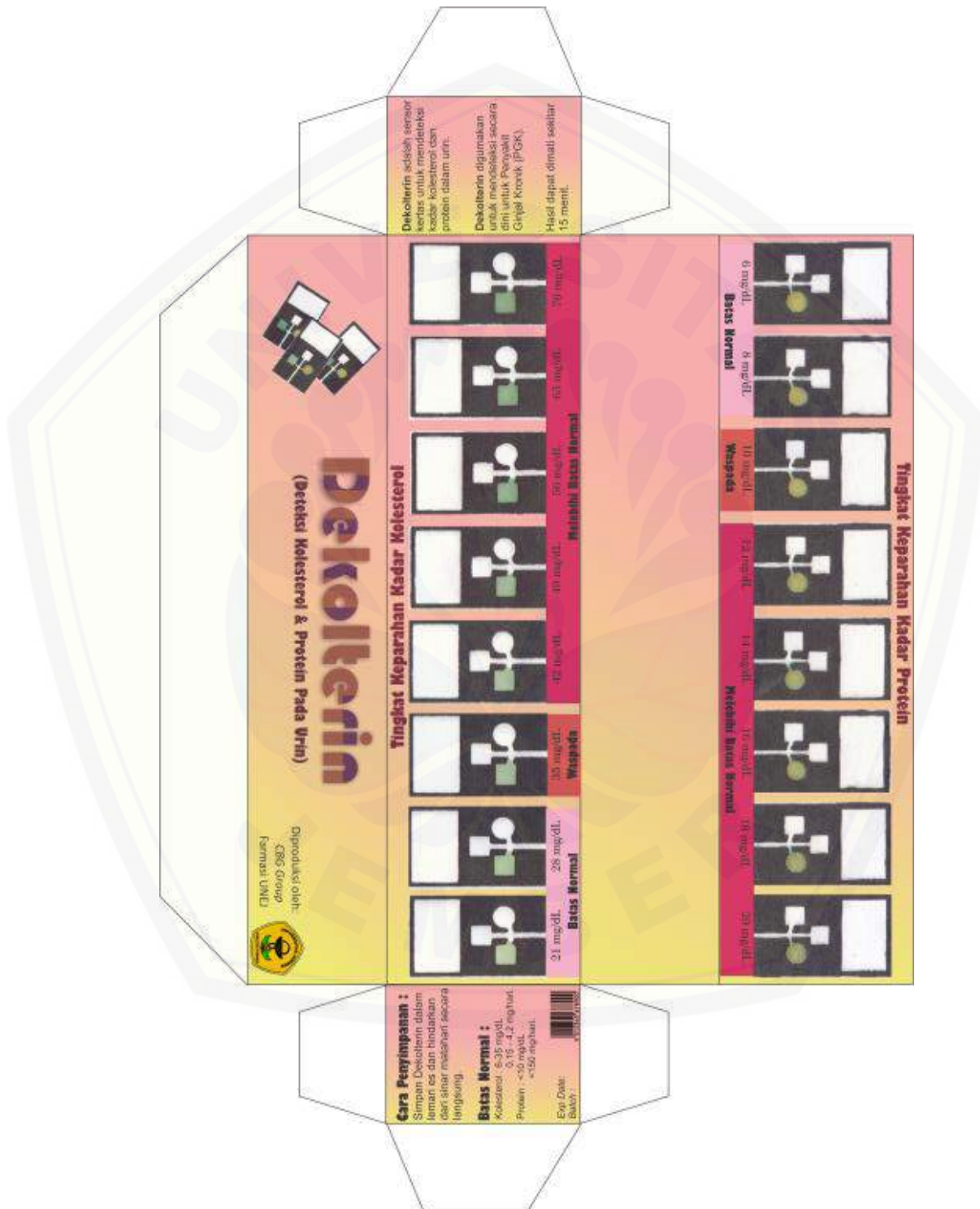
$$\frac{25 \text{ U}}{5 \text{ mL}} = \frac{x}{1 \text{ mL}}$$

x = 5 U dalam 1 mL.

c) Enzim kolesterol oksidase 25 U dilarutkan dalam 5 mL PBS pH 6,5. Larutan tersebut dimasukkan dalam 5 *microtube* sebanyak 1 mL, sehingga dalam 1 *microtube* memiliki konsentrasi 5 U/mL.



LAMPIRAN L. DESAIN PRODUK



## Delkoterin

(Deteksi Kolesterol & Protein Pada Urin)

### Indikasi:

Untuk Pasien Penyakit Ginjal Kronik (PGK)

### Cara Pemakaian:

1. Tampung urin sewaktu pada wadah.
2. Teteskan urin  $\pm$  1 tetes pada obyek glass.
3. Ambil 1 kertas Delkoterin.
4. Letakkan secara tegak lurus dan urin secara kapilaritas naik ke atas.
5. Untuk area deteksi kolesterol ditambahkan dengan reagen ABTS.
6. Amati perubahan warna yang terjadi  $\pm$  15 menit.
7. Bandingkan warna yang diperoleh dengan tabel semikuantitatif pada kemasan.

### Batas Normal pada Urin:

Kolesterol  $\rightarrow$  6-35 mg/dL (0,15-4,2 mg/hari)

Protein  $\rightarrow$  <10 mg/dL (<150 mg/hari)

### Cara Pembaca Hasil Test:

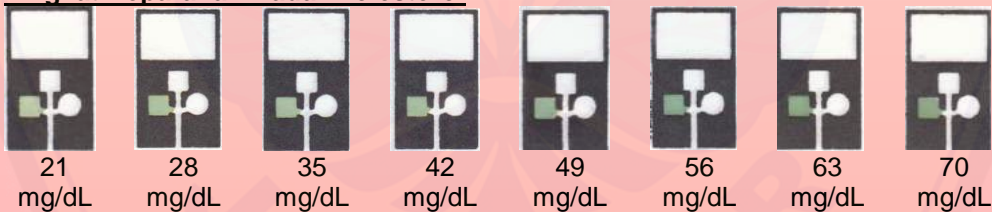


Negatif Kolesterol dan Protein



Positif Kolesterol dan Protein

### Tingkat Keparahan Kadar Kolesterol



Batas Normal

Waspada

Melebihi Batas Normal

### Tingkat Keparahan Kadar Protein



Batas Normal

Waspada

Melebihi Batas Normal

### Cara Penyimpanan:

Simpan Delkoterin dalam lemari es (*chiller* pada suhu 2 – 8°C) dan hindarkan dari sinar matahari.





KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN (KEPK)  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI UNIVERSITAS JEMBER  
(THE ETHICAL COMMITTEE OF MEDICAL RESEARCH  
FACULTY OF DENTISTRY UNIVERSITAS JEMBER)

## ETHIC COMMITTEE APPROVAL

No.917/UN25.8/KEPK/DL/2020

Title of research protocol : "Development of a Paper-Based Lab on Chip (LOC) for Simultaneous Determination of Cholesterol and Protein Levels in Urine Samples"

Document Approved : Research Protocol

Principal investigator : Anis Dwi Astuti

Member of research : -

Responsible Physician : Anis Dwi Astuti

Date of approval : Februari 2020 sampai selesai

Place of research : Laboratorium Kemo dan Biosensor Fakultas Farmasi Universitas Jember

The Research Ethic Committee Faculty of Dentistry Universitas Jember States That the above protocol meets the ethical principle outlined and therefore can be carried out.

Jember, April 29<sup>th</sup> 2020



Dean of Faculty of Dentistry  
Universitas Jember

(Dr. R. Rahardyan P. M. Kes, Sp. Pros.)



Chairperson of Research Ethics Committee  
Faculty of Dentistry Universitas Jember

(Prof. Dr. drg. I Dewa Ayu Ratna Dewanti, M.Si.)