

**KORELASI ANTARA RASIO EOSINOFIL - LEUKOSIT (REL)  
DAN HbA1c PADA PASIEN DM TIPE 2**

**TUGAS AKHIR**

Untuk memenuhi sebagian persyaratan sebagai  
Sarjana Sains Terapan



**Oleh :**

**Elfrida Melisa Ngamal  
10170661N**

**PROGRAM STUDI D-IV ANALIS KESEHATAN  
FAKULTAS ILMU KESEHATAN  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2018**

## **LEMBAR PERSETUJUAN**

Tugas Akhir :

### **KORELASI ANTARA RASIO EOSINOFIL – LEUKOSIT (REL) DAN HbA1c PADA PASIEN DM TIPE 2**

**Oleh :**  
**Elfrida Melisa Ngamal**  
**10170661N**

Surakarta, 10 Juli 2018

Menyetujui Untuk Ujian Sidang Tugas Akhir

Pembimbing Utama

M.I. Diah Pramudianti, dr., M.Sc. Sp.PK (K)  
NIP. 19760906 2014092001

Pembimbing Pendamping

Drs. Edy Prasetya, M.Si  
NIS. 01198910261018

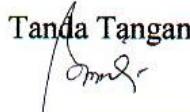
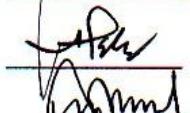
## LEMBAR PENGESAHAN

Tugas Akhir :

### **KORELASI ANTARA RASIO EOSINOFIL – LEUKOSIT (REL) DAN HbA1c PADA PASIEN DM TIPE 2**

**Oleh :**  
**Elfrida Melisa Ngamal**  
**10170661N**

**Telah dipertahankan di depan Tim Pengaji  
Pada tanggal 14 Juli 2018**

Nama	Tanda Tangan	Tanggal
Pengaji I : B. Rina A. Sidharta, dr., Sp.PK (K)		<u>14 Juli 2018</u>
Pengaji II : Amiroh Kurniati, dr., Sp.PK., M.Kes		<u>14 Juli 2018</u>
Pengaji III : Drs.Edy Prasetya, M.Si		<u>14 Juli 2018</u>
Pengaji IV : M.I. Diah Pramudianti, dr., M.Sc. Sp.PK (K)		<u>14 Juli 2018</u>

Mengetahui,  
Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan  
Universitas Setia Budi



Prof. dr. Marseptyawan HNE S. M.Sc., Ph.D  
NIP. 19480929 197503 1 006

Ketua Program Studi  
DIV Analis Kesehatan



Tri Mulyowati, SKM, M.Sc  
NIS. 01201112162151

## **PERNYATAAN**

Dengan ini saya menyatakan bahwa tugas akhir adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila tugas akhir ini merupakan jiplakan dari penelitian/ karya ilmiah/ tugas akhir orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun secara hukum.

Surakarta, 14 Juli 2018



Elfrida Melisa Ngamal  
Nim. 10170661N

## **KATA PENGANTAR**

Puji Syukur penulis panjatkan kehadirat Tuhan Yang Maha Esa yang telah menganugerahkan hikmat dan kemampuan kepada penulis, sehingga penyusunan Tugas Akhir ini dapat terselesaikan dengan baik dan tepat pada waktunya. Adapun Tugas Akhir ini berjudul “Korelasi Antara Rasio Eosinofil – Leukosit (REL) dan HbA1c Pada Pasien DM Tipe 2” merupakan salah satu syarat untuk menyelesaikan program pendidikan D-IV Analis Kesehatan di Universitas Setia Budi Surakarta. Penyusunan Tugas Akhir ini berdasarkan pemeriksaan laboratorium, serta ditunjang dengan pustaka yang ada.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini telah banyak mendapat bantuan serta bimbingan dari berbagai pihak, sehingga dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

Secara khusus penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Bapak Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA selaku Rektor Universitas Setia Budi Surakarta.
2. Bapak Prof. dr. Marsetyawan HNE Soesatyo, M.Sc., Ph.D selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Setia Budi Surakarta.
3. Tri Mulyowati, SKM.,M.Sc selaku Ketua Program Studi D-IV Analis Kesehatan Universitas Setia Budi Surakarta.
4. M.I. Diah Pramudianti, dr., M.Sc. Sp.PK (K) selaku pembimbing utama yang telah meluangkan waktu ditengah kesibukannya dan dengan sabar serta

perhatiannya memberikan bimbingan, arahan, motivasi kepada penulis untuk menyelesaikan Tugas Akhir ini.

5. Drs. Edy Prasetya, M.Si, selaku pembimbing pendamping yang telah memberikan bimbingan, nasehat serta arahan dalam menyelesaikan Tugas Akhir ini.
6. Bapak dan Ibu Tim Penguji Tugas Akhir yang telah meluangkan waktu untuk menguji, serta memberikan masukan dan saran-saran kepada penulis.
7. Bapak dan Ibu Dosen, Kepala Perpustakaan beserta staf, karyawan dan karyawati Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Setia Budi Surakarta.
8. Keluarga tercinta, Bapak dan Ibu yang selalu memberikan dukungan, doa, dan motivasi dalam menyelesaikan Tugas Akhir ini.
9. Kepada semua pimpinan, staf, karyawan dan karyawati RSUD Dr. Moewardi Surakarta yang telah memberikan izin kepada penulis untuk melakukan penelitian.
10. Kepada semua teman-teman mahasiswa Program Studi D-IV Transfer Analis Kesehatan Universitas Setia Budi Surakarta yang telah ikut memberikan bantuan, motivasi dan kerjasamanya selama pembuatan Tugas Akhir ini.
11. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, yang telah membantu dalam penyelesaian Tugas Akhir ini.

Penulis menyadari bahwa Tugas Akhir ini masih jauh dari kesempurnaan baik secara sistematika maupun isinya. Mengingat terbatasnya kemampuan dan pengetahuan sehingga tidak menutup kemungkinan terdapat kekurangan. Oleh karena itu segala kritik dan saran yang membangun penulis demi sempurnanya

Tugas Akhir ini. Semoga Tugas Akhir ini dapat bermanfaat bagi penulis dan pembaca.

Surakarta, Juli 2018

Penulis

## INTISARI

**Elfrida Melisa Ngamal. 2018. Korelasi Antara Rasio Eosinofil – Leukosit (REL) dan HbA1c Pada Pasien DM Tipe 2. Program Studi D-IV Analis Kesehatan, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Setia Budi.**

*Diabetes mellitus* merupakan suatu penyakit dari gangguan metabolismik yang ditandai dengan kenaikan glukosa darah. Eosinofil yang merupakan salah satu jenis leukosit, memiliki peran penting dalam homeostasis metabolismik khususnya pada pasien DM tipe 2. Leukosit berperan dalam pertahanan seleler dan humorai terhadap respon sel peradangan pada pembuluh darah. Hemoglobin terglikasi (HbA1c) merupakan salah satu pemeriksaan kontrol gula darah. Semakin tinggi tingkat HbA1c pada pasien, semakin besar risiko pengembangan komplikasi terkait DM.

Penelitian ini menggunakan desain penelitian analitik observasional dengan pendekatan *cross sectional*. Subjek penelitian 100 sampel, analisis data dengan uji *koltmogorov - Smirnov* dengan kemaknaan  $p>0,05$ . Analisis data dengan korelasi pearson dengan kemaknaan  $p<0,05$ .

Hasil penelitian didapatkan yaitu  $r= -0,181$  dan  $p=0,071$  ( $p>0,05$ ). Hasil penelitian ini disimpulkan tidak terdapat korelasi yang bermakna antara REL dan HbA1c pada pasien DM tipe 2. Perlu dilakukan penelitian lanjut untuk mengetahui korelasi REL pada pasien DM tipe 2, selain kadar HbA1c misalnya variabel glukosa darah puasa atau marker inflamasi yang lain.

**Kata Kunci :** *Diabetes Mellitus, Rasio eosinofil – leukosit, HbA1c.*

## ABSTRACT

**Ngamal, EM. 2018. Correlation Between Eosinophil Ratio - Leukocytes (REL) and HbA1c In Patients Type 2 Diabetes Mellitus. The Study Program of D-IV in Health Analyst. The Faculty of Health Sciences. Setia Budi University.**

*Diabetes mellitus is a disease of metabolic disorders characterized by an increase in blood glucose. Eosinophils are one type of leukocytes, has an important role in metabolic homeostasis especially in patients with type 2 diabetes mellitus. Leukocytes play a role in the cellular and humoral defenses against inflammatory cell responses in blood vessels. The glycated hemoglobin A1c (HbA1c) is one of the blood glucose control tests. The higher HbA1c levels in patients, the greater the risk of developing complications associated with DM.*

*This research applied observational analytical research design with cross-sectional approach. The subjects of the research were 100 samples, the data were analyzed using Kolmogorov-Smirnov test with the value of  $p>0,05$ . Data analysis using Pearson correlation with the value of  $p<0,05$ .*

*The results show the value of  $r = -0,181$  and  $p = 0,071$  ( $p>0,05$ ). It concludes that there is no value correlation found between the REL and HbA1c on patients type 2 diabetes mellitus. Further research is required to find out the correlation found between the REL on patients with type 2 diabetes mellitus, in addition to HbA1c levels such as fasting plasma glucose or other inflammatory markers.*

**Key words:** *Diabetes Mellitus, Eosinophil Ratio - Leukocytes , HbA1c.*

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PERSETUJUAN.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN .....	iii
PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR .....	v
INTISARI.....	viii
ABSTRACT .....	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR GAMBAR .....	xiii
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR SINGKATAN .....	xv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvii
BAB I PENDAHULUAN .....	1
A.    Latar Belakang Masalah.....	1
B.    Rumusan Masalah .....	4
C.    Tujuan Penelitian .....	5
D.    Manfaat Penelitian .....	5
E.    Keaslian Penelitian.....	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	9
A.    Tinjauan Pustaka .....	9
1. <i>Diabetes Mellitus</i> .....	9
a.    Definisi.....	9
b.    Prevalensi.....	9

c. Patofisiologi .....	9
d. Etiologi.....	11
e. Klasifikasi DM.....	12
f. Diagnosis.....	13
g. Komplikasi kronis .....	15
2. HbA1c .....	16
a. Metode Pemeriksaan HbA1c .....	19
3. Eosinofil .....	22
a. Metode Pemeriksaan Eosinofil .....	24
4. Leukosit.....	27
a. Metode pemeriksaan leukosit .....	29
5. Pemeriksaan REL.....	32
6. Korelasi antara Rasio Eosinofil – Jumlah Leukosit (REL) Pada Pasien DM tipe 2 .....	32
B. Landasan Teori.....	35
C. Kerangka Teori.....	37
D. Hipotesis.....	38
<b>BAB III METODE PENELITIAN.....</b>	<b>39</b>
A. Rancangan Penelitian .....	39
B. Waktu dan Tempat Penelitian .....	39
1. Waktu .....	39
2. Tempat .....	39
C. Populasi dan Sampel .....	39
1. Populasi .....	39
2. Sampel.....	40
D. Variabel Penelitian .....	41

E.	Definisi Operasional.....	41
F.	Skema Alur Penelitian.....	43
G.	Alat dan Bahan.....	43
	3. Alat.....	43
	4. Bahan .....	44
H.	Prosedur Penelitian.....	44
	1. Prosedur Pemeriksaan Eosinofil dan Leukosit.....	44
	2. Prosedur Pemeriksaan HbA1c. ....	45
I.	Teknik Pengumpulan Data.....	45
J.	Teknik Analisa Data.....	46
K.	Pertimbangan Etik.....	46
L.	Jadwal Penelitian.....	47
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>		<b>48</b>
A.	Hasil Penelitian .....	48
	1. Uji Kualitas Internal.....	48
	a. Uji Presisi atau Ketelitian .....	48
	b. Uji Akurasi atau Ketepatan.....	49
	2. Karakteristik Subjek Dasar Penelitian .....	50
	3. Uji Normalitas Data .....	51
	4. Analisis Data .....	52
B.	Pembahasan.....	53
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>		<b>56</b>
A.	Kesimpulan .....	56
B.	Saran.....	56
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>		<b>57</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>		<b>60</b>

## **DAFTAR GAMBAR**

Halaman

Gambar 1. Skema pembentukkan DM sampai terjadi inflamasi dan komplikasi .....	10
Gambar 2. Proses Pembentukan HbA1c .....	17
Gambar 3. Eosinofil .....	23
Gambar 4. Leukosit.....	29
Gambar 5. Kerangka Teori.....	37
Gambar 6. Skema Alur Penelitian.....	43
Gambar 7. Grafik korelasi antara rasio eosinofil – leukosit dan HbA1c .....	52

## **DAFTAR TABEL**

	Halaman
Tabel 1. Keaslian penelitian .....	7
Tabel 2. Kriteria diagnosis DM .....	14
Tabel 3. Kategori peningkatan risiko DM (prediabetes) .....	15
Tabel 4. Hubungan antara HbA1c dan rata – rata glukosa .....	19
Tabel 5. Jadwal Penelitian .....	47
Tabel 6. Uji Presisi (Ketelitian).....	49
Tabel 7. Uji Akurasi (Ketepatan).....	50
Tabel 8. Karakteristik Subjek Dasar Penelitian.....	50
Tabel 9. Hasil Uji Normalitas.....	51
Tabel 10. Hasil Uji Normalitas Data (Sesudah ditransformasi) .....	51
Tabel 11. Korelasi rasio eosinofil – leukosit dan HbA1c .....	52

## DAFTAR SINGKATAN

ADA	= <i>American Diabetes Association.</i>
ADAG	= <i>A1c-derived avarage glucose.</i>
ADT	= Apusan darah tepi
AG	= <i>Average glucose.</i>
AGE	= <i>Advanced glycosylation end products.</i>
CE	= <i>Cappillary elektrophoresis.</i>
CRP	= <i>C-reactive protein.</i>
CV	= <i>Coefficient of variation.</i>
DCCT	= <i>Diabetes Control and Complications Trial.</i>
DKA	= Diabetes ketoasidosis.
DK	= Diabetes ketosis.
DM	= <i>Diabetes mellitus.</i>
eAG	= <i>Estimated average glucose.</i>
EDTA	= <i>Ethylene diamine tetra acid.</i>
EIA	= <i>Enzyme immunoassay.</i>
FPG	= <i>Fasting plasma glucose.</i>
g/dl	= Gram per desiliter.
GDP	= Glukosa darah puasa.
GD2JPP	= Glukosa darah 2 jam <i>post prandial.</i>
Hb	= Hemoglobin.
HbA1c	= Hemoglobin A1c.

HPLC	= <i>High performance liquid chromatography.</i>
IDDM	= <i>Insulin dependent diabetes mellitus</i>
IFG	= <i>Impaired fasting glucose.</i>
IE	= <i>Ion exchange</i>
IL	= <i>Interleukin.</i>
LIS	= <i>Laboratory Information System.</i>
LP	= Lingkar pinggang.
MACEs	= <i>Major adverse cardiac events.</i>
MCP	= <i>Monocyte chemoattractant protein.</i>
mg/dl	= Miligram per desiliter.
NGSP	= <i>National Glycohemoglobin Standardization.</i>
NIDDM	= <i>Non insulin dependent diabetes mellitus.</i>
OGTT	= <i>Oral glucose tolerance test.</i>
PCI	= <i>Percutaneous coronary intervention.</i>
REL	= Rasio eosinofil – leukosit.
Riskesdas	= Riset Kesehatan Dasar.
RSUD	= Rumah Sakit Umum Daerah.
STEMI	= <i>ST- elevation myocardial infarction.</i>
TBC	= <i>Tuberculosis.</i>
TGT	= Toleransi glukosa terganggu.
TNF- $\alpha$	= <i>Tumor necrosis factor-alpha.</i>
WHO	= <i>World Health Organization.</i>
$\mu$ L	= Mikro Liter

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Surat Pengajuan Penelitian .....	60
Lampiran 2. <i>Ethical Cleareance</i> .....	61
Lampiran 3. Surat Pengantar Penelitian.....	62
Lampiran 4. Surat Selesai Penelitian .....	63
Lampiran 5. <i>Quality Control</i> Leukosit.....	64
Lampiran 6. <i>Quality Control</i> Eosinofil .....	66
Lampiran 7. <i>Quality Control</i> HbA1c .....	68
Lampiran 8. Prosedur Pengambilan Darah .....	70
Lampiran 9. Prosedur Pemeriksaan Eosinofil dan Leukosit .....	71
Lampiran 10. Prosedur Pemeriksaan HbA1c.....	75
Lampiran 11. Data Subjek Penelitian .....	80
Lampiran 12. Data Karakteristik Subjek Penelitian.....	83
Lampiran 13. Hasil Uji Normalitas Data (Sebelum ditransformasi) .....	83
Lampiran 14. Hasil Uji Normalitas Data (Sesudah ditransformasi) .....	84
Lampiran 15. Hasil Analisis Data Korelasi Antara Rasio Eosinofil – Leukosit dan HbA1c Pada Pasien DM tipe 2 .....	84

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **A. Latar Belakang Masalah**

*Diabetes Mellitus* (DM) merupakan sekumpulan gejala yang disebabkan karena terjadinya peningkatan glukosa darah akibat kekurangan insulin (Hasdianah & Suprapto, 2016).

Laporan hasil dari Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2007 oleh Departemen Kesehatan, menunjukkan rata - rata prevalensi pada DM di daerah urban pada usia di atas 15 tahun sebesar 5,7%. Prevalensi terkecil berada di Propinsi Papua sebesar 1,7%, dan terbesar berada di Propinsi Kalimantan Barat dan Maluku Utara mencapai 11,1%, sedangkan prevalensi toleransi glukosa terganggu (TGT), berkisar antara 4,0% di Propinsi Papua Barat dengan rerata sebesar 10,2% di Propinsi Jambi sampai 21,8%. Data ini menunjukkan jumlah penyandang DM di Indonesia sangat besar dengan kemungkinan terjadinya peningkatan jumlah penyandang DM dimasa yang akan datang (Perkeni, 2015).

*Diabetes mellitus* tipe 2 merupakan penyakit dari gangguan metabolismik yang ditandai dengan kenaikan glukosa darah akibat penurunan sekresi insulin oleh sel beta pankreas atau resistensi insulin. Pasien dengan DM tipe 2 tetap menghasilkan insulin, akan tetapi sering terjadi keterlambatan awal dalam sekresi dan penurunan jumlah total insulin yang dilepaskan. Sel – sel tubuh terutama sel otot dan adiposa, menujukkan resistensi terhadap insulin yang bersirkulasi dalam darah. Akibatnya, pembawa glukosa yang ada pada sel tidak mampu untuk

membawa glukosa yang dapat digunakan untuk sel, karena apabila sel kekurangan, maka hati memulai proses glukoneogenesis, yang selanjutnya akan makin meningkatkan kadar glukosa darah (Corwin, 2009; Fatimah, 2015). Inflamasi kronik pada pasien DM, ditandai dengan meningkatnya produksi sitokin dan reaktan fase akut dan aktivasi sinyal inflamasi terkait dengan patogenesis DM tipe 2. Terdapat beberapa marker inflamasi misalnya *interleukin* (IL)-6 dan *C-reactive protein* (CRP). Inflamasi akan mempengaruhi sinyal insulin secara tidak langsung meningkatkan risiko DM tipe 2 tanpa adanya obesitas. Inflamasi juga memacu kematian sel beta. Namun, masih tidak jelas hubungan antara inflamasi dengan DM tipe 2 (Klotsas *et al.*, 2010).

Hemoglobin (Hb) terglikasi atau HbA1c terbentuk saat Hb bergabung dengan glukosa dalam darah, ini menjelaskan mengapa HbA1c berbeda dari kadar glukosa darah untuk mendiagnosis dan kontrol pasien DM tipe 2. Hemoglobin A1c dianggap mewakili darah rata - rata kadar gula selama lebih dari satu periode, waktu ini terbatas pada umur rata - rata sel darah merah selama 120 hari penuh. *Diabetes mellitus* tipe 2 yang terkontrol adalah kontrol DM yang dinyatakan dengan nilai HbA1c <7% dan DM tipe 2 yang tidak terkontrol adalah kontrol DM yang dinyatakan dengan nilai HbA1c  $\geq 7\%$  skala normal. Semakin tinggi tingkat HbA1c pada pasien, semakin besar risiko pengembangan komplikasi terkait DM. Peningkatan gula darah dan HbA1c yang terus - menerus meningkatkan risiko komplikasi vaskular jangka panjang DM seperti penyakit koroner, serangan jantung, stroke, gagal jantung, gagal ginjal, kebutaan, disfungsi ereksi, neuropati (Perkeni, 2015; Indranila, 2017).

Eosinofil merupakan salah satu jenis leukosit, memiliki peran penting dalam homeostasis metabolism. Respon imun dan regulasi metabolism sebagai mekanisme homeostasis yang dapat menyebabkan gangguan metabolismik kronik, khususnya pada pasien DM tipe 2. Hal ini menjelaskan bahwa eosinofil memiliki peran aktif dalam patogenesis DM tipe 2. Suatu penelitian yang dilakukan oleh Zhu *et al.*, 2013 menunjukkan adanya hubungan antara persentase eosinofil perifer, metabolisme glukosa dan resistensi insulin yang terganggu. Persentase eosinofil yang tinggi terkait dengan penurunan risiko DM tipe 2, dan risiko resistensi insulin lebih rendah. Dalam jaringan adiposa, eosinofil yang melewati darah ke jaringan adiposa, menghasilkan IL-4 dan IL-13, sitokin yang berhubungan dengan sistem kekebalan yang menyebabkan alergi tetapi juga melindungi terhadap infeksi dan parasit (Zhu *et al.*, 2013).

Leukosit adalah sel darah putih yang mengandung inti dan mempunyai peran dalam pertahanan seluler dan humoral organisme zat-zat asing. Leukosit terdiri dalam beberapa komposisi bentuk sel meliputi limfosit, monosit, basofil, eosinofil, dan neutrofil. Pemeriksaan leukosit memiliki banyak keunggulan, seperti harga yang murah, aplikasi yang lebih mudah, dan cepat untuk melihat adanya inflamasi (D'Hiru, 2013). Studi epidemiologi menunjukkan hubungan antara jumlah leukosit, sel marker *non* spesifik untuk inflamasi dengan risiko DM. Jumlah leukosit berhubungan dengan DM tipe 2 setelah menyesuaikan dengan usia, sex, merokok, indeks masa tubuh, dan lingkar pinggang (LP) (Klotsas *et al.*, 2010).

Penelitian yang dilakukan oleh Konishi *et al.*, pada tahun 2017 dengan judul *Prognostic Value of Eosinophil to Leukocyte Ratio in Patients with ST-*

*Elevation Myocardial Infarction (STEMI) Undergoing Primary Percutaneous Coronary Intervention (PCI)*, didapatkan hasil rasio eosinofil – leukosit (REL) pada 24 jam adalah prediktor *independen, major adverse cardiac events* (MACEs), diketahui bahwa STEMI merupakan kejadian inflamasi. Ada tiga mekanisme penurunan REL pada pasien yang mengalami STEMI yaitu eosinofil menempel pada trombosis koroner, peningkatan konsentrasi kortisol, dan agregasi eosinofil di tempat peradangan (Konishi *et al.*, 2017).

Penelitian Wei Xu *et al.*, tahun 2013 dengan judul *Correlation between Peripheral White Blood Cell Counts and Hyperglycemic Emergencies* menunjukkan bahwa pasien dengan diabetes ketoasidosis (DKA) dan diabetes ketosis (DK) memiliki kadar glukosa plasma yang lebih tinggi, leukosit tinggi dan eosinofil rendah, sedangkan pada *non DK* total leukosit dan eosinofil dalam kisaran normal.

Merujuk pada latar belakang di atas, dan sepengetahuan penulis belum ada yang meneliti REL pada pasien DM tipe 2, maka penulis ingin melakukan penelitian tentang korelasi antara REL dan HbA1c pada pasien DM tipe 2.

## B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, rumusan masalah yang diambil berdasarkan:

1. Penyakit DM tipe 2 mempunyai prevalensi yang tinggi dengan angka mortalitas dan morbiditas yang tinggi. *Diabetes mellitus* tipe 2 merupakan penyakit inflamasi kronik.

2. Pemeriksaan HbA1c dilakukan untuk mengetahui DM tipe 2 terkontrol dan tidak terkontrol. Peningkatan HbA1c meningkatkan risiko komplikasi DM tipe 2.
3. Jumlah leukosit total yang lebih tinggi dan jumlah eosinofil yang lebih rendah mencerminkan keadaan darurat hiperglikemik. Pemeriksaan REL merupakan pemeriksaan yang mudah, murah, dan cepat untuk melihat adanya inflamasi.

Berdasarkan hal di atas, maka pertanyaan penelitian ini adalah:

Apakah terdapat korelasi antara REL dan HbA1c pada pasien DM tipe 2?

### **C. Tujuan Penelitian**

Berdasarkan permasalahan di atas, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya korelasi antara REL dan HbA1c pada pasien DM tipe 2.

### **D. Manfaat Penelitian**

Berdasarkan permasalahan di atas, maka diharapkan penelitian ini mempunyai manfaat sebagai berikut:

#### **1. Manfaat Teoritis**

- a. Bagi pasien DM

Sebagai acuan pustaka kesehatan dalam menambah pengetahuan tentang komplikasi penyakit yang dialaminya dan efek jangka panjang akibat tidak mengontrol penyakit tersebut sehingga dapat menerapkan pola hidup sehat.

b. Bagi masyarakat

Dapat memberikan informasi tentang DM tipe 2, sehingga dapat melakukan pemeriksaan ke laboratorium sejak dini.

c. Bagi Institusi Pendidikan

Sumbangan ilmu pengetahuan dan kepustakaan Analis Kesehatan di Universitas Setia Budi Surakarta pada khususnya, serta bahan masukan untuk penelitian selanjutnya.

d. Bagi Peneliti

Menambah pengetahuan dan wawasan tentang DM tipe 2, serta mengetahui adanya korelasi antara REL dan HbA1c pada pasien DM tipe 2.

## **2. Manfaat Praktis**

a. Bagi Pasien DM

Sebagai masukan dalam mengupayakan langkah – langkah kesehatan untuk mencegah komplikasi dan inflamasi penyakit DM tipe 2.

b. Bagi Masyarakat

Sebagai masukan bagi masyarakat untuk mengatur pola hidup sehat dalam keseharian agar tidak terjadi manifestasi klinik.

c. Bagi Peneliti

Sebagai proses belajar serta menambah pengalaman diri bertindak secara sistematis dalam menerapkan pola hidup sehat.

## E. Keaslian Penelitian

**Tabel 1. Keaslian penelitian**

No	Judul	Sampel	Populasi	Hasil
1	Konishi <i>et al.</i> , 2017. <i>Prognostic Value of Eosinophil to Leukocyte Ratio in Patients With ST-Elevation Myocardial Infarction Undergoing Primary Percutaneous Coronary Intervention.</i> <i>Atheroscler Thromb. 24:827-840.</i>	331 data pasien berturut-turut yang menjalani PCI primer untuk STEMI di Hokkaido <i>Cardiovascular Hospital</i> antara Januari 2009 dan Maret 2015. Mengecualikan pasien yang terkena infeksi, penyakit alergi, dirujuk ke rumah sakit lebih dari 48 jam setelah permulaan STEMI, meninggal dalam waktu 24 jam setelah masuk rumah sakit.	360 data pasien yang menjalani PCI untuk STEMI.	Rata-rata REL secara signifikan lebih rendah pada pasien dengan MACEs dibandingkan pada pasien tanpa MACEs ( $0,20 \pm 0,51$ dan $0,49 \pm 0,66$ ; $p <0,001$ ). Pada pasien PCI primer dengan STEMI, REL pada 24 jam adalah prediktor independen MACEs selain faktor risiko koroner biasa dan biomarker yang umum digunakan.
2	Xu <i>et al.</i> , 2013. <i>Correlation between Peripheral White Blood Cell Counts and Hyperglycemic Emergencies.</i> <i>International Journal of Medical Sciences.</i> 10(6):758-765.	50 data pasien yang melakukan pemeriksaan di endokrinologi dan gawat darurat, RS. Huai'an, China dari Januari 2010- Juni 2012.	Pasien Diabetes Ketoasidosis (DKA), 50 pasien dengan Diabetes Ketosis (DK), 50 Pasien diabetes non - DK dengan kontrol glikemik yang stabil, dan 50 kontrol normal.	Pasien dengan DKA dan DK memiliki kadar glukosa plasma yang lebih tinggi, leukosit tinggi dan eosinofil rendah, sedangkan pada non DK total leukosit dan eosinofil dalam kisaran normal. dengan $r= 0,722$ .
3	Klotsas <i>et al.</i> , 2010. <i>Differential White Blood Cell Count and Type 2 Diabetes: Systematic Review and Meta-Analysis of Cross-Sectional and Prospective Studies.</i> <i>Plos One.</i> Vol 5(10):e13405.	Data penelitian pada pasien DM tipe 2 dengan mengecualikan pasien riwayat stroke, dan infark miokard. Sehingga didapatkan sampel sebanyak 2.460.	20 penelitian diidentifikasi sebanyak 8.647 kasus DM tipe 2, pria, dan wanita berumur 40-79 tahun.	Percentase Leukosit adalah 1,61 (95% CI: 1,45; 1,79, $p= 1.5*10^{-18}$ ). Granulosit 1,38 (95% CI: 1,17; 1,64, $p=1.5*10^{-4}$
4.	Zhu <i>et al.</i> , 2013. <i>Eosinophil Inversely Associates with Type 2 Diabetes and Insulin Resistance in Chinese Adults.</i> <i>Plos One.</i> Vol 8(7):e67613.	Pasien DM tipe 2 di kabupaten Jiading Shanghai, China dari bulan Maret – Agustus 2010 mengecualikan pasien dengan riwayat penyakit autoimun, dan riwayat gangguan pernafasan sehingga didapatkan sampel sebanyak 9.111.	Pasien DM tipe 2, pria, dan wanita berumur $<40$ tahun dan didapatkan sebanyak 10.375 orang.	Prevalensi DM tipe 2 menurun pada persentase eosinofil (21,3%, 18,2% dan 16,9%, $P<0,0001$ ). Masing-masing kenaikan persentase eosinofil berhubungan terbalik dengan risiko DM tipe 2 bila tidak hanya mengacu pada toleransi glukosa normal, (ratio odds (OR) 0,81, 95% CI 0,76-0,87, $P<0,0001$ ).

No	Judul	Sampel	Populasi	Hasil
5.	Biadgo <i>et al.</i> , 2015. <i>Hematological Indices and their Correlation with Fasting Blood Glucose level and anthropometric Measurements in Type 2 Diabetes Mellitus Patients in Gondar, Northwest Ethiopia.</i> Dovepress. Vol 2016;9: Hal 91-99.	Pasien DM tipe 2 dan pasien kontrol di RS. Universitas Gondar, Ethiopia. pada bulan Februari- April 2015 dengan mengecualikan partisipan dengan penyakit komplikasi kronik, sehingga didapatkan sampel sebanyak 148.	Pasien DM tipe 2 dan pasien kontrol. Pria dan wanita berumur 25 dan 70 tahun dengan mengecualikan 25 dan 70 tahun dengan mengecualikan partisipan dengan penyakit komplikasi kronik, sehingga didapatkan sampel sebanyak 296 orang yang berpartisipasi.	Pada pasien DM tipe 2 dan pasien kontrol, total jumlah leukosit adalah $10^3/\mu\text{L}$ ( $6.59 \pm 1.42$ dan $5.56 \pm 1.38$ ). Leukosit ditemukan meningkat pada pasien DM tipe 2.

Pada tabel keaslian penelitian tersebut diatas, penelitian yang dilakukan oleh Konishi *et al.*, 2017 menggunakan dua variabel (rasio eosinofil dan leukosit) pada pasien STEMI. Penelitian yang dilakukan oleh Xu *et al.*, 2013 menggunakan dua variabel (eosinofil dan leukosit) pada pasien DKA, DK, dan non DK. Penelitian yang dilakukan oleh Klotzas *et al.*, 2010 menggunakan dua variabel (eosinofil dan leukosit) pada pasien DM tipe 2. Penelitian yang dilakukan oleh Zhu *et al.*, 2013 menggunakan satu variabel (eosinofil) pada pasien DM tipe 2. Penelitian yang dilakukan oleh Biadgo *et al.*, 2015 menggunakan satu variabel (leukosit) pada pasien DM tipe 2 dan pada pasien kontrol. Penelitian ini berbeda dengan penelitian sebelumnya, karena mengkorelasikan variabel REL dan HbA1c pada subjek DM tipe 2 baik itu rawat jalan maupun rawat inap.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Tinjauan Pustaka**

##### **1. *Diabetes Mellitus***

###### **a. Definisi**

*Diabetes mellitus* merupakan suatu penyakit dengan kejadian hiperglikemia yang disebabkan oleh kelainan sekresi insulin dan kerja insulin (Perkeni, 2015).

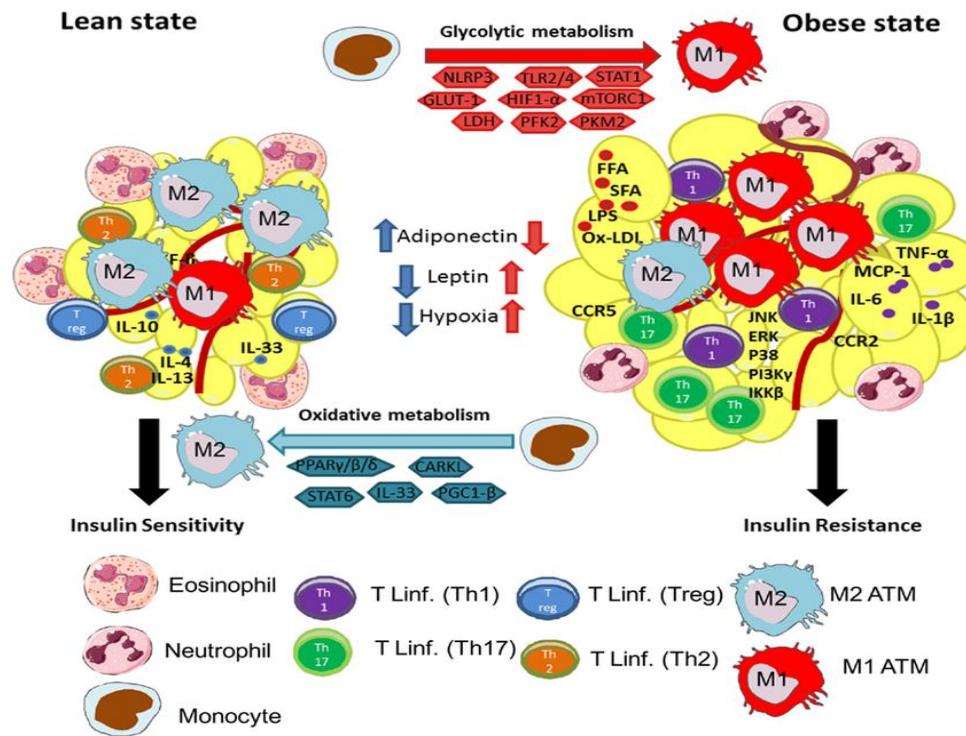
###### **b. Prevalensi**

Kejadian DM tipe 2 pada wanita lebih tinggi daripada laki – laki, wanita lebih berisiko mengidap DM karena secara fisik wanita memiliki peluang peningkatan indeks masa tubuh yang lebih besar. Hasil Riskesdas pada tahun 2008, menunjukkan prevalensi DM di Indonesia sebesar 57% pada tahun 2012 angka kejadian DM di dunia adalah sebanyak 371 juta jiwa, proporsi kejadian DM tipe 2 adalah 95% dari populasi dunia yang menderita DM dan hanya 5% dari jumlah tersebut yang menderita DM tipe 1 (Fatimah, 2015).

###### **c. Patofisiologi**

Pada perkembangan DM tipe 2, sel beta mengalami gangguan sekresi insulin, artinya sekresi insulin gagal mengkompensasi resistensi insulin. Pada perkembangan selanjutnya sel – sel beta pankreas akan mengalami kerusakan (Fatimah, 2015).

Resistensi insulin pada otot dan lever serta kegagalan sel beta pankreas dikenal sebagai patofisiologis kerusakan dari DM tipe 2. Belakangan diketahui bahwa kegagalan sel beta terjadi lebih dini dan lebih berat daripada yang diperkirakan sebelumnya. Selain otot liver dan sel beta, organ lain seperti jaringan lemak, gastrointestinal, sel *alpha pancreas*, ginjal, dan otak, semuanya ikut berperan menimbulkan gangguan toleransi glukosa pada DM tipe 2 (Perkeni, 2015).



**Gambar 1. Skema pembentukan DM sampai terjadi inflamasi dan komplikasi (Castoldi *et al.*, 2016)**

Penanda inflamasi sistemik adalah faktor risiko untuk perkembangan DM tipe 2 dan komplikasi mikro dan makrovaskular. Jaringan adiposa, hati, otot dan pankreas adalah tempat peradangan DM tipe 2 (lihat Gambar 1). Infiltrasi makrofag dan sel kekebalan lainnya

diamati pada jaringan ini yang terkait dengan sel yang bergeser dari anti-inflamasi ke profil pro-inflamasi. Infiltrasi makrofag ke jaringan adiposa menyebabkan resistensi insulin. Pada jaringan adiposa, makrofag M2 (anti-inflamasi) yang berkontribusi pada sensitivitas insulin dengan mensekresikan (IL)-10. Sel-sel ini sangat penting untuk produksi sitokin pro-inflamasi, yang bekerja secara autokrin dan parakrin untuk mengganggu sinyal insulin di jaringan perifer atau menginduksi disfungsi sel beta dan kekurangan insulin berikutnya. Hipertrofi adiposit, akan menginduksi sekresi *monocyte chemoattractant protein* (MCP)-1 pada sirkulasi. Makrofag M1 teraktivasi, secara kuat mensekresikan sitokin pro-inflamasi seperti *tumor necrosis factor-alpha* (TNF- $\alpha$ ), IL-6, dan MCP-1, sehingga berkontribusi pada peradangan tingkat rendah pada saat yang sama, sitokin yang diseekresikan, ini menyebabkan resistensi insulin pada otot dan hati dengan bertindak sebagai adipokin yang menghambat insulin (Tateya *et al.*, 2013).

#### **d. Etiologi**

*Diabetes mellitus* terjadi jika tubuh tidak menghasilkan insulin yang cukup untuk mempertahankan gula darah yang normal. Pasien DM tipe 1 menghasilkan sedikit insulin atau sama sekali tidak menghasilkan insulin. Sebagian besar DM tipe 1 terjadi sebelum usia 30 tahun. Para ilmuwan percaya bahwa faktor lingkungan menyebabkan sistem kekebalan, menghancurkan sel penghasil insulin di pankreas. Pada DM

tipe 2 (DM yang tidak tergantung pada insulin) pankreas tetap menghasilkan insulin, kadang kadarnya lebih tinggi dari normal tetapi tubuh membentuk kekebalan pada efeknya, sehingga terjadi kekurangan insulin relatif. Faktor risiko untuk DM tipe 2 adalah obesitas, lingkungan, dan gaya hidup (Irianto, 2015).

#### e. Klasifikasi DM

##### 1) *Diabetes Mellitus Tipe 1*

*Diabetes mellitus* tipe 1 adalah suatu penyakit hiperglikemia akibat ketiadaan insulin, dahulu tipe ini disebut *insulin dependent diabetes mellitus* (IDDM), karena individu pengidap penyakit ini harus mendapatkan insulin pengganti. Sel - sel beta rusak, sehingga terjadi defisiensi insulin. Sebagian besar kasus ini adalah karena proses imunologik walaupun sebagian kecil bersifat idiopatik. Jika tubuh sama sekali tidak dapat memproduksi insulin, gejalanya akan cepat terasa karena tidak ada kontrol gula darah (Bilous, 2002).

##### 2) *Diabetes Mellitus Tipe 2*

*Diabetes mellitus* tipe 2 memiliki komponen resistensi insulin di tingkat jaringan dan defisiensi insulin relatif. Tipe ini dahulu disebut *non insulin dependent diabetes mellitus* (NIDDM). Tidak banyak protein dan lemak yang dihancurkan, sehingga produksi keton pun tidak banyak. Pada DM tipe 2, jumlah insulin normal tetapi jumlah reseptor insulin yang terdapat pada permukaan sel kurang sehingga

glukosa yang masuk ke dalam sel sedikit sehingga glukosa dalam darah menjadi meningkat. Ribuan orang menderita DM, namun banyak diantara mereka tidak menyadari mengidap DM. *Diabetes mellitus* tipe 2 lebih banyak diderita wanita daripada pria dan umumnya terjadi pada umur > 45 tahun (Corwin, 2009).

### 3) *Diabetes Mellitus Gestasional*

*Diabetes mellitus* gestasional adalah DM yang terjadi pada wanita hamil yang sebelumnya tidak mengidap DM. Sebagian besar perempuan dengan DM gestasional akan memperlihatkan kadar glukosa ke normal setelah persalinan, tetapi banyak yang tetap berisiko mengidap DM pada masa mendatang. Penyebab DM gestasional berkaitan dengan peningkatan kebutuhan energi dan kadar estrogen serta hormon pertumbuhan yang terus meningkat selama kehamilan (Sacher, 2004).

#### f. Diagnosis

*Diabetes mellitus* dapat didiagnosis berdasarkan kriteria glukosa plasma, baik glukosa darah puasa (GDP), *Fasting plasma glucose* (FPG) atau glukosa darah 2 jam *post prandial* (GD2JPP) selama tes toleransi glukosa 75 gram *oral glucose tolerance test* (OGTT), atau kriteria HbA1c (lihat Tabel 2). Efektivitas intervensi untuk pencegahan primer DM tipe 2 terdapat pada individu yang memiliki toleransi glukosa terganggu dengan atau tanpa peningkatan glukosa puasa, dan tidak untuk

individu dengan *impaired fasting glucose* (IFG) atau prediabetes yang didefinisikan dari kriteria HbA1c (*American Diabetes Association*, 2018). Pemeriksaan yang sama dapat digunakan untuk menyaring dan mendiagnosa DM dan untuk mendeteksi individu dengan prediabetes (lihat Tabel 3).

**Tabel 2. Kriteria diagnosis DM**

Kriteria untuk diagnosis DM
FPG $\geq$ 126 mg/dL (7,0 mmol/L). Puasa didefinisikan sebagai tidak ada asupan kalori minimal 8 jam.
ATAU
2-h PG $\geq$ 200mg/dL (11,1 mmol/L) selama OGTT. Tetap dibentuk sesuai yang dicantumkan oleh <i>World Health Organization</i> (WHO), dengan menggunakan bahan baku yang mengandung air yang seimbang antara 75 gram glukosa tidak terlarut dalam air.
ATAU
HbA1C $\geq$ 6,5% (48 mmol /mol). Pengujian harus dilakukan di laboratorium dengan menggunakan metode yang diberi sertifikat <i>National Glycohemoglobin Standardization Program</i> (NGSP) dan distandardisasi pada uji <i>Diabetes Control and Complications Trial</i> (DCCT).
ATAU
Pada pasien dengan gejala klasik hiperglikemia atau hiperglikemik, glukosa plasma sebesar $\geq$ 200 mg/dL (11,1 mmol /L).

**(Sumber: ADA, 2018).**

*Diabetes mellitus* dapat diidentifikasi pada individu yang berisiko rendah yang melalui pemeriksaan glukosa, pada individu yang diperiksa berdasarkan assesmen risiko DM dan pada pasien asimptomatis. Jika pasien memiliki hasil dari dua tes yang berbeda, maka hasil tes yang berada di atas titik potong diagnostik harus diulang, dengan pertimbangan kemungkinan gangguan uji HbA1c (ADA, 2018).

Pada pasien dengan gejala klasik, pengukuran glukosa plasma cukup untuk mendiagnosis DM [gejala hiperglikemia atau krisis hiperglikemik ditambah glukosa plasma  $\geq 200$  mg/dL (11,1 mmol/L)]. Dalam kasus ini, mengetahui kadar glukosa plasma sangat penting sebab selain untuk memastikan bahwa gejala tersebut disebabkan oleh DM, juga untuk menginformasikan manajemen selanjutnya (ADA, 2018).

**Tabel 3. Kategori peningkatan risiko DM (prediabetes)**

**Kategori Peningkatan Risiko DM (Prediabetes)**

FPG 100 mg /dL (5,6 mmol /L) - 125 mg / dL (6,9 mmol /L) (IFG)  
**ATAU**  
 2-h PG selama 75g OGTT 140 mg / dL (7,8 mmol / L) - 199 mg /dL (11,0 mmol / L) (IGT).  
**ATAU**  
 HbA1c 5,7 – 6,4 % (39 – 47 mmol/ mol).

(Sumber: ADA, 2018).

#### **g. Komplikasi kronis**

### **1) Mikrovaskular**

a) Komplikasi ginjal

Pada pasien *diabetes mellitus*, nefron menebal dan perlahan – lahan menjadi jaringan parut (seperti pada bekas luka) ginjal menjadi bocor dan protein (albumin) keluar melalui urine (Waspadji *et al.*, 2014).

b) Masalah pada retina mata

Masalah pada retina mata sering disebut sebagai retinopati.

## **2) Makrovaskular**

Jantung koroner, pada penyakit jantung koroner bahan yang dinamakan “plak” terbentuk di dinding anti koroner, yaitu arteri yang

mensuplai otot jantung dengan darah yang banyak mengandung oksigen (Waspadji *et al.*, 2014).

## 2. HbA1c

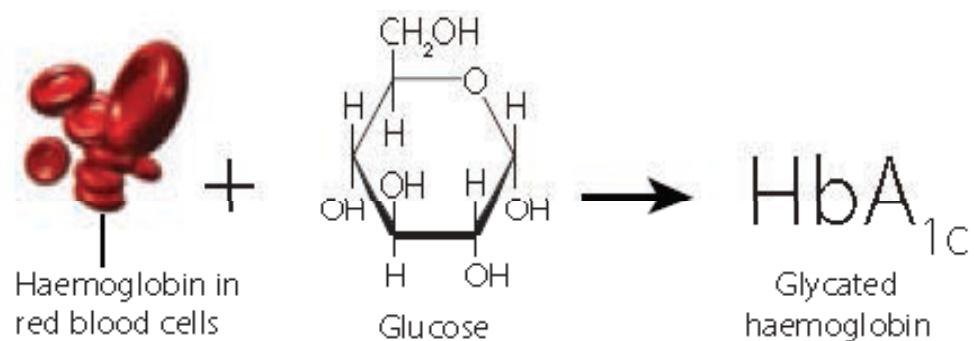
Hemoglobin A<sub>1</sub> (HbA<sub>1</sub>) adalah derivat *adult* Hb (HbA), dengan penambahan monosakarida (fruktosa atau glukosa). Hemoglobin A1c merupakan subtipe utama, dan terbanyak yaitu sekitar 4 - 5% dari total Hb. Hemoglobin A1c merupakan ikatan antara Hb dan heksosa lain. Struktur molekuler HbA1c adalah N-(1-doxy)-frictosyl- Hb atau N-(1-deoxyfructose-1-yl) Hb beta *chain* (Paputungan dan Sanusi, 2014).

Secara sistematis dari 44.203 individu dari 16 studi dengan *interval follow up* rata-rata 5,6 tahun (kisaran 2,8-12 tahun), mereka dengan HbA1c antara 5,5 dan 6,0% (antara 37 dan 42 mmol/mol) memiliki peningkatan risiko DM secara substansial (5 kejadian tahun 9 sampai 25%). Mereka dengan kisaran HbA1c 6,0 - 6,5% (42- 48 mmol/mol) memiliki risiko DM 5 tahun antara 25 dan 50% dan risiko relatif 20 kali lebih tinggi dibandingkan dengan HbA1c 5,0% (31 mmol/mol) (ADA, 2018).

Hemoglobin A1c terbentuk (lihat Gambar 2) dari ikatan glukosa dengan gugus amida pada asam amino valin di ujung rantai beta dari globulin Hb dewasa normal yang terjadi pada 2 tahap. Tahap pertama terjadi ikatan kovalen aldimin berupa *schiff base* yang bersifat stabil dan tahap kedua terjadi penyusunan kembali secara *amadori rearrangement* menjadi bentuk ketoamin yang stabil. Pada keadaan hiperglikemik akan meningkatkan pembentukan

*schiff base* antara gugus aldehid glukosa dengan residu lisin, arginin, dan histidin (Kusniyah *et al.*, 2010).

Selain itu, produk glikolisis kolagen dan protein lain di dalam dinding pembuluh darah mengalami pembentukan *advanced glycosylation end products* (AGE) yang dapat menyebabkan perubahan jaringan dan vaskular. Glikasi juga dapat terjadi pada residu lisin tertentu dari Hb terglikasi yang dapat diukur yang dikenal dengan nama HbA1c. Hemoglobin A1c tidak dikatalisis oleh enzim, tetapi melalui reaksi kimia akibat paparan glukosa yang beredar dalam darah terhadap eritrosit. Hemoglobin bercampur dengan larutan kadar glukosa tinggi. Laju sintesis HbA1c merupakan fungsi konsentrasi glukosa yang terikat pada eritrosit selama pernapasan. Konsentrasi HbA1c tergantung konsentrasi glukosa darah dan umur eritrosit (Paputungan dan Sanusi, 2014).



**Gambar 2. Proses Pembentukan HbA1c (Paputungan dan Sanusi, 2014).**

Pembentukan HbA1c terjadi dengan lambat yaitu selama 120 hari, tingkat HbA1c pada setiap titik waktu dikontribusikan oleh semua eritrosit yang bersirkulasi, dari yang tertua (120 hari) sampai yang termuda. Namun, HbA1c adalah rata-rata kadar glukosa darah selama 120 hari sebelumnya,

yang berarti bahwa kadar glukosa dalam 30 hari sebelumnya berkontribusi secara substansial lebih pada tingkat HbA1c, daripada kadar glukosa 90-120 hari sebelumnya. Ini menjelaskan mengapa tingkat HbA1c dapat meningkat atau menurun relatif cepat dengan perubahan glukosa yang besar, tidak memerlukan waktu 120 hari untuk mendeteksi perubahan bermakna pada HbA1c setelah perubahan *average glucose* (AG) yang signifikan secara klinis (NGSP, 2010).

Kontrol gula darah merupakan fungsi utama dalam manajemen. Hemoglobin A1c umumnya digunakan sebagai indeks standar emas kontrol glikemik gula darah yang baik dapat mengendalikan penyakit DM, sehingga mencegah komplikasi mikrovaskular dan makrovaskular DM. *Diabetes Mellitus* tipe 2 yang terkontrol adalah kontrol DM yang dinyatakan dengan nilai HbA1c <7% dan DM tipe 2 yang tidak terkontrol adalah kontrol DM yang dinyatakan dengan nilai HbA1c  $\geq 7\%$  skala normal. Pemeriksaan HbA1c sebaiknya dilakukan setiap 3 bulan sekali (ADA, 2018).

Persamaan regresi dari *International A1c-derived average glucose* (ADAG) memberikan nilai *estimated average glucose* (eAG) yang lebih rendah dibandingkan dengan persamaan yang digunakan secara luas yang berasal dari DCCT, dan penyebaran regresi kurang luas (lihat Tabel 4) (NGSP, 2010).

Pada beberapa keadaan HbA1c tidak dapat mencerminkan kontrol glukosa darah. Hal ini penting diketahui karena dapat menyebabkan *under* atau *over treatment* yang dapat meningkatkan kadar HbA1c dari nilai

sebenarnya yaitu anemia defisiensi besi, usia, polisitemia rubra/vera, kadar ureum darah yang tinggi, hipertrigliseridemia berat. Faktor yang dapat menurunkan kadar HbA1c dari nilai sebenarnya adalah setelah transfusi darah, kehilangan darah, penyakit ginjal, hemolisis, thalasemia (Paputungan, dan Sanusi, 2014).

**Tabel 4. Hubungan antara HbA1c dan rata – rata glukosa**

HbA1c (%)	eAG(mg/dL)	eAG(mmol/l)
5	97	5,4
6	126	7,0
7	154	8,6
8	183	10,2
9	212	11,8
10	240	13,4
11	269	14,9
12	298	16,5

(Sumber: NGSP, 2010).

#### a. Metode Pemeriksaan HbA1c

##### 1) *Cappillary Elektrophoresis* (CE)

Elektroforesis adalah migrasi muatan zat yang terlarut atau partikel medan listrik. *Iontophoresis* mengacu pada migrasi ion kecil, sedangkan zona elektroforesis adalah muatan migrasi makro molekul dalam media pendukung berpori seperti kertas, selulosa asetat, atau *film gel agarosa*. Elektroforesis terdiri dari lima komponen yaitu penggerak (daya listrik), media dukungan, *buffer*, sampel, dan sistem pendekripsi. Muatan partikel bermigrasi ke arah elektroda secara cepat. Kecepatan migrasi dikendalikan oleh muatan bersih dari partikel, ukuran dan bentuk partikel, kekuatan medan listrik, kimia, sifat fisik dari media pendukung, dan suhu elektroforesis (Bishop *et al.*, 2010).

Pemeriksaan HbA1c dengan metode CE menggunakan prinsip pemisahan komponen Hb berdasarkan mobilitas elektroforesis, didasari dengan kedua muatan (muatan positif adalah sampel dan negatif adalah *buffer*) dan ukuran hidronamik (massa). *Power supply* bertegangan tinggi pada metode CE berfungsi untuk menghasilkan medan listrik yang memfasilitasi molekul untuk bermigrasi melalui pipa kapiler dari anoda ke katoda (Rhea dan Molinaro, 2014).

Pemisahan yang dilakukan dengan menggunakan CE umumnya sangat efisien dan cepat. *Capillary elektrophoresis* secara luas telah digunakan dan menunjukkan teknik pemisahan yang cepat dan tepat, oleh karena itu CE merupakan teknik yang ideal untuk analisis multikomponen. *Capillary electrophoresis* lebih menguntungkan daripada *high performance liquid chromatography* (HPLC) dalam hal konsumsi pelarut, *volume* sampel kecil dan analisis waktu lebih pendek, akan tetapi teknik ini memiliki masalah terhadap hasil, jika *volume* injeksi yang digunakan terlalu kecil (Suardi *et al.*, 2013; Wasielwska *et al.*, 2014).

## 2) *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC)

*High performance liquid chromatography* (HPLC) adalah sebuah prosedur kromatografi spesimen. Prinsip kerja dari metode ini adalah spesimen dipompa melalui sebuah kolom yang berisi sebuah fase diam bersama – sama dengan *eluent* (Teolinda, 2015).

Pertukaran ion exchange (IE) atau HPLC saat ini merupakan jenis metode HbA1c yang paling umum digunakan dalam laboratorium

klinik. Pertukaran ion HPLC memisahkan komponen Hb berdasarkan perbedaan muatan, dan merupakan model yang sangat canggih yang dapat digunakan untuk memisahkan produk Hb (Rhea dan Molinaro, 2014).

Metode HPLC mampu mendeteksi Hb abnormal dan memiliki reproduksibilitas yang baik dengan *coefficient of variation (CV) < 1%*, salah satu contoh alat dari metode ini adalah *Arkray*. Kelemahan metode ini adalah memerlukan alat yang khusus, tenaga yang ahli dan waktu yang lama sehingga tidak bisa digunakan di rumah sakit dengan sampel pemeriksaan HbA1c yang banyak (Sakurabayashi *et al.*, 2003).

Metode HPLC merupakan metode baku emas untuk pemeriksaan HbA1c. Menurut Perkeni 2015: pemeriksaan HbA1c  $\geq 6,5\%$  untuk kriteria diagnosis DM menggunakan metode yang terstandarisasi oleh NGSP (Paputungan dan Sanusi, 2014).

### 3) *Immunoassay*

Metode *immunoassay* yang tersedia umumnya adalah EIA (*Enzyme immunoassay*) dan *latex inhibition immunoassay*. Metode *enzyme immunoassay* menggunakan poliklonal atau monoklonal antibodi yang spesifik terhadap N-terminal *valin* pada rantai beta HbA1c. Alat ukur yang ada pada umumnya berdasarkan *micro titer plates*. Metode *immunoassay* dapat digunakan pada instrumen otomatik, tidak memerlukan tenaga ahli serta hemat waktu namun kekurangannya pengukuran HbA1c dan Hb total mesti terpisah dan reproduksibilitas tidak sebaik metode HPLC dengan CV sekitar 3-5%.

Selain itu kurva kalibrasi tidak stabil untuk 24 jam sehingga perlu dikalibrasi lagi (Sakurabayashi *et al.*, 2003).

#### 4) *Boronate Affinity Chromatography*

Kromatografi afinitas boronat didasarkan pada penggunaan “interaksi biologis” untuk pemisahan dan analisis analitik spesifik dalam sampel. Pada HbA1c, kromatografi afinitas boronat merupakan metode glikasi spesifik yang didasarkan pada pengikatan boronat yang dibentuk oleh glukosa secara stabil pada Hb. Dengan demikian metode ini mengukur keempat spesies secara stabil. Ukuran untuk gabungan dari keempat spesies yang stabil disebut sebagai “Total HbA1c” atau sering disebut sebagai “*True HbA1c*”. Dua fraksi yang ada dalam metode ini (glikasi dan *non-glikasi*), kemudian dibandingkan secara total dan hasilnya dinyatakan sebagai % HbA1c. Secara garis besar untuk deteksi HbA1c adalah 5,3% sampai 17% (Gupta *et al.*, 2017).

### 3. Eosinofil

Eosinofil merupakan leukosit yang memiliki 2 lobus inti yang saling berhubungan dengan benang – benang kromatin dan sitoplasma. Jumlahnya 1-2% dari total leukosit. Eosinofil menghasilkan substansi yang memodifikasi reaksi alergi dan menyerang organisme patogenik. Eosinofil bertambah pada serangan asma, reaksi obat – obatan, investasi parasit. Eosinofil berperan dalam sistem kekebalan dengan melawan parasit multiseluler dan beberapa infeksi (D’Hiru, 2013).

Eosinofil memiliki inti yang tidak teratur (lihat Gambar 3) yang sangat mirip dengan neutrofil tetapi, granula sitoplasmanya berwarna merah cerah

dengan zat warna eosin dan jauh lebih mencolok dari granula neutrofil yang berwarna lembayung (Kiswari, 2014).

Eosinofil terbentuk pada proses hematopoiesis yang terjadi pada sumsum tulang, dan membutuhkan waktu sekitar 8 hari untuk proses pematangannya. Setelah matang, eosinofil akan berpindah ke aliran darah, mengalir dalam pembuluh darah selama 8 – 12 jam. Jika suatu bahan asing masuk ke dalam tubuh, akan terdeteksi oleh limfosit dan neutrofil, yang akan melepaskan bahan untuk menarik eosinofil ke daerah ini. Eosinofil akan melepaskan bahan racun yang dapat membunuh parasit dan menghancurkan sel – sel abnormal. Eosinofil mengandung sejumlah zat kimiawi antara lain histamin, eosinofil peroksidase, ribonuklease, deoksiribonuklease, lipase, plasminogen, dan beberapa asam amino. Zat – zat ini bersifat toksin terhadap parasit dan jaringan tubuh. Eosinofil menghasilkan substansi yang memodifikasi reaksi alergi dan menyerang organisme patogenik (Irianto, 2015).



**Gambar 3. Eosinofil (Theml et al., 2004).**

Perkembangan dan pematangan eosinofil juga dapat terjadi di lokasi perifer (*extramedullary*) di luar sumsum tulang. Dalam kasus ini, prekursor

eosinofil dilepaskan ke aliran darah langsung dari sumsum tulang untuk diedarkan ke tempat yang secara khusus melakukan transmigrasi sebagai respon terhadap sitokin dan kemokin yang diproduksi secara lokal. Hal ini dapat memberikan mekanisme alternatif untuk bertahannya atau akumulasi eosinofil jaringan seperti neutrofil. Eosinofil adalah sel stadium akhir yang dalam kultur cepat mengalami kematian sel oleh apoptosis atau nekrosis. Namun, sitokin eosinofil aktif, memperpanjang kelangsungan hidup eosinofil dalam kultur sampai 2 minggu. Eosinofil yang diaktivasi dapat menghasilkan sejumlah sitokin sendiri secara *in vitro*. Hal ini dapat menyebabkan pemanjangan pematangan eosinofil secara *autokrin* dan kelangsungan hidup pada jaringan (Greer *et al.*, 2014).

Eosinofil meningkat pada serangan asma, reaksi obat – obatan, infestasi parasit, serta keadaan alergi. Eosinofil juga akan bertambah pada wanita yang sedang menstruasi, berbagai macam iritasi atau inflamasi, kerusakan tulang dan penyakit degeneratif. Jumlah eosinofil yang sangat tinggi terkadang disertai anemia dan trombositopenia yang merupakan sindrom idiopatik hiperesinosofilik. Gambaran klinisnya kehilangan berat badan, demam, berkeringat di malam hari, membengkaknya limfa, serta kerusakan paru – paru dan jantung (D’Hiru, 2013).

#### a. Metode Pemeriksaan Eosinofil

##### 1) Hitung Diffcount Manual Dengan Apusan Darah Tepi (ADT)

Bahan pemeriksaan yang digunakan berasal dari darah kapiler atau vena, dan pada keadaan tertentu dapat pula digunakan darah *ethylene diamine tetra acid* (EDTA). Setiap metode memiliki

kelebihan dan kekurangan yang spesifik. Menghitung jumlah berbagai jenis sel darah dapat dimanfaatkan untuk menentukan karakteristik morfologis darah. Hitung jenis ini dilakukan dengan prosedur tertentu, yaitu mengoleskan setetes darah kapiler dari ujung jari atau dari cuping telinga. Setelah itu dengan hati – hati ditipiskan diatas *object glass* (gelas objek) dan membuat apusan. Kemudian dilakukan pengecatan dengan pewarnaan *wright* atau *May-Grunwald-Giemsa*. Setelah itu dilakukan pemeriksaan dibawah mikroskop dengan perbesaran 100x dengan menggunakan minyak imersi. Pembuatan ADT atau pewarnaan yang tidak baik dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan, penyebaran sel – sel darah yang tidak merata dan pewarnaan yang terlalu tebal membuat pembacaan sediaan menjadi terganggu (D'Hiru, 2013).

Pewarnaan tersebut, merupakan modifikasi dari prosedur *Romanowsky*. Pewarnaan dasar diformulasikan dari metilen *blue* dan eosin. Pewarnaan *wright* menggunakan sodium *bicarbonate*. Pewarnaan Giemsa menggunakan sejumlah dari asam bichromat untuk membentuk senyawa biru yang telah dikonversi. Semua jenis pewarnaan *Romanowsky* adalah berupa air yang tidak larut namun bisa larut dalam metil alkohol. Eosin bereaksi dengan elemen seluler dasar, memberikan warna kemerahan pada komponen sitoplasma dan hb. Slide yang baik memiliki warna merah muda, dan leukosit memiliki inti biru keunguan. Jika sel terlihat dengan warna biru yang berlebihan,

hal ini disebabkan oleh pewarnaan yang berlebihan (Marchant *et al.*, 2012).

Sistem otomatis memiliki keuntungan yang cepat menganalisis jumlah sel yang lebih banyak dan secara signifikan mengurangi kesalahan statistik dalam menghitung. Kekurangannya adalah bila ada sel yang termasuk kategori yang tidak diklarifikasi sehingga sulit untuk ditafsirkan, ketika terjadi kondisi yang abnormal. Akibatnya, ADT tetap harus dibuat dan diperiksa. Jenis Leukosit secara sistematis dihitung pada setiap lapang pandang dengan pengecatan hingga ditemukan sejumlah 100 leukosit. Nilai normal dari hitung jenis eosinofil absolut :  $50 - 300 \times 10^3/\mu\text{L}$  (Kiswari, 2014).

## 2) Metode otomatik

Metode otomatik dengan melihat diferensial leukosit telah dikembangkan secara nyata untuk mengurangi waktu dan biaya pemeriksaan rutin serta meningkatkan akurasi. Namun, metode otomatik ini tidak mampu mengidentifikasi dan mengklasifikasi semua jenis sel dengan akurat, serta sangat tidak sensitif terhadap sel abnormal atau belum matang. Oleh karena itu, untuk mengidentifikasi populasi sel darah leukosit yang ada, perlu pemeriksaan oleh ahli morfologi yang terampil. Instrumen yang lebih baru juga dapat melakukan pengujian lebih khusus, seperti jumlah retikulosit, perhitungan diferensial sel leukosit yaitu neutrofil, limfosit, monosit, eosinofil, dan basofil (Greer *et al.*, 2014).

Metode otomatik yaitu metode *impedance* dengan perubahan ketahanan listrik dan menggunakan perbedaan dengan sifat hamburan cahaya. Awalnya, jenis ini memunculkan perbedaan tiga bagian yang hanya menghitung neutrofil, monosit, dan limfosit. Jumlah ini didasarkan pada sel-sel putih yang telah dilisiskan. Jenis teknologi ini baik dalam menghitung neutrofil dan limfosit, dengan tingkat korelasi yang tinggi antara penentuan manual dan instrumen, namun kurang efektif pada jumlah eosinofil, basofil, limfosit, granulosit belum matang, sel plasma, serta jumlah sel lebih rendah (Marchant *et al.*, 2012).

Kemajuan teknologi lain yang baru dalam analisis hematologi adalah metode *flow cytometry*, ketika sel mengalir melewati celah maka berkas cahaya akan difokuskan ke *sensing* area yang ada pada *aperture* tersebut. Metode perhitungan diferensial otomatik cenderung lebih akurat karena jumlah sel yang jauh lebih banyak dievaluasi, dengan CV 3 - 5%. Tingkat presisi tertinggi terjadi ketika sejumlah besar sel dapat dievaluasi. Jelas, metode otomatis lebih unggul daripada metode manual untuk menghitung sejumlah besar sel dan meminimalkan kesalahan (Greer *et al.*, 2014).

#### 4. Leukosit

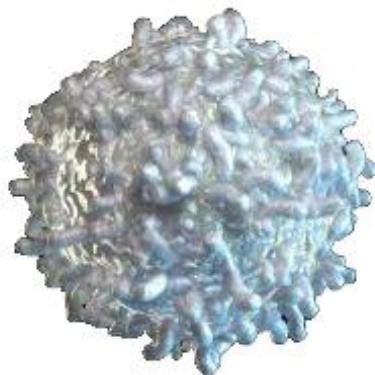
Leukosit (sel darah putih) adalah sel heterogen yang memiliki fungsi yang sangat beragam, walaupun demikian sel – sel ini berasal dari satu sel bakal (*stem cell*). Leukosit berwarna bening (*translucent*), berfungsi untuk

melindungi tubuh terhadap serangan kuman. Bentuknya lebih besar bila dibandingkan dengan sel darah merah (eritrosit), tetapi jumlahnya lebih sedikit (lihat Gambar 4) (Sherwood, 2007).

Leukosit dibuat dalam sumsum tulang. Sel ini memiliki sebuah inti yang dapat membelah menjadi banyak dan protoplasmanya berbulir atau bergranula sehingga disebut granulosit. Kekurangan sel granulosit disebut granulositopenia. Granulosit mempunyai enzim yang dapat memecah protein, dan memungkinkan merusak jaringan lalu menghancurkan dan membuang jaringan yang sakit atau mati sehingga terjadi proses penyembuhan luka atau sakit pada jaringan organ tubuh. Sebagai hasil kerja fagosit leukosit, peradangan dapat dihentikan. Bila tugas fagosit leukosit tidak berhasil dengan baik, maka dapat mengakibatkan terbentuknya nanah. Nanah dapat berisi bangkai – bangkai bakteri, sel fagosit, dan puing – puing sel. Dengan gerakan ameboidnya, leukosit dapat keluar – masuk pembuluh darah serta mengelilingi seluruh bagian tubuh sebagai respons sistem antibodi. Leukosit terdiri dalam beberapa komposisi bentuk sel yang meliputi limfosit, monosit, basofil, eosinofil, dan neutrofil (D'Hiru, 2013).

Kelainan pada jumlah leukosit dapat dibagi menjadi peningkatan dan penurunan untuk masing – masing jenis sel yang berbeda (Rukman, 2014). Nilai normal leukosit setiap  $\text{mm}^3$  berkisar 4.000- 11.000 sel, sedangkan eritrosit 4 juta – 5,9 juta/ $\text{mm}^3$ . Ketika terjadi infeksi atau peradangan misalnya karena sakit tifus, cacingan, *tuberculosis* (TBC), maka akan terjadi peningkatan jumlah leukosit, sehingga disebut leukositosis. Ada tiga penyebab

peningkatan jumlah leukosit yaitu pertama merupakan reaksi yang tepat dari sumsum tulang normal terhadap stimulasi eksternal yaitu infeksi, inflamasi (nekrosis jaringan, infark, luka bakar), stres (kejang, kecemasan). Kedua adalah *non* peradangan atau *non* infeksi seperti hipertensi pada kehamilan, obat (kartikosteroid, lithium), trauma, dan anemia hemolitik. Ketiga adalah efek dari kelainan sumsum tulang primer, keganasan hematologi misalnya leukemia akut, dan leukemia kronis.



**Gambar 4. Leukosit (Hartono, 2016).**

Sebaliknya bila mengalami penyembuhan dari penyakit infeksi, jumlah leukosit akan mengalami penurunan hingga kejumliah normal. Tetapi bila terjadi penurunan jumlah leukosit dari kadar normal disebabkan oleh misalnya mengkonsumsi obat kanker, keracunan logam berat, dan infeksi kronis, hal ini disebut sebagai leukopeni (Supriyatna, 2010, D'Hiru, 2013).

#### a. Metode pemeriksaan leukosit

##### 1) Metode Manual

Hemositometer merupakan alat yang dipakai untuk menghitung jumlah sel darah yang terdiri dari kamar hitung, kaca penutup, dan dua macam pipet untuk pengenceran. Mutu kamar hitung serta pipet – pipet

harus memenuhi syarat – syarat ketelitian tertentu, peralatan ini harus selalu dibersihkan segera setelah digunakan dan dijaga agar tidak tegores (Gandasoebrata, 2011).

Prinsip kerja dari metode manual ini adalah diencerkan dalam pipet leukosit, kemudian dimasukkan ke dalam kamar hitung. Jumlah leukosit dihitung dengan *volume* tertentu dan menggunakan faktor konversi. Larutan pengencer yang digunakan adalah larutan *Turk* yang mempunyai susunan larutan *gentiantviolet* 1% dalam air 1 ml, asam asetat glasial 1 ml, aquadest 100 ml (Gandasoebrata, 2007).

Bilik hitung yang sebaiknya digunakan adalah bilik hitung *improved neubauer*. Pada bilik hitung *improved neubauer* memiliki 9 mm<sup>2</sup> yang terbagi menjadi 9 bidang besar yang luasnya masing – masing 1 mm<sup>2</sup>. Leukosit dihitung pada empat bidang besar tersebut dibagi menjadi 16 kotak sedang. Jadi, keempat bidang besar yang digunakan untuk hitung leukosit memiliki luas 4 mm<sup>2</sup>. Karena kedalaman bilik hitung adalah 0,1 mm, maka *volume* keempat bidang itu adalah 0,4 mm<sup>2</sup>. Jumlah leukosit manual memiliki kesalahan yang lebih banyak, dengan CV berkisar antara 6,5% pada kasus dengan jumlah sel normal atau meningkat menjadi 15% pada kasus dengan jumlah leukosit menurun (Riswanto, 2013).

2) Metode Otomatisik *Hematology Analyzer*

a) Metode *Impedance*

Prinsip kerja *impedance* didasarkan pada perubahan ketahanan listrik yang dapat diukur yang dihasilkan oleh sel darah *non* konduktif yang tersuspensi dalam larutan elektrolit. Lubang kecil (*aperture*) antara elektroda adalah *zona* penginderaan yang melaluiinya sel-sel tersuspensi dilewati. Pada *zona* penginderaan setiap sel mengantikan *volume* elektrolitnya sendiri. *Volume* yang dipindahkan oleh masing-masing sel diukur sebagai pulsa *voltase*, tinggi masing-masing pulsa berbanding lurus dengan *volume* sel. Perubahan ini menjadi ukuran yang tepat dari jumlah sel yang ada (Greer *et al.*, 2014).

b) Metode *Flow cytometry*

Prinsip yang digunakan adalah cahaya yang terjadi ketika sel mengalir melewati celah dan berkas cahaya yang difokuskan ke *sensing* area yang ada pada *aperture* tersebut. Apabila cahaya yang mengenai sel, maka cahaya akan dihamburkan, dipantulkan, dan dibiaskan ke semua arah. Beberapa detektor yang diletakkan pada sudut – sudut tertentu akan menangkap berkas – berkas sinar yang terpengaruh oleh sel tersebut (Mengko, 2013).

Pulsa cahaya yang berasal dari hamburan cahaya, intesitas warna akan diubah menjadi pulsa listrik. Pada suatu program komputer, pulsa ini dipakai untuk menghitung jumlah, ukuran,

maupun isi bagian dalam sel yang merupakan ciri dari masing – masing sel. Metode otomatik secara khas menghasilkan CV dalam kisaran 1 sampai 3%. Jumlah leukosit dengan metode otomatik dapat ditinggikan palsu dengan adanya *cryoglobulin*, *cryofibrinogen*, *platelet* gabungan, sel darah merah atau bila ada lisis sel darah merah yang tidak lengkap, sehingga hal ini memerlukan perhitungan manual. Modifikasi ini telah meningkatkan kemampuan untuk mengukur jumlah leukosit diferensial lima bagian penuh (Greer *et al.*, 2014).

## **5. Pemeriksaan REL**

Pemeriksaan REL merupakan suatu pemeriksaan yang dilakukan dengan metode perhitungan rasio dengan cara membagi antara jumlah eosinofil yang sudah diubah dari satuan % (persen) ke  $\mu\text{L}$ (mikroliter) dengan jumlah leukosit. Pemeriksaan REL merupakan pemeriksaan yang mudah, murah, dan cepat untuk melihat adanya inflamasi. Pemeriksaan ini dilakukan dengan bantuan komputer. Adapun nilai *cutt off* dari REL yaitu  $<0,1$  (Konishi *et al.*, 2017).

## **6. Korelasi antara Rasio Eosinofil – Jumlah Leukosit (REL) Pada Pasien DM tipe 2**

Leukositosis adalah peningkatan jumlah leukosit. Hal ini sering terjadi karena peningkatan baik neutrofil maupun limfosit, tetapi kadang jumlah eosinofil cukup meningkat untuk menyebabkan peningkatan leukosit. Eosinofilia adalah peningkatan absolut jumlah eosinofil di sirkulasi. Namun,

lebih baik didefinisikan eosinofilia berdasarkan hitung mutlak jumlah eosinofil di dalam darah daripada sebagai persentase leukosit. Pasien DM sering dihubungkan dengan keadaan berbagai penyakit infeksi (Kiswari, 2014).

*Diabetes mellitus* tipe 2 ditandai dengan disfungsi endotel dan resistensi insulin progresif. Mekanisme peradangan terlibat dalam patogenesis DM tipe 2, sehingga terjadi resistensi insulin, mengurangi sekresi insulin dari pankreas dan disfungsi sel beta (Akash *et al.*, 2013).

Penanda inflamasi sistemik adalah faktor risiko untuk pengembangan DM tipe 2 dan komplikasi makrovaskular. Jaringan adiposa, hati, otot dan pankreas adalah tempat peradangan DM tipe 2, terjadi infiltrasi makrofag dan sel kekebalan lainnya pada jaringan tersebut sehingga terjadi pergeseran dari anti-inflamasi ke profil pro-inflamasi. Infiltrasi makrofag ke jaringan adiposa menyebabkan resistensi insulin. Pada jaringan adiposa, makrofag M2 (anti-inflamasi) yang berkontribusi pada sensitivitas insulin dengan mensekresikan IL-10. Sel-sel ini sangat penting untuk produksi sitokin pro-inflamasi, yang bekerja secara autokrin dan parakrin untuk mengganggu sinyal insulin di jaringan perifer atau menginduksi disfungsi sel beta dan kekurangan insulin berikutnya. Makrofag M1 teraktivasi, yang secara kuat mensekresikan sitokin pro-inflamasi seperti TNF $\alpha$ , IL-6, dan MCP-1, sehingga berkontribusi pada peradangan tingkat rendah. Pada saat yang sama, sitokin yang disejekresikan ini menyebabkan resistensi insulin pada otot hati dengan bertindak sebagai adipokin yang menghambat insulin (Tateya *et al.*, 2013).

Sel treg akan mensekresikan sitokin IL-4 , IL-13 dan IL-10. Pada keadaan normal jaringan adiposa akan mensekresikan tingginya keadaan adiponektin dibandingkan dengan obesitas. Adiponektin memacu sensitivitas insulin dan meningkatkan polarisasi makrofag M2. Sel-sel ini menjaga keseimbangan makrofag M2 pada jaringan adiposit normal (Castoldi *et al.*, 2016).

Ada tiga mekanisme penurunan REL yang merupakan kejadian inflamasi pada pasien yang mengalami STEMI yaitu eosinofil menempel pada trombosis koroner, pada tahap ini, sirkulasi eosinofil pada endotelium dihasilkan oleh *P-selectin*, sedangkan neutrofil dihasilkan oleh *E-selectin*. Faktor jaringan dilepaskan pada degranulasi eosinofil dan sangat penting dalam proses pembekuan darah. Jumlah perifer eosinofil mungkin tetap rendah karena agregasi eosinofil dalam trombi sampai sel - sel dilepaskan sepenuhnya dari sumsum tulang ke sirkulasi perifer. Mekanisme yang kedua yaitu peningkatan konsentrasi kortisol, pada tahap ini peningkatan konsentrasi kortisol yang disebabkan oleh respon stress akut terhadap STEMI, yang dapat menurunkan angka eosinofil perifer, rata - rata konsentrasi kortisol serum sebagian besar eosinofil cenderung bermigrasi ke jaringan seperti limpa, kelenjar getah bening, peritoneum, saluran gastrointestinal, kelenjar susu, dan rahim. Mekanisme ketiga adalah agregasi eosinofil di tempat peradangan pada tahap ini rangsangan inflamasi akut yang tidak menular, terjadi penurunan jumlah, telah diamati yang berlangsung selama beberapa hari, karena pecahnya plak aterosklerotik pada STEMI dikaitkan dengan pembengkakan,

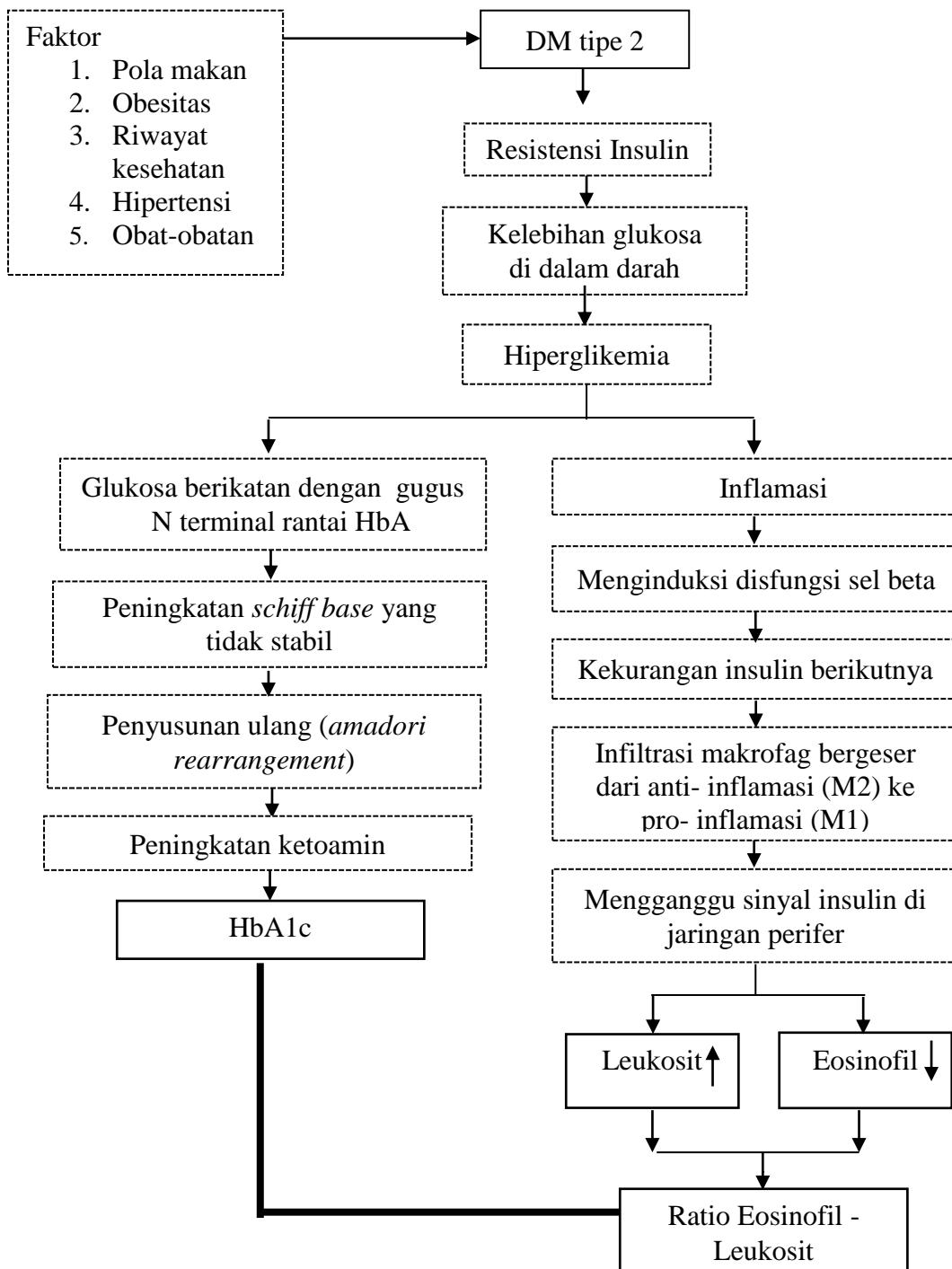
eosinofil dapat menempel pada plak intravaskular dan trombi. Tidak ada penelitian yang secara langsung memeriksa apakah REL dan prognosis setelah PCI primer untuk pasien STEMI berkorelasi atau tidak (Konishi *et al.*, 2017).

## B. Landasan Teori

1. *Diabetes Mellitus* merupakan suatu penyakit dengan kejadian hiperglikemia yang disebabkan oleh kelainan sekresi insulin dan kerja insulin.
2. Hiperglikemia yang disebabkan insentivitas seluler terhadap insulin disebut DM tipe 2.
3. Tahap pertama terjadi ikatan kovalen aldimin berupa *schiff base* yang bersifat stabil dan tahap kedua terjadi penyusunan kembali secara *amadori rearrangement* menjadi bentuk ketoamin yang stabil.
4. Pada keadaan hiperglikemik akan meningkatkan pembentukan *schiff base* antara gugus aldehid glukosa dengan residu lisin, arginine, dan histidin. Semakin tinggi tingkat HbA1c pada pasien, semakin besar risiko pengembangan komplikasi terkait DM.
5. *Diabetes Mellitus* tipe 2 yang terkontrol adalah kontrol DM yang dinyatakan dengan nilai HbA1c <7% dan DM tipe 2 yang tidak terkontrol adalah kontrol DM yang dinyatakan dengan nilai HbA1c  $\geq 7\%$  skala normal. Pada kondisi tertentu seperti: anemia, hemoglobinopati, riwayat transfusi darah 2 - 3 bulan terakhir, kondisi - kondisi yang mempengaruhi umur eritrosit dan gangguan fungsi ginjal maka HbA1c tidak dapat dipakai sebagai alat diagnosis maupun evaluasi.

6. Penanda inflamasi sistemik adalah faktor risiko untuk pengembangan DM tipe 2. Komplikasi makrovaskular di jaringan perifer menginduksi disfungsi sel beta dan resistensi insulin. Jaringan adiposa, hati, otot dan pankreas adalah tempat peradangan DM tipe 2. Infiltrasi makrofag dan sel lainnya bergeser dari anti-inflamasi ke profil pro-inflamasi. Makrofag M1 teraktivasi, yang secara kuat mensekresikan sitokin pro-inflamasi.
7. Eosinofil merupakan salah satu jenis leukosit, memiliki peran penting dalam homeostasis metabolismik. Persentase eosinofil yang tinggi terkait dengan penurunan risiko DM tipe 2, dan risiko resistensi insulin lebih rendah.
8. Leukosit adalah sel darah putih yang mengandung inti dan mempunyai peran dalam pertahanan seluler dan humoral organisme zat-zat asing. Studi epidemiologi menunjukkan hubungan antara jumlah leukosit, sel marker *non* spesifik untuk inflamasi dengan risiko DM. Jumlah leukosit total yang lebih tinggi mencerminkan keadaan darurat hiperglikemik.

### C. Kerangka Teori



Gambar 5. Kerangka Teori

Keterangan

[ ] Diteliti    [ ] Tidak diteliti    ————— Berhubungan    ——— Korelasi

**D. Hipotesis**

Terdapat korelasi yang bermakna antara rasio eosinofil – leukosit (REL) dan HbA1c pada pasien DM tipe 2.

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Rancangan Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian yang bersifat analitik observasional, dengan pendekatan *cross sectional* yang mencari korelasi antara REL dan HbA1c pada pasien DM tipe 2.

#### **B. Waktu dan Tempat Penelitian**

##### **1. Waktu**

Waktu penelitian dilakukan pada bulan Maret 2018 – Mei 2018.

##### **2. Tempat**

Penelitian dilakukan di Rumah Sakit Umum Daerah (RSUD) Dr. Moewardi di Surakarta untuk pengambilan data.

#### **C. Populasi dan Sampel**

##### **1. Populasi**

Populasi merupakan subjek atau objek yang mempunyai kualitas dan karakteristik tertentu yang ditetapkan oleh peneliti untuk dipelajari dan ditarik kesimpulan (Sugiyono, 2013).

Populasi terjangkau dalam penelitian ini adalah pasien DM tipe 2 rawat inap, dan rawat jalan yang melakukan pemeriksaan di Instalasi Patologi Klinik RSUD Dr. Moewardi di Surakarta. Populasi target dalam penelitian ini adalah

pasien DM tipe 2 rawat inap, dan rawat jalan yang melakukan pemeriksaan di Instalasi Patologi Klinik RSUD Dr. Moewardi di Surakarta pada bulan Maret 2011 – April 2015.

## 2. Sampel

- a. Pengambilan sampel penelitian berdasarkan kriteria inklusi meliputi:
  - 1) Penderita DM tipe 2 yang didiagnosis oleh klinisi.
  - 2) Laki – laki dan perempuan.
  - 3) Usia dewasa.
- b. Kriteria eksklusinya meliputi:
  - 1) Riwayat *thalasemia* dan varian Hb, data diambil di rekam medik.
  - 2) Riwayat infeksi berat, data diambil di rekam medik.
  - 3) Riwayat alergi, data diambil di rekam medik.
- c. Menentukan jumlah sampel.

Penentuan besarnya sampel pada penelitian *cross sectional* ini digunakan rumus besar sampel untuk uji korelatif (Dahlan, 2009), yaitu:

$$N = \left[ \frac{Z\alpha+Z\beta}{0,5 \ln [(1+r)/(1-r)]} \right]^2 + 3$$

$$N = \left[ \frac{1,64+1,28}{0,5 \ln [(1+0,722)/(1-0,722)]} \right]^2 + 3$$

$$N = \left[ \frac{2,92}{0,5 \ln [(1,722-0,278)]} \right]^2 + 3$$

$$N = 10,2554493235 + 3$$

$$N = 13,26$$

$$N = 13.$$

Keterangan:

$Z\alpha$  = Nilai standar alpha = 1,64

$Z\beta$  = Nilai standar beta = 1,28

r = Korelasi (kepustakaan dari Xu *et al.*, 2013 dengan nilai r= 0,722).

Pada penelitian ini jumlah sampel yang digunakan 100 sampel.

#### **D. Variabel Penelitian**

Variabel dalam penelitian ini adalah REL dan HbA1c.

#### **E. Definisi Operasional**

1. Eosinofil.
  - a. Definisi : Salah satu jenis leukosit yang berperan dalam sistem kekebalan dengan melawan parasit dan beberapa infeksi.
  - b. Metode : *Flow cytometry*.
  - c. Alat : *Cell-Dyn Ruby*.
  - d. Satuan :/ $\mu$ L (Absolut).
  - e. Skala : Rasio.
  - f. Nilai Rujukan : 50 - 300 / $\mu$ L (Prabandari, 2013).
2. Leukosit.
  - a. Definisi : Sel darah putih yang memiliki fungsi untuk melindungi tubuh terhadap serangan kuman.
  - b. Metode : *Flow Cytometry*.

- c. Alat : *Cell-Dyn Ruby*.
- d. Satuan : / $\mu$ L
- e. Skala : Rasio.
- f. Nilai Rujukan : 4.000 – 11.000/ $\mu$ L (D’Hiru, 2013).

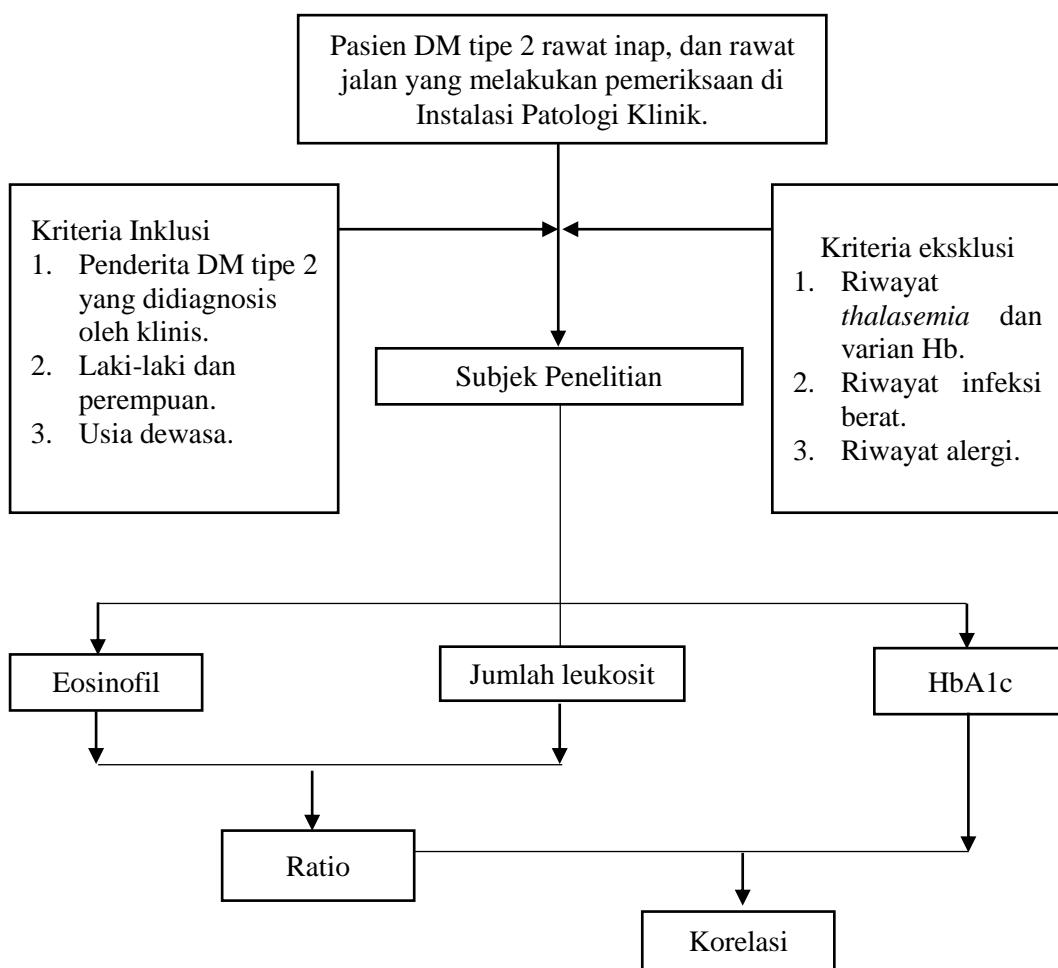
3. REL.

- a. Definisi : Rasio eosinofil – leukosit.
- b. Metode : Perhitungan rasio.
- c. Alat : Komputer.
- d. Satuan : Tidak ada.
- e. Skala : Rasio.
- f. Nilai Rujukan : <0,1 (Konishi *et al.*, 2017).

4. Hemoglobin tergliksasi.

- a. Definisi : Ikatan glukosa dengan gugus amida pada asam amino valin di ujung rantai beta dari globulin.
- b. Metode : IE – HPLC.
- c. Alat : *Arkray*.
- d. Satuan : %.
- e. Skala : Rasio.
- f. Nilai Rujukan : Diagnosis  $\geq$ 6,5%, sasaran target <7% (Perkeni, 2015).

## F. Skema Alur Penelitian



**Gambar 6. Skema Alur Penelitian**

## G. Alat dan Bahan

### 3. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

- Alkohol swab.*
- Kapas kering.
- Plester.

- d) Spuit injeksi 5 ml.
- e) Tabung *vacutainer*.
- f) *Tourniquet*.
- g) Rak tabung.
- h) *Blue tip* dan *yellow tip*.
- i) Pipet otomatik.
- j) Alat *Cell-Dyn Ruby*.
- k) Alat *Arkray*.

#### **4. Bahan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel darah plasma EDTA pada pasien DM tipe 2 rawat inap, dan rawat jalan dan melakukan pemeriksaan laboratorium di Instalasi Patologi Klinik RSUD Dr. Moewardi di Surakarta.

### **H. Prosedur Penelitian**

#### **1. Prosedur Pemeriksaan Eosinofil dan Leukosit (PK RSDM, 2017).**

##### **a. Tujuan**

Sebagai acuan penerapan langkah – langkah untuk pemeriksaan parameter hematologi klinik.

##### **b. Metode**

*Flow cytometry* dengan menggunakan alat *Cell-Dyn Ruby*.

### c. Prinsip

Berdasarkan spesifikasi ukuran sel yang melewati filter dengan memakai tegangan listrik untuk sekali pembacaan bisa diperiksa sekaligus beberapa parameter.

## 2. Prosedur Pemeriksaan HbA1c (PK RSDM, 2017).

### a. Tujuan

Sebagai acuan penerapan langkah – langkah untuk pemeriksaan HbA1c menggunakan spesimen *wholeblood* dengan antikoagulan EDTA.

### b. Metode

Menggunakan metode yang distandardkan yaitu HPLC dengan menggunakan alat *Arkray*.

### c. Prinsip

Prinsip kerja dari metode ini adalah spesimen dipompa melalui sebuah kolom yang berisi sebuah fase diam bersama – sama dengan *eluent* (Teolinda, 2015).

## I. Teknik Pengumpulan Data

Pengumpulan data dalam penelitian ini dilakukan dengan memperoleh izin dari RSUD Dr. Moewardi, dan memperoleh data sekunder secara tidak langsung melalui rekam medis di *Laboratory Information System* (LIS) laboratorium Patologi Klinik RSUD Dr. Moewardi di Surakarta pada pasien DM tipe 2 dengan hasil eosinofil, jumlah leukosit total, dan HbA1c masing – masing pasien. Berdasarkan ketentuan kriteria inklusi dan eksklusi.

## **J. Teknik Analisa Data**

Data yang diperoleh disajikan dalam bentuk tabel dan dianalisis secara statistik. Analisis yang digunakan untuk memperoleh nilai statistik yaitu semua data yang ditabulasikan. Langkah pertama dengan perhitungan uji normalitas data (*Kolmogorov - Smirnov*) untuk mengetahui data tersebut terdistribusi normal, bila data terdistribusi normal maka dilakukan uji *Pearson correlation*. Jika data tidak terdistribusi normal digunakan uji *Spearman correlation*. Dengan interval kepercayaan 95 % dan signifikansi  $p < 0,05$ .

## **K. Pertimbangan Etik**

Penelitian ini telah disetujui oleh komisi etika penelitian biomedis RSDM dan persetujuan pasien. Pernyataan bersedia sebagai subjek penelitian diperoleh setelah sebelumnya mendapat penjelasan singkat mengenai tujuan dan manfaat penelitian, serta teknik pengambilan sampel darah kepada pasien. Pasien menandatangani surat pernyataan bersedia menjadi subjek penelitian yang telah disediakan.



## **BAB IV**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **A. Hasil Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Patologi Klinik RSUD Dr. Moewardi di Surakarta dengan tujuan untuk mengetahui korelasi antara REL dan HbA1c pada pasien DM tipe 2. Penelitian ini menggunakan data sekunder yang diambil dari LIS di Laboratorium Patologi Klinik RSUD Dr. Moewardi di Surakarta, dan banyaknya sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 100 sampel. Berikut adalah hasil penelitian meliputi uji kualitas internal (presisi dan akurasi), karakteristik pemeriksaan, serta uji hipotesis penelitian yang telah dilakukan.

##### **1. Uji Kualitas Internal**

Pada uji kualitas internal digunakan untuk mengetahui mutu kualitas hasil pemeriksaan secara internal. Uji kualitas internal meliputi uji presisi atau ketelitian dan uji akurasi atau ketepatan.

###### **a. Uji Presisi atau Ketelitian**

Uji presisi (ketelitian) dilakukan untuk mengetahui seberapa dekat suatu hasil pemeriksaan jika dilakukan berulang kali menggunakan sampel yang sama (Depkes, 2008). Uji presisi meliputi uji presisi hari ke hari (*day to day*) yaitu dengan pemeriksaan satu contoh bahan kontrol diulang beberapa kali pada hari yang berbeda atau pada saat dilakukan uji kontrol harian dan uji presisi *within day* yaitu uji yang dilakukan pada hari yang sama diulang beberapa kali. Semakin kecil nilai KV (%) semakin teliti

sistem/ metode tersebut dan sebaliknya. Hasil uji presisi *day to day* pada pemeriksaan leukosit, eosinofil, dan HbA1c dapat dilihat pada tabel berikut:

**Tabel 6. Uji Presisi (Ketelitian)**

Parameter Pemeriksaan (Satuan)	Rerata Kadar	SD	KV (%)	KV (%) Max*
Leukosit ( $\mu\text{L}$ )				
Lot H7114	16,85	0,33	1,96	5
Eosinofil (%)				
Lot L7114	0,10	0,01	9,45	10
HbA1c (%)				
Lot 33932	9,04	0,06	0,71	3

Sumber: (Depkes,2008) Keterangan: ( % ) : persen,  $\mu\text{l}$  : mikroliter, SD: Standar deviasi, KV : Koefisien variasi, max: maksimum.

Pada tabel 6. uji presisi yang dilakukan adalah uji presisi hari ke hari (*day to day*), diperoleh hasil nilai rerata kadar parameter leukosit kontrol *high*, eosinofil kontrol *low*, dan HbA1c secara berurutan adalah 16,85; 0,10; 9,04. Nilai SD yang diperoleh dari semua parameter yang diuji tidak ditemukan hasil yang melebihi 20% dari nilai rerata artinya hal ini menunjukkan variasi yang kecil. Koefisien variasi dari uji presisi kontrol tiap parameter menunjukkan hasil yang lebih kecil dari KV maksimum.

### b. Uji Akurasi atau Ketepatan

Uji akurasi dilakukan untuk melihat seberapa dekat nilai pemeriksaan dengan nilai sebenarnya. Akurasi dilihat dari hasil pemeriksaan bahan kontrol dan dihitung sebagai  $d\% = [(mean - NA)/NA]$ , NA = Nilai aktual atau sebenarnya dari bahan kontrol. Nilai d (%) dapat positif atau negatif. Nilai positif menunjukkan nilai yang lebih rendah dari seharusnya, sedangkan nilai negatif menunjukkan nilai yang lebih rendah dari seharusnya (Wijono, 2004; Permenkes, 2013).

Pada tabel 7. diperoleh hasil rerata dari nilai kontrol parameter pemeriksaan yang terdiri dari leukosit, eosinofil, dan HbA1c yang dilakukan setiap hari yang tidak menyimpang dari nilai rujukan, sehingga dapat disimpulkan bahwa nilai kontrol leukosit, eosinofil, dan HbA1c masuk dalam nilai rentang kontrol, artinya pengukuran pemeriksaan nilai kontrol leukosit, eosinofil, dan HbA1c akurat.

**Tabel 7. Uji Akurasi (Ketepatan)**

Parameter Pemeriksaan (Satuan)	Kadar Parameter pemeriksaan / rujukan (Rerata / Rentang 2 SD)	Rerata Pengukuran	Simpulan	d%
Leukosit ( $\mu\text{L}$ )	16,5 (9-29)	16,85	Masuk dalam rentang	0,021
Eosinofil (%)	0,4 (-0,2-1,2)	0,10	Masuk dalam rentang	0
HbA1c (%)	9,5 (8,6-10,85)	9,04	Masuk dalam rentang	0,048

Keterangan: ( % ) : persen,  $\mu\text{L}$  : mikroliter, SD : Standar deviasi, d% : nilai bias

## 2. Karakteristik Subjek Dasar Penelitian

**Tabel 8. Karakteristik Subjek Dasar Penelitian**

Variabel	Jumlah (%)	Rerata	SD
Umur (tahun)		55,51	9,96
Jenis Kelamin			
Laki – laki	37 (37,00%)		
Perempuan	63 (63,00%)		
Total leukosit ( $\mu\text{L}$ )		11688,00	6133,71
Total eosinofil ( $\mu\text{L}$ )		162,19	148,77

Keterangan : SD= Standar deviasi / $\mu\text{L}$ = per mikro liter.

Pada Tabel 8 menunjukkan hasil pemeriksaan antara REL dan HbA1c pada pasien DM tipe 2. Diperoleh hasil rerata umur subjek penelitian (responden) adalah  $55,51 \pm 9,96$  tahun. Jumlah jenis kelamin subjek penelitian (responden) perempuan adalah 63 pasien atau 63,00% dari keseluruhan subjek penelitian dan jumlah subjek penelitian (responden) laki – laki 37 pasien atau 37,00% dari keseluruhan subjek penelitian. Hasil rerata untuk total leukosit subjek penelitian adalah  $11688,00 \pm 6133,71/\mu\text{L}$ . Hasil rerata untuk total eosinofil subjek penelitian adalah  $162,19 \pm 148,77/\mu\text{L}$ .

### 3. Uji Normalitas Data

Data hasil penelitian yang diperoleh kemudian dianalisis untuk membuktikan adanya korelasi antara REL dan HbA1c pada pasien DM tipe 2, maka dilakukan uji normalitas. Uji normalitas ini dilakukan untuk melihat apakah data hasil pengukuran antara REL dan HbA1c terdistribusi normal atau tidak, sehingga dapat ditentukan model analisis data yang harus digunakan dalam analisis data. Uji normalitas data menggunakan uji *Kolmogorov-Smirnov test*, apabila nilai  $p>0,05$  maka data dalam distribusi normal, tetapi jika nilai  $p <0,05$  maka data dalam distribusi tidak normal. Hasil uji normalitas sebagai berikut:

**Tabel 9. Hasil Uji Normalitas**

Variabel	P	Keterangan
Rasio eosinofil– leukosit( $\mu\text{L}$ )	0,001	Tidak Normal
HbA1c (%)	0,358	Normal

Keterangan= Uji distribusi normal dengan *Kolmogorov-Smirnov*, jika  $p>0,05$ , HbA1c= Hemoglobin A1c.

Dari data uji *one-sample Kolmogorov-Smirnov* pada Tabel 9, diperoleh nilai probabilitas ( $p$ ) REL pada pasien DM tipe 2 adalah 0,001. Nilai probabilitas HbA1c pada pasien DM tipe 2 adalah 0,358. Nilai probabilitas pada REL tersebut tidak melebihi taraf signifikansi 5% ( $p<0,05$ ) sehingga data tidak terdistribusi normal. Karena salah satu subjek tidak terdistribusi normal maka dilakukan uji transformasi data, sehingga didapatkan hasil sebagai berikut:

**Tabel 10. Hasil Uji Normalitas Data (Sesudah ditransformasi)**

Variabel	p	Keterangan
Log rasio eosinofil– leukosit( $\mu\text{L}$ )	0,538	Normal
Keterangan= Uji distribusi normal dengan <i>Kolmogorov-Smirnov</i> , jika $p>0,05$ .		

Dari data uji *one-sample Kolmogorov-Smirnov* pada Tabel 10 diperoleh nilai probabilitas ( $p$ ) log REL pada pasien DM tipe 2 adalah 0,538.

Nilai probabilitas pada REL tersebut melebihi taraf signifikansi 5% ( $p>0,05$ ) sehingga data terdisribusi normal, dilanjutkan pengujian hipotesis dan digunakan analisis menggunakan uji statistik korelasi *Pearson*.

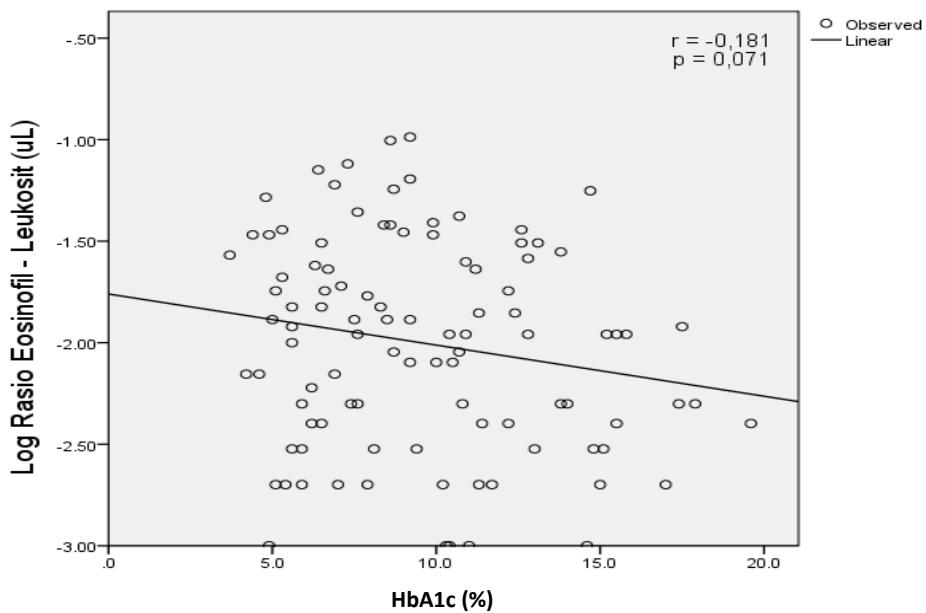
#### 4. Analisis Data

Analisis data dilakukan untuk melihat apakah terdapat korelasi hasil yang bermakna antara REL dan HbA1c pada pasien DM tipe 2. Analisis dilakukan menggunakan bantuan komputer. Setelah dilakukan analisis maka diperoleh hasil sebagai berikut:

**Tabel 11. Korelasi rasio eosinofil – leukosit dan HbA1c**

Variabel	Rerata $\pm$ SD	r	p
Log rasio eosinofil – leukosit (/ $\mu$ L)	-2,00 $\pm$ 0,51	-0,181	0,071
HbA1c (%)	9,56 $\pm$ 3,70		

Keterangan: SD= Standar Deviasi, r= korelasi pearson  
p=signifikansi<0,05(bermakna), HbA1c= Hemoglobin A1c.



**Gambar 7. Grafik korelasi antara rasio eosinofil – leukosit dan HbA1c**

Dari hasil Tabel 11 didapatkan hasil rerata dari log rasio eosinofil leukosit adalah  $-2,00\pm0,51/\mu\text{L}$ . Hasil rerata dari HbA1c adalah  $9,56\pm3,70\%$ .

Analisis hasil dilakukan dengan bantuan komputer dan didapatkan hasil nilai signifikansi 0,071 ( $p>0,05$ ) yang menunjukkan bahwa tidak terdapat korelasi antara REL dan HbA1c pada pasien DM tipe 2. Terdapat hasil grafik korelasi antara REL dan HbA1c pada pasien DM tipe 2 (Lihat Gambar 7). Hasil grafik menunjukkan tidak adanya korelasi antara rasio eosinofil – leukosit dan HbA1c pada pasien DM tipe 2.

## B. Pembahasan

*Diabetes mellitus* merupakan kelompok penyakit metabolismik dengan karakteristik hiperglikemia karena kerusakan dalam sekresi insulin, kerja insulin, atau keduanya. Mekanisme peradangan terlibat dalam patogenesis DM tipe 2, sehingga terjadi resistensi insulin, mengurangi sekresi insulin dari pankreas dan disfungsi sel beta (Akash *et al.*, 2013).

Berdasarkan data hasil pemeriksaan REL dan HbA1c pada pasien DM tipe 2, diperoleh karakteristik subjek penelitian (pada Tabel 8) bahwa dari 100 pasien didapatkan jumlah laki – laki sebanyak 37 pasien (37,00%) dan jumlah perempuan sebanyak 63 pasien (63,00%), menunjukkan bahwa sebagian besar penderita DM tipe 2 adalah perempuan. Hal ini dapat disebabkan karena perempuan kurang aktif bergerak dan lebih cenderung mudah menderita DM dibandingkan laki - laki. Didapatkan rerata total leukosit yaitu  $11688,00 \pm 6133,71/\mu\text{L}$  dan rerata total eosinofil yaitu  $162,19 \pm 148,77/\mu\text{L}$ . Penelitian ini didapatkan jumlah leukosit rata – rata lebih tinggi dari nilai normal dan sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Xu *et al.*, 2013 pada pasien

DKA dan DK. Namun, berbeda dengan hasil eosinofil yang menyatakan jumlah eosinofil rendah sedangkan pada penelitian ini didapatkan berada dalam batasan normal.

Pada Tabel 11 menunjukkan bahwa hasil nilai log REL didapatkan rerata  $-2,00 \pm 0,51/\mu\text{L}$  dan rerata kadar HbA1c  $9,56 \pm 3,70\%$ . Peningkatan kadar HbA1c  $>8\%$  mengindikasikan DM yang tidak terkendali dan berisiko tinggi untuk terjadinya komplikasi jangka panjang. Hal ini tidak sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Zhu *et al.*, 2013 pada pasien DM tipe 2 dengan hasil rerata kadar HbA1c  $5,8 \pm 1,0\%$  yang menunjukkan hasil rata – rata masih dalam batas normal.

Pada penelitian Xu *et al.*, 2013 yang mengorelasikan jumlah leukosit dengan glukosa darah pada pasien diabetes ketoasidosis didapatkan hasil ( $r=0,722$ ,  $p<0,05$ ). Penelitian Konishi *et al.*, 2017 mengemukakan hubungan antara REL pada pasien STEMI secara signifikan rendah. Pada penelitian ini berbeda, tidak didapatkan korelasi antara REL dan HbA1c pada pasien DM tipe 2 ( $r=-0,181$  dan  $p=0,071$ ). Penelitian ini tidak didapatkan korelasi oleh karena pada STEMI eosinofil menempel pada trombosis koroner, peningkatan konsentrasi kortisol, dan agregasi eosinofil di tempat peradangan, sedangkan pada pasien DM tipe 2 disebabkan oleh beberapa kemungkinan: eosinofil tidak menempel pada trombosis koroner, tidak adanya peningkatan konsentrasi kortisol, nekrosis jaringan, adanya trauma lain yang tidak terdeteksi, dan adanya penyakit yang mempengaruhi jumlah rasio eosinofil – leukosit pada pasien DM tipe 2.

Keterbatasan penelitian ini menggunakan data sekunder, peneliti tidak mengetahui adanya variabel luar yang tidak dapat dikendalikan, misalnya lamanya

pasien menderita DM, teratur dan tidaknya melakukan kontrol, penggunaan obat, riwayat penyakit lainnya, faktor genetik, dan faktor risiko lain yang dapat mempengaruhi hasil penelitian misalnya usia dan obesitas.

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **A. Kesimpulan**

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat korelasi antara REL dan HbA1c pada pasien DM tipe 2 ( $r = -0,181$  dan  $p = 0,071$ ).

#### **B. Saran**

1. Berdasarkan penelitian ini, perlu dilakukan penelitian lanjut untuk mengetahui korelasi REL dan HbA1c pada pasien DM tipe 2, dengan memperhatikan faktor – faktor yang dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan seperti: berapa lama pasien menderita DM, kepatuhan penggunaan obat.
2. Menggunakan metode penelitian lain, atau populasi selain DM tipe 2.

## DAFTAR PUSTAKA

- Akash, MS., Rahman, K., Chen, S. 2013. *Role of Inflammatory Mechanisms in Pathogenesis of Type 2 Diabetes Mellitus*. Journal of Cellular Biochemistry. Vol 114(3):525-531.
- American Diabetes Assosiation. 2018. *Diabetes care. Standart of Medical Care in Diabetes*. Vol 41, suplement 1, Januari 2018.
- Biadgo, B., Mulugeta, M., Salomon, MA., Molla, A. 2015. *Hematological Indices and Their Correlation with Fasting Blood Glucose level and Anthropometric Measurements in Type 2 Diabetes Mellitus Patients in Gondar, Northwest Ethiopia*. Dovepress. Vol 2016:9. Hal 91-99.
- Bilous, RW. 2002. *Seri Kesehatan Bimbingan Dokter Pada Diabetes*. Jakarta: Dian Rakyat.
- Bishop, ML., Edward, PF., Larry, ES. 2010. *Clinical Chemistry Techniques, Principles, Correlation Six Edition*. Philadelphia: Wolters Kluwer.
- Castoldi, A., Cristiane, NDS., Niels, OSC., Pedro, M. 2016. *The Macrophage Switch in Obesity Development*. Frontiers in Immunology. Vol 6 article 637.
- Corwin, EJ. 2009. *Buku Saku Patofisiologi*. Jakarta: EGC.
- Dahlan, MS. 2010. *Besar Sampel dan Cara Pengambilan Sampel*. Edisi ke-3. Jakarta: Salemba Medika.
- D'Hiru. 2013. *Live Blood Analysis*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.
- Fatimah, RN. 2015. *Diabetes Melitus Tipe 2*. J Majority. Vol 4(5). Hal:94.
- Gandasoebrata, R. 2007. *Penuntun Laboratorium Klinik*. Jakarta: Buku Kedokteran.
- Gandasoebrata, R. 2011. *Penuntun Laboratorium Klinik*. Jakarta: Dian Rakyat.
- Greer, JP., Daniel, A., Arber, Bertil, G., Alan, F., List, Robert, T., et al. 2014. *Wintrobe's clinical Hematology*. Philadelphia: Woltres Kluwer.
- Gupta, S., Utkarsh, J., Nidhi, C. 2017. *Laboratory Diagnosis of HbA1c: A Review*. MedCrave. Vol 5(4):00120.
- Hasdianah., Suprapto, SI. 2016. *Patologi & Patofisiologi Penyakit*. Yogyakarta: Nuha Medika.

- Indranila, KS. 2017. *Glycated Hemoglobin A1c As a Biomarker Predictor for Diabetes Mellitus, Cardiovascular Disease and Inflammation*. Vol 23(02): 191 -196.
- Irianto, K. 2015. *Memahami Berbagai Penyakit Penyebab, Gejala, Penularan, Pengobatan, Pemulihan, dan Pencegahan*. Bandung: Alfabeta.
- Kiswari, R. 2014. *Hematologi dan Transfusi*. Jakarta: Erlangga.
- Klotsas, EG., Zheng, Ye., Andrew, J., Cooper., Stephen, J., Sharp., Robert, L., et al. 2010. *Differential White Blood Cell Count and Type 2 Diabetes: Systematic Review and Meta – Analysis of Cross-Sectional and Prospective Studies*. *Plos One*. Vol 5(10)e13405.
- Konishi, T., Naohiro, F., Tadashi, Y., Toru, M., Daisuke, H., Hiroshi, N., Shinya, T. 2017. *Journal Prognostic Value of Eosinophil to Leukocyte Ratio in Patients with ST-Elevation Myocardial Infarction Undergoing Primary Percutaneous Coronary Intervention*. *Atheroscler Thromb*. 24:827-840.
- Kusniyah, Y., Nuriwati., Urip, R. 2010. *Hubungan Tingkat Self Care dengan Tingkat HbA1c Pada Klien Diabetes Mellitus Tipe 2 di Poliklinik Endokrin RSUP DR. Hasan Sadikin Bandung*. Diakses tanggal 4 Januari 2018.
- Marchant, KK., Bruce, H., Davis, P. 2012. *Laboratory Hematology Practice*. Cleveland: Blackwell.
- Mengko, R. 2013. *Instrumen Laboratorium Klinik*. Bandung: ITB. Hal 11-32.
- National Glycohemoglobin Standardization Program. 2010. Harmonizing Hemoglobin A1c Testing.
- Paputungan, SR., Sanusi, H. 2014. *Peranan Pemeriksaan Hemoglobin A1c pada Pengelolaan Diabetes Mellitus*. Vol. 41 (9):650-652.
- PERKENI. 2015. *Konsensus Pengelolaan dan Pencegahan Diabetes Mellitus Tipe 2 di Indonesia*. Jakarta: PB. Perkeni.
- PK RSDM. 2017. Standar Operational Prosedur *Cell Dyn Ruby*.
- PK RSDM. 2017. Standar Operational Prosedur *Arkray*.
- Prabandari, R. *Pemeriksaan Darah Rutin*. 2013. Diakses tanggal 27 Februari 2018.
- Riswanto. 2013. *Pemeriksaan Laboratorium Hematologi*. Yogyakarta: Alfamedika & Kanal medika.
- Rhea., Molinaro, R. 2014. *Pathology Consultation on HbA1c Methods and Interferences*. American Journal For Clinical Pathology. Vol (141):15-16.

- Sacher, RA. 2004. *Tinjauan Klinis Hasil Pemeriksaan Laboratorium*. Jakarta: Kedokteran EGC.
- Sakurabayashi, I., Tatsuro, W., Satoshi, Y., Kaori, I. 2003. *New Enzymatic Assay for Glycohemoglobin*. *Clinical Chemistry*. Vol 49 (2):269-274.
- Sherwood, L. 2012. *Fisiologi Manusia*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Suardi, M., Raveinal., Resta, A. 2013. *Tinjauan Akumulasi seftriakson dari Data Urin Menggunakan Elektroforesis Kapiler Pada Pasien Gangguan Fungsi Ginjal Stadium V*. Prosiding Seminar Nasional Perkembangan Terkini Sains Farmasi dan Klinik III. Hal: 164.
- Supriyatna, A. 2010. *Hubungan Jumlah Leukosit Total dengan Aterosklerosis Arteri Karotis Interna pada Pasien Paska Stroke Iskemik*. Semarang: Fakultas Ilmu Penyakit Saraf, Universitas Diponegoro.
- Tateya, S., Francis, K., Yoshikazu, T. 2013. *Recent Advances in Obesity Induced Inflammation and Insulin Resistance*. *Frontiers in Endocrinology*. Vol 4: article 93.
- Teolinda. 2015. *Hubungan Kadar Hemoglobin dengan Konsentrasi HbA1c Pada DM Tipe 2 di RSUD dr. Moewardi Surakarta* [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Setia Budi. Hal: 19-21.
- Thengl, H., Heinz, D., Torsten, H., 2004. *Color Atlas of Hematology Practical Microscopic and Clinical Diagnosis*: Stuttgart. Thieme.
- Wasieleska, M., Anna, B., Bogdan, Z. 2014. *Capillary Electrophoresis in Determination of low Molecular Mass Organic Acids*. *International Journal of Environment Science and Development*. 5(4). Hal:417-425.
- Waspadji, S., Subekti, I., Yunir, E. 2014. *Komplikasi Diabetes Tipe 2 Penyakit dan Pencegahannya*. Jakarta: FKUI. Hal:2-34.
- Xu, W., Hai, FW., Shao, GM., Feng, B., Wen, H., Yue, J., Hong, L. 2013. *Journal Correlation between Peripheral White Blood Cell Counts and Hyperglycemic Emergencies*. *International Journal of Medical Sciences*. Vol 10(6):758-765.
- WHO Plebotomi., 2010. *WHO Guidelines on Drawing Blood: Best Practicisin Phlebotomi*.
- Zhu, L., Tingwei, Su., Min, Xu., Yu, Xu., Mian, L., Tiange, W., Jichao, S. 2013. *Eosinophil Inversely Associates with Type 2 Diabetes and Insulin Resistance in Chinese Adults*. *Plos One*. Vol 8(7)e67613.

## Lampiran 1. Surat Pengajuan Penelitian



Nomor : 309 / H6 – 04 / 21.02.2018  
 Lamp. : - helai  
 Hal : Ijin Penelitian

**Kepada :**  
**Yth. Direktur**  
**RSUD. dr. Moewardi**  
**Di Surakarta**

Dengan Hormat,

Guna memenuhi persyaratan untuk keperluan penyusunan Tugas Akhir (TA) bagi Mahasiswa Semester Akhir Program Studi D-IV Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Setia Budi, terkait bidang yang ditekuni dalam melaksanakan kegiatan tersebut bersamaan dengan ini kami menyampaikan ijin bahwa :

**NAMA** : ELFRIDA MELISA NGAMAL  
**NIM** : 10170661 N  
**PROGDI** : D-IV Analis Kesehatan  
**JUDUL** : Kolerasi antara Rasio Eosinofil – Leukosit (REL) dan HbA1c pada Pasien DM Tipe 2.

Untuk ijin penelitian tentang kolerasi antara rasio eosinofil – leukosit (REL) dan HbA1c pada pasien DM tipe 2 di Instansi Bapak / Ibu.

Demikian atas bantuan dan kerjasamanya kami ucapan terima kasih.

Surakarta, 21 Februari 2018

Dekan



Prof. dr. Marsetyawan HNE Soesaty, M.Sc., Ph.D.

## Lampiran 2. Ethical Clearance

3/9/2018

Form A2



**HEALTH RESEARCH ETHICS COMMITTEE**  
**KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN**

**Dr. Moewardi General Hospital**  
**RSUD Dr. Moewardi**



**School of Medicine Sebelas Maret University**  
**Fakultas Kedokteran Universitas sebelas Maret**

---

**ETHICAL CLEARANCE**  
**KELAIKAN ETIK**

Nomor : 265 / III / HREC / 2018

*The Health Research Ethics Committee Dr. Moewardi General Hospital / School of Medicine Sebelas Maret*  
 Komisi Etik Penelitian Kesehatan RSUD Dr. Moewardi / Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret

*Maret University Of Surakarta, after reviewing the proposal design, herewith to certify*  
 Surakarta, setelah menilai rancangan penelitian yang diusulkan, dengan ini menyatakan

*That the research proposal with topic :*  
 Bahwa usulan penelitian dengan judul

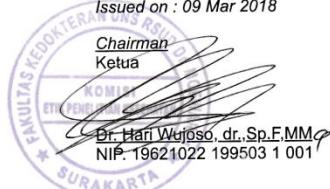
**KORELASI ANTARA RASIO EOSINOFIL-LEUKOSIT (REL) DAN HbA1c PADA PASIEN DM TIPE 2**

*Principal investigator* : ELFRIKA MELISA NGAMAL  
 Peneliti Utama : 10170661N

*Location of research* : Laboratorium Patologi Klinik RSUD Dr. Moewardi  
 Lokasi Tempat Penelitian

*Is ethically approved*  
 Dinyatakan layak etik

Issued on : 09 Mar 2018



### Lampiran 3. Surat Pengantar Penelitian



**PEMERINTAH PROVINSI JAWA TENGAH**  
**RUMAH SAKIT UMUM DAERAH Dr. MOEWARDI**  
 Jalan Kolonel Sutarto 132 Surakarta Kode pos 57126 Telp (0271) 634 634,  
 Faksimile (0271) 637412 Email : [rsmoewardi@jatengprov.go.id](mailto:rsmoewardi@jatengprov.go.id)  
 Website : [rsmoewardi.jatengprov.go.id](http://rsmoewardi.jatengprov.go.id)

Surakarta, 16 Maret 2018

Nomor : 363 / DIK./ III / 2018  
 Lampiran : -  
 Perihal : Pengantar Penelitian

Kepada Yth. :  
**Ka. Inst. Lab. Patologi Klinik**

RSUD Dr. Moewardi  
 di-  
SURAKARTA

Memperhatikan Surat dari Dekan FIK-USB Surakarta Nomor : 309/H6-04/21.02.2018; perihal Permohonan Ijin Penelitian dan disposisi Direktur tanggal 26 Februari 2018, maka dengan ini kami menghadapkan siswa:

**Nama : Elfrida Melisa Ngamal**

**NIM : 10170661 N**

**Institusi : Prodi D.IV Analis Kesehatan FIK-USB Surakarta**

Untuk melaksanakan Penelitian dalam rangka pembuatan **Skripsi** dengan judul : "**Korelasi Antara Rasio Eosinofil - Leukosit (REL) dan HbA1c pada Pasien DM Tipe 2**".

Demikian untuk menjadikan periksa dan atas kerjasamanya diucapkan terima kasih.

Kepala  
Bagian Pendidikan & Penelitian,

Ari Subagio, SE.,MM m-  
NIP. 19660131 199503 1 002

#### Tembusan Kepada Yth.:

1. Wadir Umum RSDM (sebagai laporan)
2. Arsip

**RSDM Cepat, Tepat, Nyaman dan Mudah**

## Lampiran 4. Surat Selesai Penelitian



**PEMERINTAH PROVINSI JAWA TENGAH  
RUMAH SAKIT UMUM DAERAH Dr. MOEWARDI**

Jalan Kolonel Sutarto 132 Surakarta Kodepos 57126 Telp (0271) 634 634,  
Faksimile (0271) 637412 Email : [rsmoewardi@atengprov.go.id](mailto:rsmoewardi@atengprov.go.id)  
Website : [rsmoewardi.jatengprov.go.id](http://rsmoewardi.jatengprov.go.id)

**SURAT KETERANGAN**

Nomor : 045 / 7.064 / 2018

Yang bertanda tangan di bawah ini:

**Nama : Dr.dr. Suharto Wijanarko, Sp.U**  
**Jabatan : Wakil Direktur Umum RSUD Dr. Moewardi**

Dengan ini menerangkan bahwa:

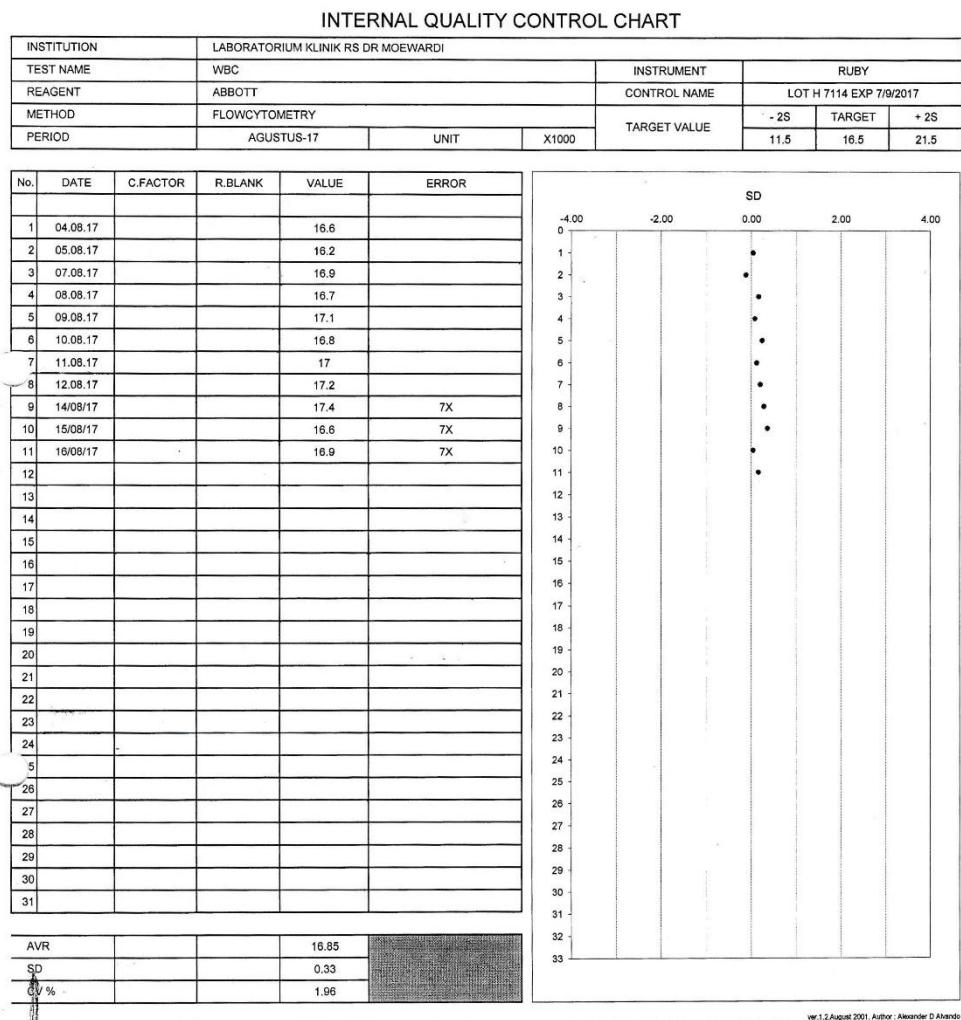
**Nama : Elfrida Melisa Ngamal**  
**NIM : 10170661 N**  
**Institusi : Prodi D.IV Analis Kesehatan FIK-USB Surakarta**

Telah selesai melaksanakan penelitian di RSUD Dr. Moewardi dalam rangka penulisan **Skripsi** dengan judul "**Korelasi Antara Rasio Eosinofil - Leukosit (REL) dan HbA1c pada Pasien DM Tipe 2**".

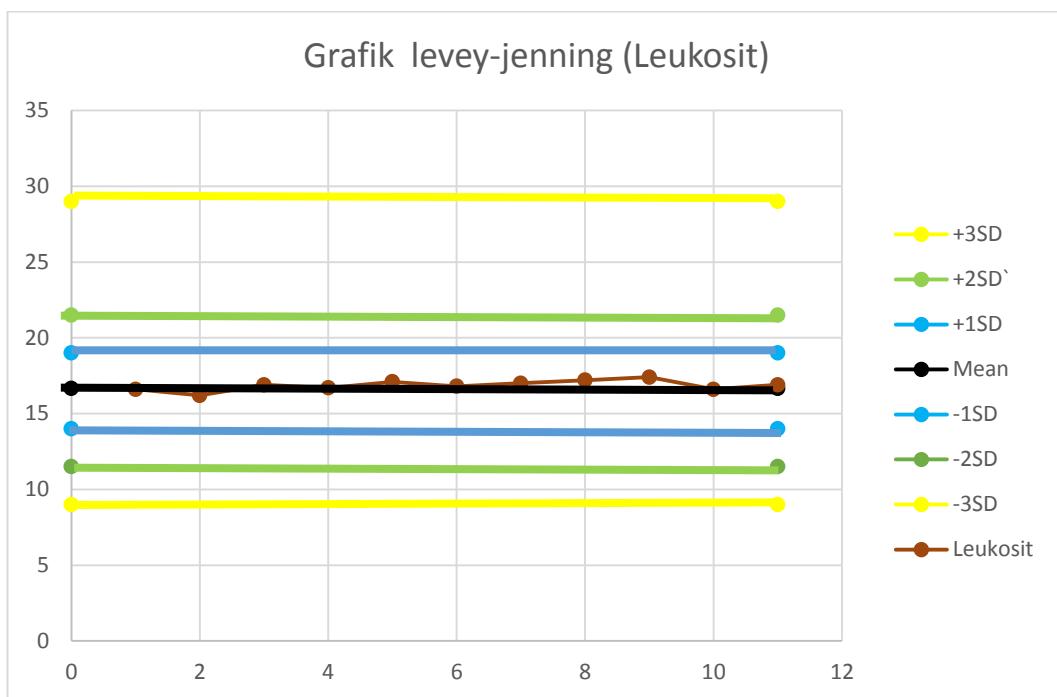
Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Surakarta, 12 Juli 2018  
 a.n DIREKTUR RSUD Dr. MOEWARDI  
 PROVINSI JAWA TENGAH  
 Wakil Direktur Umum  
 RSUD Dr. MOEWARDI  
 Dr. dr. Suharto Wijanarko, Sp.U  
 Pembina Utama Muda  
 NIP. 19610407 198812 1 001

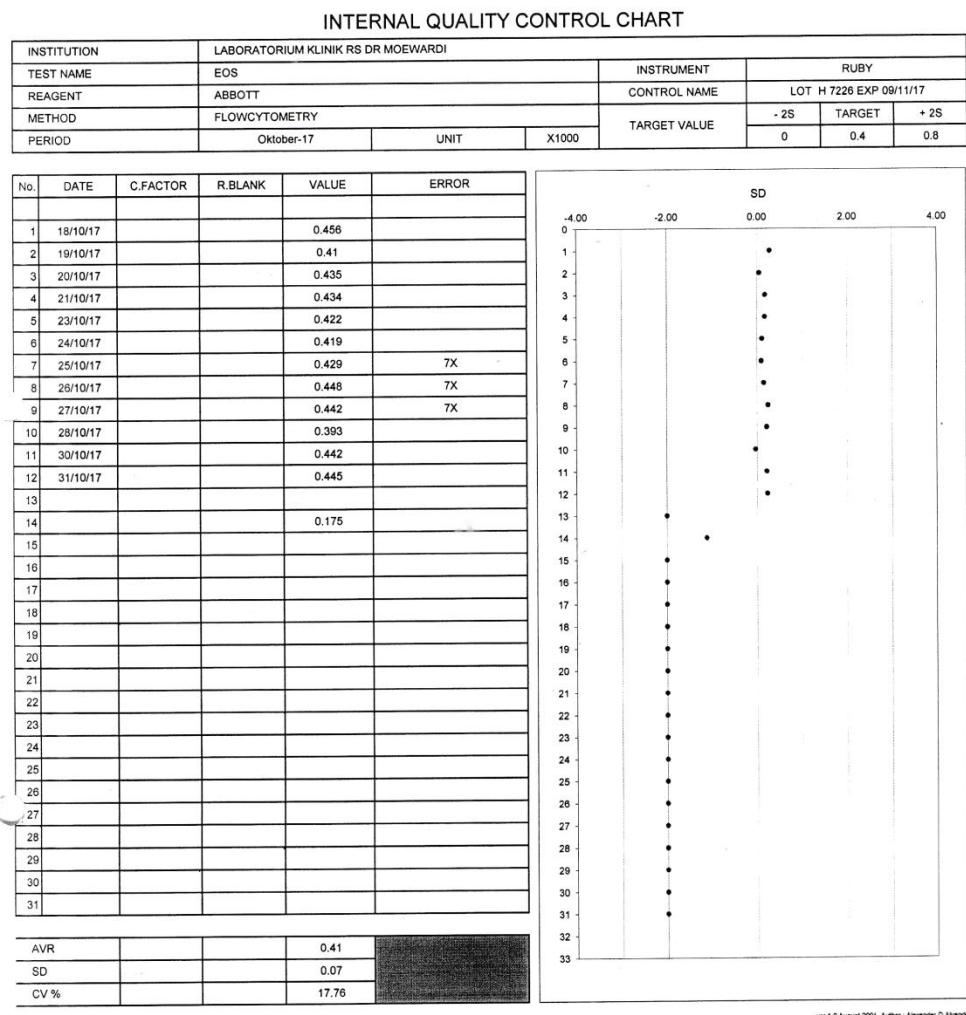
## Lampiran 5. Quality Control Leukosit



*n&s*  
**dr. Novida Dwi ,A**  
 Senior / Patologi Klinik

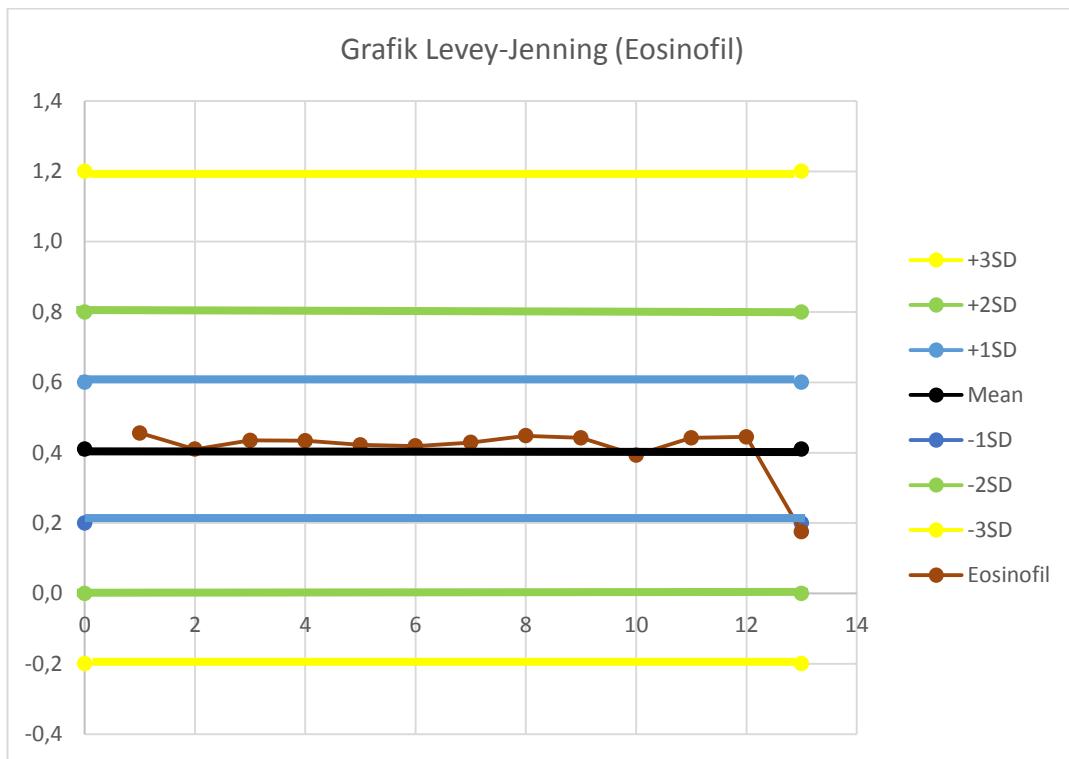


## Lampiran 6. Quality Control Eosinofil



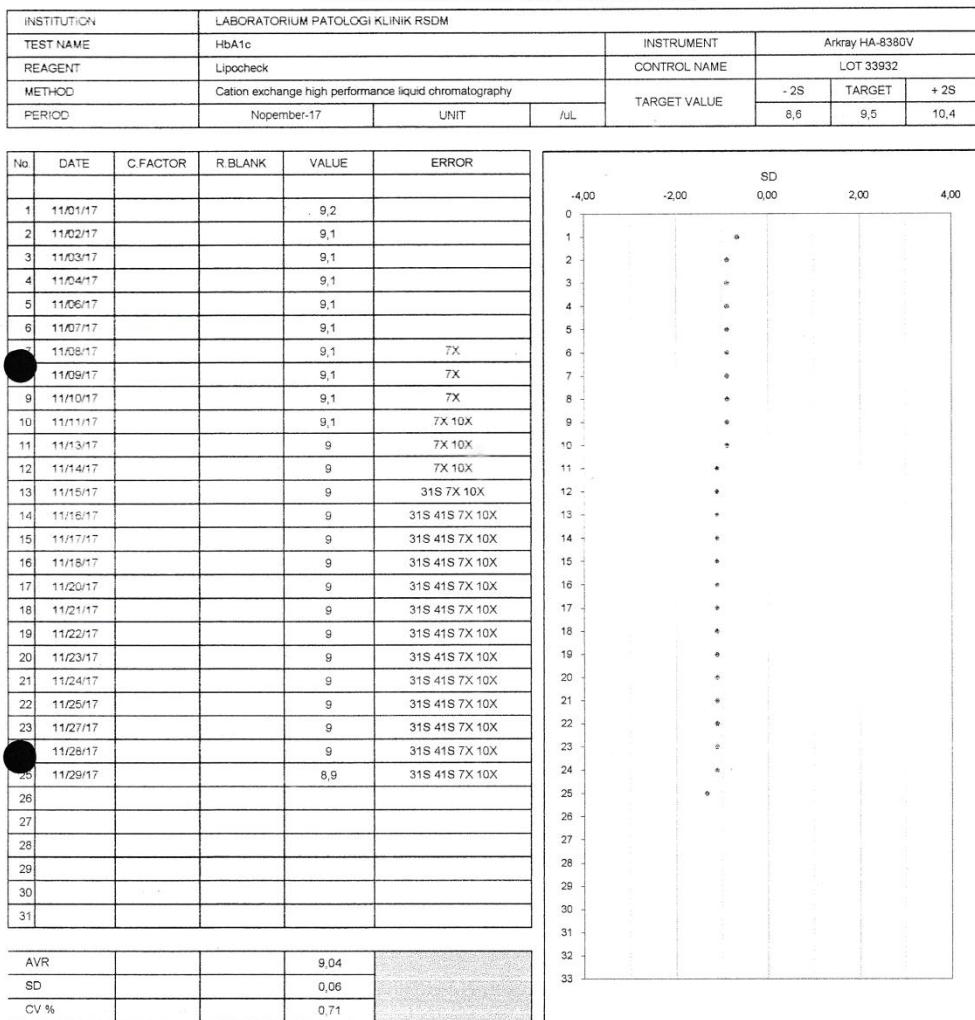
HOMERLUX

dr. Otniel W. Wahono  
Senior / Patolog Klinik

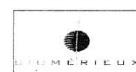


## Lampiran 7. Quality Control HbA1c

INTERNAL QUALITY CONTROL CHART

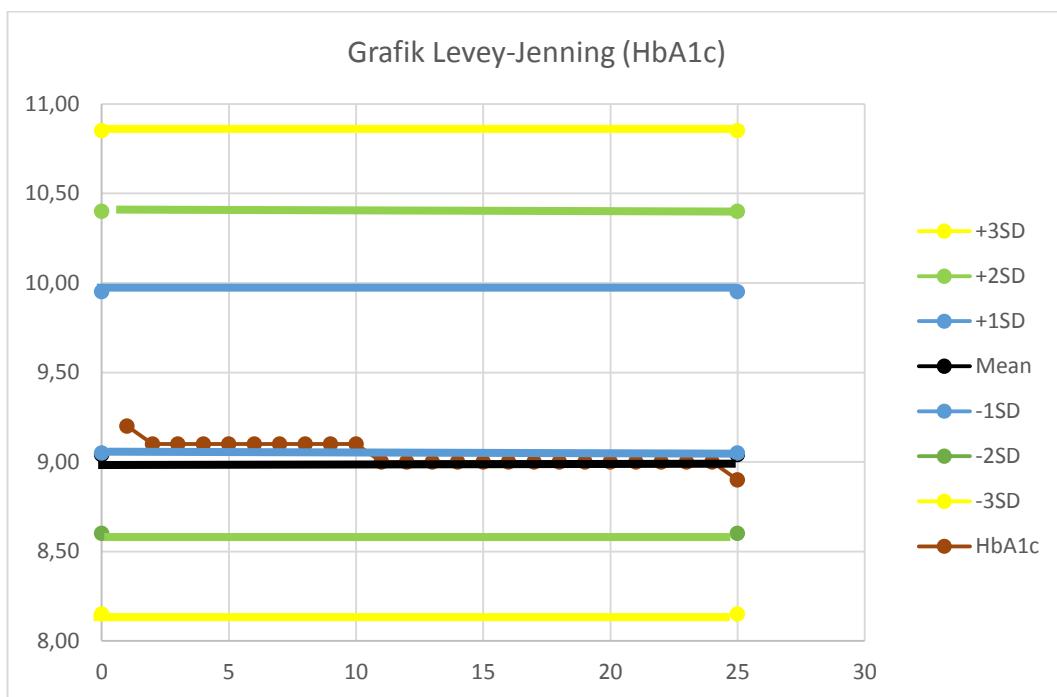


ver 1.2 August 2001. Author: Alexander D Andrade



dr. Eryanti Abas  
Chief Pathologist Klinik

J. Dwi Pramudiani, dr., MSc, SpPK-K  
NIP. 19760906 201409 2 001



### Lampiran 8. Prosedur Pengambilan Darah

Langkah – langkah pengambilan darah vena *menurut* (WHO, 2010).

- a. Menyiapkan *tourniquet*, kapas alkohol, kapas kering, sputit, tabung, plester, dan perlengkapan lain yang sesuai untuk pengambilan darah.
- b. Mencuci tangan menggunakan sabun dan air lalu keringkan tangan dengan handuk.
- c. Mengidentifikasi dan menyiapkan pasien.
- d. Memilih daerah vena *anticubital* (yaitu daerah tikungan siku). Posisikan lengan pasien sedikit menekuk dengan posisi ke bawah untuk mempermudah palpasi (meraba). Palpasi daerah tusukan ke arah *vertikal* dan *horizontal* untuk mencari pembuluh darah besar, jangan menyentuh daerah setelah diberi antiseptik.
- e. Memasang *tourniquet*, sekitar 4-5 jari di atas vena *puncture* yang dipilih.
- f. Meminta pasien untuk mengepalkan tangan sehingga pembuluh darah dapat terlihat.
- g. Memakai sarung tangan.
- h. Mensterilkan dengan alkohol 70% selama 30 detik dan biarkan kering.
- i. Menusuk bagian vena dengan memegang lengan pasien dan menempatkan jempol pada bagian bawah vena *puncture* dengan sudut kemiringan 30 derajat.
- j. Setelah volume darah cukup terkumpul, lepaskan *tourniquet*.
- k. Menarik jarum dengan lembut dan letakkan kassa bersih atau kering pada daerah tusukan.

- l. Membuang jarum dan darah bekas sampling ke dalam wadah setelah pengambilan darah.
- m. Memeriksa label dan formulir pemeriksaan.
- n. Membuang sarung tangan pada wadah infeksius.
- o. Mencuci tangan dengan sabun dan air mengalir dan keringkan dengan handuk.

**Lampiran 9. Prosedur Pemeriksaan Eosinofil dan Leukosit (PK RSDM, 2017).**

**a. Menjalankan *Background***

- 1) Pilih *background* dari menu *specimen ID* atau *QCID* dalam menu *Next Open Tube Entry*.
- 2) Tekan *Touch Plate* untuk memulai *run background* masuk dalam *range* (tulisan berwarna putih) sebelum *run* kontrol dan pasien. Nilai *background* masuk kriteria
  - WOC  $\leq 0,10$
  - PLT  $\leq 5,0$
  - NOC  $\leq 0,10$
  - HGB  $\leq 0,10$
  - RBC  $\leq 0,02$

**b. Prekalibrasi**

- 1) Gunakan selalu reagen Abbot.
- 2) *Run* presisi, pada *open* dan *closed Mode* dengan cara masuk ke menu *calibration, Quick precision check*.
- 3) Pastikan % CV masuk dalam range tabel berikut ini:

**Tabel 6. Persentase batas CV**

Parameter	% CV Limit
WOC	$\leq 2,4\%$
NOC	$\leq 2,8\%$
RBC	$\leq 1,8\%$
HGB	$\leq 1,4\%$
MCV	$\leq 0,8\%$
PLT	$\leq 3,8\%$

(Sumber: PK RSDM, 2017).

### c. *Auto Calibration - Open Mode*

- 1) Pastikan alat dalam keadaan *Open Mode*, jika alat dalam keadaan *closed Mode* pilih F 11 – *Select open* untuk merubah status dari *Closed* ke *Open*.
- 2) Pilih *Calibration*, kemudian *Auto – Calibration Wizard* pada *drop down* menu. Kotak dialog *Auto – Calibration Wizard* akan terbuka.
- 3) Pilih *Next>* dan *Pre – Calibration Reagen / Waste*, kotak dialog akan terbuka dan ikuti petunjuk.
- 4) Pilih *Next>* dan *Pre – Calibration Precision Check Status*. Periksa untuk parameter yang akan dikalibrasi, pastikan semuanya di dalam *range* (*PASS*). Hasil presisi tidak boleh lebih dari 24 jam.
- 5) Pilih *Next>* dan dialog *Pre – Calibration Background Check* status akan terbuka, mulai dengan siklus *auto background*. Setelah selesai ada informasi pada dialog *box*.
- 6) Pastikan kolom *Result* mengindikasikan *PASS*, perhitungan *background in range*.
- 7) Pilih *Rerun Background* jika parameter ada yang *Failed*. Tekan *Next>* dan *Calibration Set Up*. Baca informasi pada dialog box dan ikuti instruksi.

#### d. Memasukkan Nilai *Calibration*

- 1) Tekan *Next>* dan *Calibration Set Up – Reference Values for Calibrator.*  
Baca informasinya dan ikuti instruksinya.
- 2) Masukkan nilai kalibrator pada lembaran *assay*.
- 3) Berikan tanda ‘V’ pada parameter yang akan diisi.
- 4) Tekan *Enter* untuk menyimpan data nilai *assay* setelah mengisi nilai terakhir.
- 5) Tekan *Next>* dan kotak *Auto – Calibration Data View* terbuka. Kolom *Run#* akan menampilkan jumlah run yang sudah ditentukan pada layar *Calibration Setup – Reference for Calibrator.*
- 6) Baca instruksi pada kotak dialog *Auto – Calibration Data Viewrun* spesimen.
- 7) Ikuti instruksi pada *package insert* kalibrator untuk prosedur *handling* and *mixing* spesimen.
- 8) Buka tutup *vial* kalibrator.
- 9) Taruh *vial* kalibrator di bawah *Open Mode Probe*.
- 10) Tekan *touch plate* untuk aspirasi spesimen.
- 11) Tunggu status instrumen sampai *Ready* jika *run* sudah selesai.
- 12) Teruskan *run* kalibrasi hingga replikasi *run* sudah lengkap.
- 13) *Review* data kalibrasi, tekan *Next>* jika kalibrasi dapat diterima.
- 14) Tekan *Finish* setelah keluar dialog *box*.

**e. *Auto Calibration - Open Mode* (membutuhkan 6 – 10 sampel darah pasien normal)**

- 1) Buka informasi pada dialog *box*.
- 2) Pilih *Next*, masukkan spesimen ID untuk *open mode* di *NOTE*.
- 3) Jalankan 6 – 10 sampel darah normal di Open Mode.
- 4) Pindah ke *Closed Mode* dan jalankan 6-10 sampel darah normal. Untuk *reject run* bisa dikosongkan kotak kecil di sebelah kanan.
- 5) Evaluasi hasil *closed/ open mode bias result*.
- 6) Pilih *Finish*, kemudian *dialog box* akan menyatakan *Auto calibrate completed successfully*. Tekan *Finish*, kemudian *close*.

**f. *Running Kontrol***

- a) Hangatkan kontrol di suhu ruang minimal  $\frac{1}{2}$  jam.
- b) Lihat setelah status alat *ready*, tekan F11 – *select open*.
- c) Cari QCID *files* yang akan di *run* dari *Next Open Tube Entry* (*NOTE*).
- d) Letakkan kontrol yang telah di homogenisasi di bawah *probe*.
- e) Tekan *touch plate* untuk aspirasi sampel/ kontrol, jika *wash block* sudah turun lepaskan tabung dan tutup kembali.
- f) Lihat hasil, bandingkan dengan *range*, pastikan nilai kontrol masuk dalam *range* (tulisan berwarna putih).

**g. *Running Sampel***

- 1) *Open Mode*
  - a) Tekan F11 untuk memilih *Open Mode* saat status *Ready*.
  - b) Masukkan ID sampel ke kolom *Spec ID QCID*.

- c) Pilih test yang akan di *running* pada menu: *Patient*.
  - d) Isi data pasien dengan cara tekan tombol *More Spec Info*.
  - e) Letakkan sampel pasien yang telah dihomogenisasi di bawah *probe* *Open Mode*.
  - f) Tekan *touch plate* untuk *aspirate* sampel.
  - g) Lihat hasil pada data *Datalog* dan terdisplay di layar *Run*.
  - h) Cetak hasil.
- 2) *Closed Mode*
    - a) Tekan F11 untuk memilih *Closed Mode* saat status alat *Ready*.
    - b) Tekan F11 – *Start Loader*, sampel loader akan memproses otomatis sampelnya.
    - c) Jika akan memberhentikan sampel loader maka pilih F12 /Stop leader. Rak terakhir akan bergerak ke bagian *unload Sample Loader* jika proses sudah selesai.
    - d) Lihat hasil pada *Datalog* dan terdisplay di layar *Run*.
    - e) Cetak hasil.

#### **Lampiran 10. Prosedur Pemeriksaan HbA1c (PK RSDM, 2017).**

##### **a. Siapkan *Calibrator 80***

- 1) Kalibrator dengan 2 *level* (*low* and *high*).
- 2) Rekonstitusikan setiap vial kalibrator dengan 3 mL *Calibrator 80 Diluent*.
- 3) Bairkan selama 10 menit, lalu inversikan *vial* beberapa kali untuk homogenisasi.

- 4) Stabil selama 8 jam suhu 2- 8 °C.

**b. Control (*Lypcheck HbA1c control*)**

- 1) Kontrol dengan 2 *level* (*low* dan *high*).
- 2) Rekonstitusikan setiap *vial* dengan *purified water* sebanyak 0,5 mL.
- 3) Biarkan selama 5 -10 menit, lalu goyangkan perlahan *vial* beberapa kali untuk homogenisasi sebelum digunakan.
- 4) Stabil selama 7 hari suhu 2- 8°C.

**c. Whole Blood Samples.**

- 1) Sampel darah utuh ditampung dalam tabung vakutener dengan EDTA sebagai antikoagulan.
- 2) Stabil selama 3 – 4 hari suhu 2 – 8 ° C.
- 3) Biarkan sampel darah utuh mencapai suhu ruangan sebelum dianalisa.  
Tidak diperlukan preparasi sampel.
- 4) Bila diperlukan, lakukan pengenceran terhadap sampel darah utuh yang mengalami hemolis dengan *Diluent* 80 sebanyak 101 kali atau sesuaikan kecepatan pengenceran untuk mencapai A<sub>0</sub> : 20000 – 60000 lalu ukur dengan menggunakan *hemolysis pair rack*.
- 5) Bila akan mengukur sampel yang diketahui sampel anemia, gunakan *anemia rack*.

**d. Persiapan Reagen (*Eluent A, Eluent B, dan Eluent CV*).**

- 1) *Eluent* dikemas dalam kemasan *aluminium pack*, 600 mL.
- 2) Simpan di suhu antara 3 – 30 ° C.
- 3) Setelah dibuka, gunakan *Eluent* dalam jangka waktu 30 hari.

- 4) Bila tidak akan digunakan dalam jangka waktu 7 hari atau lebih, lepaskan *Eluent* dari instrument dan simpan.

**e. Pilih *Measurement Mode*.**

- 1) Pastikan instrument dalam kondisi *standby* (layar menampilkan *STANDBY SCREEN*).
- 2) Tekan Menu.
- 3) Lalu pilih <3> *Measurement condition* Menu.
- 4) Lalu pilih <5> *Measurement Mode Setup*.
- 5) Tekan tombol [-] untuk memilih *mode* antara *FAST* atau *VARIANT*.
- 6) Tekan OK untuk konfirmasi pilihan.
- 7) *Measurument Mode* yang dipilih akan ditampilkan di layar *Standby*.
- 8) Lakukan kontrol setiap melakukan penggantian *Measurement Mode*.  
Lakukan kalibrasi jika perlu.

**f. Langkah *Calibration*.**

- 1) Siapkan *Calibrator 80*, *Calibrator Diluent 80*, *sample cup*, darah utuh sebagai *Dummy Sample*, dua tabung primer kosong untuk ditempel *barcode calibrator 80*, *call rack*, *barcode Calibrator 80*.
- 2) Lakukan rekonstitusi *calibrator 80* menggunakan *calibrator Diluent 80*.
- 3) Di *cal rak*, tempatkan *calibrator*, *Dummy sample*, dan tabung *barcode* sebagai berikut:

**Tabel 7. Posisi Calibrator, Dummy sample, dan tabung barcode pada cal rack**

Nama	Jumlah	Sample container	Posisi	
Calibrator low level	80	Min 400 $\mu$ L; maka 500 $\mu$ L	Sampel cup	Port no.9
Calibrator High level	80	Min 400 $\mu$ L; maka 500 $\mu$ L	Sampel cup	Port no.10
Dummy sample	2	tabung @ min 1 Ml	Tabung primer	Port no 4 – 8
Tabung barcode	2	tabung kosong +barcode	Tabung primer	Port no 1 -3

(Sumber: PK RSDM, 2017).

- 4) Pastikan *barcode* menghadap ke bagian *rear* dari *cal rack*.
- 5) Tempatkan *cal rack* ke *loading site*, lalu tekan *start*.
- 6) Periksa hasil kalibrasi.
- 7) Keluarkan *cal rack* dari *unloading site*.

#### **g. Langkah quality control**

- 1) Siapkan larutan kontrol sesuai dengan *sample preparation* untuk *Lypocheck HbA1c control*.
- 2) Masukkan larutan *control Low* dan *High* ke dalam *sample cup* (min. 400  $\mu$ L; maka 500  $\mu$ L).
- 3) Tempatkan larutan kontrol di *port* bermotor genap dari *Hemolysis control Rack* (kosongkan *port* bermotor ganjil).
- 4) Tempatkan *Hemolysis control Rack* di *loading site*.
- 5) Tekan *start*.
- 6) Periksa hasil dari kontrol.

#### **h. Pengukuran Sampel HbA1c Sampel Rutin**

- 1) Siapkan sampel darah utuh sebagai berikut :

**Tabel 8. Posisi sampel**

<b>Tipe sampel</b>	<b>Diluent</b>	<b>Kontainer sampel</b>	<b>Adapter</b>	<b>Rak sampel</b>	
Darah utuh non anemia	-	Tabung primer	<i>Spinning adapter</i> perlu	unit jika	Normal rack
Darah utuh non anemia	-	Sampel cup	<i>Gray adapter</i>		Normal rack
Darah utuh anemia	-	Tabung primer	<i>Spinning adapter</i> perlu	unit jika	Anemia rack
Sampel hemolisis	<i>Control dilution set</i> 80	Sampel cup	<i>Gray adatper</i>		H pair rack

(Sumber: PK, RSDM, 2017).

- 2) tempatkan rak sampel ke *loading site*.
- 3) Tekan *Start*.
- 4) Hasil.
- 5) Keluarkan rak sampel dari *unloading site*.
- 6) Setelah proses pengukuran HbA1c sampel sudah selesai, instrumen akan kembali keadaan *standby* (muncul *standby screen*).

#### i. Cara Mematikan Instrumen

Bila hendak mematikan instrumen, pastikan dalam keadaan *standby*, lalu tekan *standby switch off*, kemudian tekan *power switch off*.

### Lampiran 11. Data Subjek Penelitian

No	Umur	Sex	Eosinofil (%)	Total Leukosit (µl)	Total Eosinofil (µl)	HbA1c (%)	Rasio Eosinofil - Leukosit	Log Rasio Eosinofil - Leukosit
1	49	1	1,80	11.500	207	6,6	0,018	-1,74473
2	55	2	0,30	14.800	44,4	5,6	0,003	-2,52288
3	53	2	0,40	6.200	24,8	6,2	0,004	-2,39794
4	64	2	1,80	6.300	113,4	5,1	0,018	-1,74473
5	43	1	0,50	11.100	55,5	14,0	0,005	-2,30103
6	57	2	0,20	36.300	72,6	11,3	0,002	-2,69897
7	43	1	1,90	8.800	167,2	7,1	0,019	-1,72125
8	55	2	0,50	18.800	94	17,4	0,005	-2,30103
9	51	2	1,20	11.300	135,6	5,6	0,012	-1,92082
10	61	1	1,10	25.100	276,1	12,8	0,011	-1,95861
11	68	1	1,40	6.100	85,4	11,3	0,014	-1,85387
12	64	2	2,40	7.700	184,8	6,3	0,024	-1,61979
13	71	2	1,30	3.800	49,4	5,0	0,013	-1,88606
14	61	2	0,20	14.000	28	15,0	0,002	-2,69897
15	40	2	0,30	9.800	29,4	15,1	0,003	-2,52288
16	70	2	1,50	14.800	222	8,3	0,015	-1,82391
17	46	2	6,40	7.900	505,6	9,2	0,064	-1,19382
18	49	2	3,10	8.100	251,1	13,1	0,031	-1,50864
19	49	2	2,80	7.800	218,4	13,8	0,028	-1,55284
20	70	1	0,80	3.800	30,4	9,2	0,008	-2,09691
21	47	2	1,10	8.500	93,5	7,6	0,011	-1,95861
22	45	2	0,40	14.300	57,2	11,4	0,004	-2,39794
23	43	1	0,40	15.100	60,4	12,2	0,004	-2,39794
24	56	2	1,10	9.300	102,3	10,9	0,011	-1,95861
25	60	1	0,20	21.400	42,8	5,9	0,002	-2,69897
26	42	1	0,90	10.400	93,6	10,7	0,009	-2,04576
27	46	1	1,10	13.100	144,1	15,8	0,011	-1,95861
28	71	1	0,70	17.300	121,1	4,6	0,007	-2,1549
29	61	1	5,60	5.200	291,2	14,7	0,056	-1,25181
30	51	2	2,70	11.300	305,1	3,7	0,027	-1,56864
31	63	2	6,00	6.400	384	6,9	0,06	-1,22185
32	79	2	2,60	9.800	254,8	12,8	0,026	-1,58503
33	48	2	3,10	7.000	217	6,5	0,031	-1,50864
34	51	1	3,80	8.500	323	8,6	0,038	-1,42022
35	55	1	1,30	21.200	275,6	7,5	0,013	-1,88606
36	53	1	0,60	9.200	55,2	6,2	0,006	-2,22185
37	57	2	3,40	7.800	265,2	4,4	0,034	-1,46852
38	70	2	0,70	8.300	58,1	4,2	0,007	-2,1549

No	Umur	Sex	Eosinofil (%)	Total Leukosit (µl)	Total Eosinofil (µl)	HbA1c (%)	Rasio Eosinofil - Leukosit	Log Rasio Eosinofil - Leukosit
39	60	1	0,20	13.800	27,6	10,2	0,002	-2,69897
40	51	2	0,50	11.000	55	13,8	0,005	-2,30103
41	51	1	5,70	5.200	296,4	8,7	0,057	-1,24413
42	59	1	1,50	11.800	177	5,6	0,015	-1,82391
43	60	2	0,50	9.900	49,5	10,8	0,005	-2,30103
44	70	1	0,20	8.000	16	5,1	0,002	-2,69897
45	54	2	1,30	11.900	154,7	9,2	0,013	-1,88606
46	51	1	0,20	13.800	27,6	7,0	0,002	-2,69897
47	50	2	7,10	3.600	255,6	6,4	0,071	-1,14874
48	57	2	0,30	16.000	48	8,1	0,003	-2,52288
49	53	2	2,30	4.800	110,4	11,2	0,023	-1,63827
50	56	2	1,00	8.100	81	5,6	0,01	-2
51	51	2	3,40	12.800	435,2	9,9	0,034	-1,46852
52	67	1	5,20	6.900	358,8	4,8	0,052	-1,284
53	43	1	0,80	19.400	155,2	10,5	0,008	-2,09691
54	40	1	0,10	19.600	19,6	11,0	0,001	-3
55	38	2	0,10	30.300	30,3	14,6	0,001	-3
56	49	2	0,20	18.100	36,2	17,0	0,002	-2,69897
57	48	1	4,20	13.900	583,8	10,7	0,042	-1,37675
58	65	1	7,60	9.500	722	7,3	0,076	-1,11919
59	53	2	1,10	7.200	79,2	10,4	0,011	-1,95861
60	62	1	1,80	10.000	180	12,2	0,018	-1,74473
61	57	1	3,80	6.400	243,2	8,4	0,038	-1,42022
62	57	1	0,40	8.100	32,4	19,6	0,004	-2,39794
63	31	2	0,50	14.300	71,5	17,9	0,005	-2,30103
64	35	2	0,40	7.400	29,6	15,5	0,004	-2,39794
65	55	2	10,30	6.800	700,4	9,2	0,103	-0,98716
66	71	2	0,80	11.200	89,6	10,0	0,008	-2,09691
67	58	2	1,20	9.500	114	17,5	0,012	-1,92082
68	35	2	0,30	13.100	39,3	5,9	0,003	-2,52288
69	47	2	3,60	8.300	298,8	12,6	0,036	-1,4437
70	57	2	1,70	6.700	113,9	7,9	0,017	-1,76955
71	54	2	0,50	13.100	65,5	7,4	0,005	-2,30103
72	72	2	1,40	17.500	245	12,4	0,014	-1,85387
73	44	2	2,30	7.500	172,5	6,7	0,023	-1,63827
74	63	2	2,50	9.700	242,5	10,9	0,025	-1,60206
75	69	2	0,20	9.900	19,8	5,4	0,002	-2,69897
76	53	2	0,30	15.700	47,1	13,0	0,003	-2,52288
77	56	2	0,10	5.000	5	4,9	0,001	-3
78	58	2	0,90	15.400	138,6	8,7	0,009	-2,04576

No	Umur	Sex	Eosinofil (%)	Total Leukosit (µl)	Total Eosinofil (µl)	HbA1c (%)	Rasio Eosinofil - Leukosit	Log Rasio Eosinofil - Leukosit
79	70	2	0,20	8.700	17,4	7,9	0,002	-2,69897
80	65	2	0,10	7.500	7,5	10,3	0,001	-3
81	58	2	3,50	8.500	297,5	9,0	0,035	-1,45593
82	59	1	3,40	5.700	193,8	4,9	0,034	-1,46852
83	70	1	3,90	7.100	276,9	9,9	0,039	-1,40894
84	75	2	0,10	11.300	11,3	10,4	0,001	-3
85	51	2	3,10	8.700	269,7	12,6	0,031	-1,50864
86	39	1	0,30	25.800	77,4	9,4	0,003	-2,52288
87	52	2	0,30	18.400	55,2	14,8	0,003	-2,52288
88	48	1	1,30	7.100	92,3	8,5	0,013	-1,88606
89	61	2	0,50	17.900	89,5	7,6	0,005	-2,30103
90	72	1	2,10	8.400	176,4	5,3	0,021	-1,67778
91	44	1	1,10	16.400	180,4	15,5	0,011	-1,95861
92	55	2	1,50	5.200	78	6,5	0,015	-1,82391
93	56	1	0,70	11.400	79,8	6,9	0,007	-2,1549
94	64	1	4,40	10.400	457,6	7,6	0,044	-1,35655
95	44	2	0,20	19.500	39	11,7	0,002	-2,69897
96	56	2	1,10	29.100	320,1	15,2	0,011	-1,95861
97	65	2	0,50	10.400	52	5,9	0,005	-2,30103
98	46	2	0,40	27.100	108,4	6,5	0,004	-2,39794
99	70	2	3,60	10.200	367,2	5,3	0,036	-1,4437
100	54	1	9,90	4.700	465,3	8,6	0,099	-1,00436

### Lampiran 12. Data Karakteristik Subjek Penelitian

Statistics					
	Umur	Jenis kelamin	Total eosinofil	Total leukosit	
N	Valid	100	100	100	100
	Missing	0	0	0	0
Mean		55,51	1,63	162,198	11688,00
Std. Deviation		9,966	,485	148,7789	6133,717

### Lampiran 13. Hasil Uji Normalitas Data (Sebelum ditransformasi)

		One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test	
		Rasio eosinofil – leukosit	HbA1c
N		100	100
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	,01843	9,569
	Std. Deviation	,020781	3,7019
	Absolute	,206	,093
Most Extreme Differences	Positive	,206	,093
	Negative	-,201	-,063
Kolmogorov-Smirnov Z		2,055	,926
Asymp. Sig. (2-tailed)		,001	,358

**Lampiran 14. Hasil Uji Normalitas Data (Sesudah ditransformasi)**

		One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test	
		LOG RASIO	HbA1c
N		100	100
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	-2,0011	9,569
	Std. Deviation	,51366	3,7019
	Absolute	,080	,093
Most Extreme Differences	Positive	,080	,093
	Negative	-,073	-,063
Kolmogorov-Smirnov Z		,804	,926
Asymp. Sig. (2-tailed)		,538	,358

**Lampiran 15. Hasil Analisis Data Korelasi Antara Rasio Eosinofil – Leukosit dan HbA1c Pada Pasien DM tipe 2.**

		Correlations	
		LOG RASIO	HbA1c
LOG RASIO	Pearson Correlation	1	-,181
	Sig. (2-tailed)		,071
N		100	100
HbA1c	Pearson Correlation	-,181	1
	Sig. (2-tailed)	,071	
N		100	100