

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Bahan Kontrol



Bambang Supriyanta, S.Si., M.Sc

**PRODI SARJANA TERAPAN TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS AISYIYAH YOGYAKARTA**

Dasar Hukum

- **PERATURAN MENTERI KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA
NOMOR 43 TAHUN 2013
TENTANG CARA PENYELENGGARAAN
LABORATORIUM KLINIK YANG BAIK
BAHAN KONTROL → HAL 33**
 - Stabilitas bahan kontrol → hal 39



MENTERI KESEHATAN
REPUBLIK INDONESIA

PERATURAN MENTERI KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA
NOMOR 43 TAHUN 2013

TENTANG

CARA PENYELENGGARAAN LABORATORIUM KLINIK YANG BAIK

DENGAN RAHMAT TUHAN YANG MAHA ESA

MENTERI KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA,

c. Stabilitas bahan kontrol

Umumnya bentuk padat bubuk (liofilisat) lebih stabil dan tahan lama dari pada bentuk cair. Untuk memudahkan transportasi, umumnya bentuk padat bubuk dibuat dalam bentuk strip.

Definisi

- Bahan kontrol adalah bahan yang digunakan untuk memantau ketepatan suatu pemeriksaan di laboratorium atau untuk mengawasi kualitas hasil pemeriksaan sehari-hari (DepKes, 2013).
- Bahan kontrol merupakan kumpulan cairan biologis (baik serum, urin atau material cairan tubuh lainnya baik yang berasal dari manusia, maupun hewan dibuat secara artifisial yang mengandung analit yang telah diukur dan ditentukan oleh laboratorium, serta memiliki kadar/ konsentrasi yang telah diketahui sedemikian rupa sehingga mampu ditentukan batasan pengukurannya.

Tujuan Penggunaan Bahan Kontrol :

1. Memantau kinerja laboratorium.
2. Membuktikan akurasi hasil.
3. Memvalidasi metode.
4. Memungkinkan perbandingan metode.

- Sumber bahan kontrol
Ditinjau dari sumbernya, bahan kontrol dapat berasal dari manusia, hewan atau bahan kimia murni.
- Bentuk bahan kontrol
 1. cair,
 2. padat bubuk (liofilisat),
 3. strip.
Bahan kontrol bentuk padat bubuk atau bentuk strip harus dilarutkan terlebih dahulu sebelum digunakan.

- Bahan kontrol yang dibuat sendiri

1. Serum kumpulan (*pooled sera*)

Bahan kontrol yang dibuat dari serum, disebut serum kumpulan (*pooled sera*).

Pooled sera merupakan campuran dari bahan sisa serum pasien.

Keuntungan serum kumpulan : mudah didapat, murah, bahan berasal dari manusia, tidak perlu dilarutkan (rekonstitusi), dan laboratorium mengetahui asal bahan kontrol tsb.

Kekurangannya : merepotkan analisis untuk membuat serum kontrol, harus membuat kumpulan khusus untuk enzim, cara penyimpanan mungkin sukar bila kondisi suhu -70°C (deep freezer) tidak ada atau terlalu kecil, dan analisis statistik harus dikerjakan setiap 3 – 4 bulan.

Serum yang dipakai serum kumpulan syaratnya : tidak ikterik, tidak hemolitik, bebas dari HIV, HBV, HCV dan lain-lain

2. Larutan spikes

Bahan kontrol yang dibuat dari bahan kimia murni, yang sering disebut sebagai

3. Hemolizat

Bahan kontrol yang dibuat dari lisat, disebut juga sebagai

4. Bahan kontrol dari serum hewan

- Bahan kontrol komersial

1. Bahan kontrol Unassayed

Bahan kontrol Unassayed mrpkn bahan kontrol yang tdk memp nilai rujukan. Nilai rujukan diperoleh stlh dilakukan periode pendahuluan. Biasanya dibuat kadar normal atau abnormal (abnormal tinggi atau abnormal rendah).

Keunggulannya : lebih tahan lama, bisa digunakan untuk semua tes, tidak perlu membuat sendiri, analisis statistik dilakukan satu kali pertahun. Kekurangannya : kadang-kadang ada variasi dari botol ke botol ditambah kesalahan pada rekonstitusi

2. Bahan kontrol Assayed

Bahan kontrol Assayed merupakan bahan kontrol yang diketahui nilai rujukannya serta batas toleransi menurut metode pemeriksaannya.

Harga bahan kontrol ini lebih mahal.

Bahan kontrol ini dapat digunakan disamping bahan kontrol unassayed setiap 2 – 4 minggu.

Bahan kontrol ini dapat digunakan untuk kontrol akurasi. Selain itu, serum assayed diperlukan untuk menilai alat dan cara baru (Depkes, 2013).

- Penggunaan bahan kontrol
 1. Bahan kontrol yang dibuat dari bahan kimia murni banyak dipakai pada pem kimia lingkungan dan urinalisa.
 2. Pooled serum dan liofilisat banyak digunakan di bidang kimia klinik dan imunoserologi.
 3. Bahan kontrol assayed digunakan untuk uji ketepatan dan ketelitian pemeriksaan, uji kualitas reagen, uji kualitas alat dan uji kualitas metode pemeriksaan.
 4. Bahan kontrol unassayed digunakan untuk uji ketelitian suatu pemeriksaan.

- Stabilitas bahan kontrol

1. Liofilisat

Liofilisat lebih stabil dan tahan lama daripada bentuk cair. (Depkes, 2013).

Kestabilan bahan kontrol yang dari pabrik seperti bahan kontrol merk “X” bentuk liofilisat pada suhu 2-8⁰C stabil sampai tanggal kadaluarsa, tetapi apabila dalam bentuk cair stabil pada suhu -20⁰C sampai tanggal kadaluarsa dan suhu 2-8⁰C selama 7 hari (Randox, 2007).

2. Pooled serum

Kestabilan pooled serum pada :

a. suhu -20°C stabil selama 6 bulan,

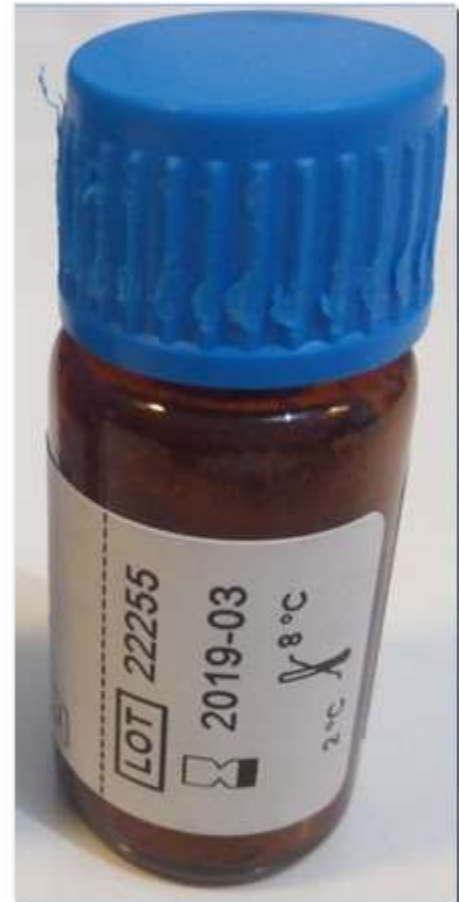
b. suhu 4°C stabil selama 4 bulan,

c. suhu $2-8^{\circ}\text{C}$ selama 5 hari,

c. temperatur ruangan stabil 1 hari, (Soehartini, 2009).

Kestabilan pooled serum juga dipengaruhi dengan adanya kontaminasi mikroorganisme (WHO, 1999).

Bahan Kontrol Kimia Klinik



Liofilisat

- Penyimpanan bahan control
Kestabilan bahan kontrol dipengaruhi oleh pemaparan udara, cahaya, dinding wadah atau suhu tinggi.
Bahan kontrol harus dilindungi terhadap setiap pengaruh kimia, fisika dan mekanik yang dapat menyebabkan perubahan komponennya
Penyimpanan bahan kontrol pada suhu -20°C , disamping itu dilindungi dengan gas inert, penambahan asam, dan penggunaan wadah botol coklat (Dux, 1991).

Bahan kontrol yang ideal

- Murah
- Tahan lama
- Langsung dapat diperiksa
- Mudah larut dan tidak aglutinasi
- Sifat aliran mirip dengan darah
- Proporsi elektrik & optik mirip dg darah
- Ukuran partikel & bentuk mirip dg darah
- Dapat diukur dgn metode independen



- Persyaratan bahan kontrol.
 1. Harus memiliki komposisi sama atau mirip dengan spesimen, mis utk pem urin dig bahan kontrol urin atau zat yang menyerupai urin.
 2. Bahan kontrol dibagi-bagi dlm vial (dialiqout), sehingga hrs homogen, hal ini diuji dengan uji homogenitas
 3. Komponen yang terkandung di dalam bahan kontrol harus stabil, hal ini diuji dengan uji stabilitas
 4. Harus negatif untuk penyebab infeksi seperti: hepatitis B dan C, serta HIV I dan II

5.Hendaknya disertai dengan sertifikat analisis yang dikeluarkan oleh pabrik yang bersangkutan pada bahan kontrol jadi (komersial) (Depkes, 2013).

Uji Homogenitas

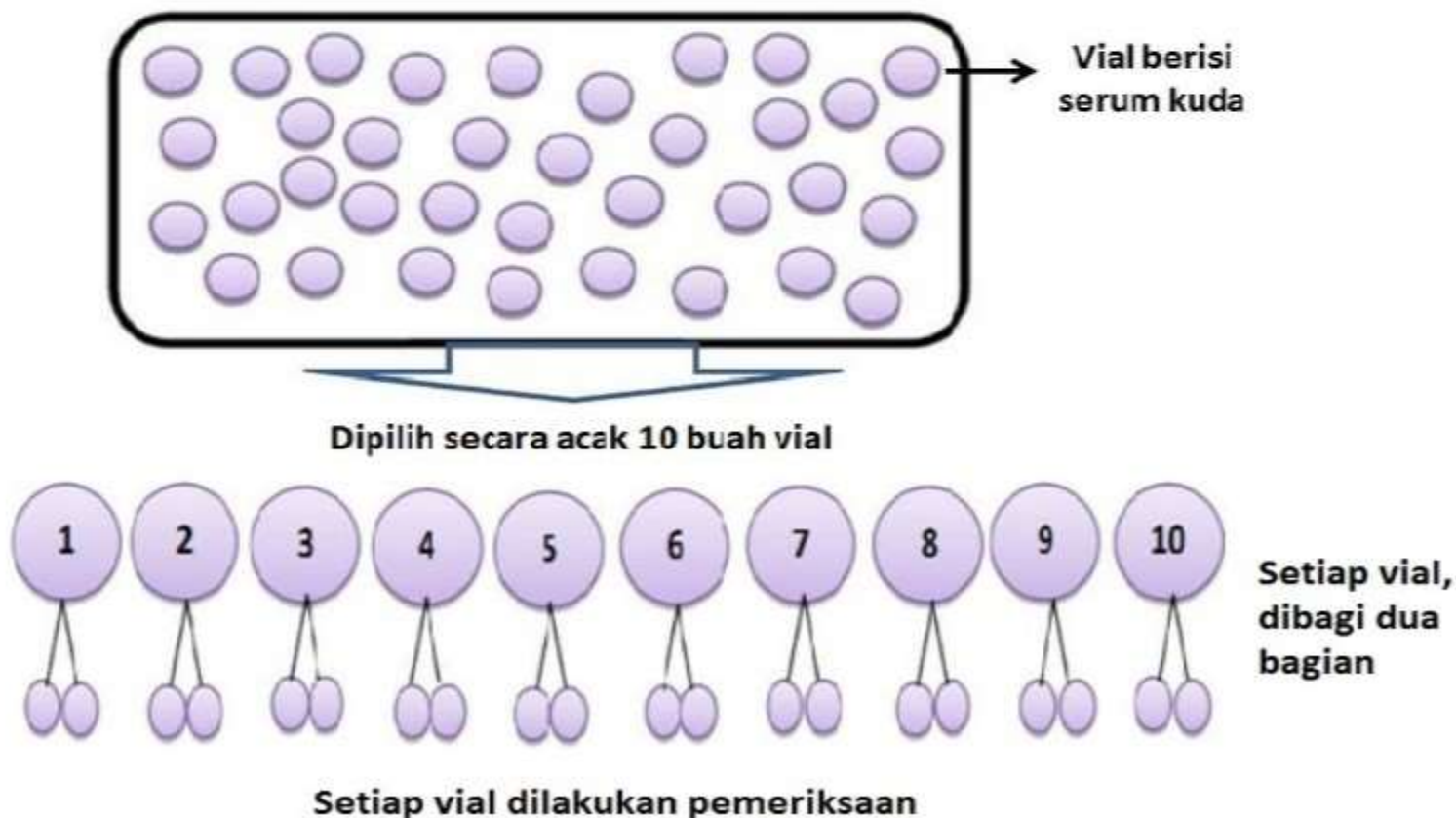
- Homogenitas adalah suatu sifat atau kondisi yang menunjukkan “keserbasamaan” baik jenis maupun kadar dalam suatu bahan atau sampel.
- Suatu bahan atau sampel yang homogen, jika dianalisis memberikan hasil yang teliti dan tepat.
- Sebaliknya, bahan atau sampel yang tidak homogen, jika dianalisis memberikan hasil yang beragam (bervariasi).

- Faktor yang berpengaruh pada homogenitas suatu bahan atau sampel :
 1. Proses pengambilan sampel (sampling)
 2. Proses pencampuran (grinding, mixing and blending)
 3. Komponen bahan atau sampel merupakan bahan yang sulit homogen ketika dicampurkan.
 4. Salah satu komponen bahan atau sampel tidak stabil dan mudah terurai, rusak atau terkontaminasi selama proses produksi dan penyimpanan.
 5. Alat pencampuran dan pengujian rusak atau tidak berfungsi dengan baik.

- Uji homogenitas adalah suatu aktifitas pengujian untuk mengetahui kondisi keserbasamaan suatu bahan atau sampel, sebelum digunakan untuk kontrol kualitas.
- Homogenitas suatu bahan diuji secara statistik dengan kriteria bahwa suatu bahan dinyatakan homogen jika menunjukkan variansi yang sama (equal).
- Uji homogenitas secara statistik dapat dilakukan dengan uji Levene.
- Homogenitas sangat penting dalam pembuatan serum kontrol, karena dengan adanya homogenitas, menunjukkan bahwa serum kontrol bersifat sama pada seluruh vial

Pelaksanaan Uji Homogenitas :

1. Sebanyak 10 vial sampel yang dipilih secara acak
2. Dilakukan pem secara duplo menggunakan metode, alat dan pereaksi yang sama, sehingga didapatkan 10 pasangan data



Perhitungan uji homogenitas

1. Dihitung rata-rata hasil uji siplo dan duplo (X_t) dengan rumus $X_{t,.} = (X_{t,1} + X_{t,2})/2$, dimana hasil uji ke-1 ($X_{t,1}$) dan ke-2 ($X_{t,2}$)
2. Dihitung selisih absolut (W_t) dari hasil siplo dan duplo dengan rumus $W_t = X_{t,1} - X_{t,2}$
3. Dihitung rata-rata umum (*general average*) dengan simbol $X_{r,.}$ dengan rumus $X_{r,.} = \sum X_t / g$, dimana g adalah jumlah contoh yang digunakan
4. Dihitung standar deviasi dari rata-rata contoh (S_x) dengan rumus:

$$S_x = \sqrt{\sum (X_{t,.} - X_{r,.})^2 / (g - 1)}$$

5. Dihitung standar deviasi *within samples* (S_w)

dengan rumus:

$$S_w = \sqrt{\sum w_i^2 / (2g)}$$

6. Dihitung standar deviasi *between samples* (S_s)

dengan rumus:

$$S_s = \sqrt{S_x^2 - (S_w^2 / 2)}$$

7. Sampel dinyatakan homogen apabila $S_s \leq 0.3 \sigma$

- Nilai σ untuk pemeriksaan bahan kontrol bisa ditetapkan melalui CV_{Horwitz}

$$CV_{\text{Horwitz}} = 2^{1-0,5\log C}$$

Contoh Uji Homogenitas

- Terdapat 50 vial serum kontrol (@ 1 ml) dan secara random diambil 10 kemasan contoh yaitu no. 4, 6, 10, 14, 17, 24, 37, 39, 44 dan 50.
- Kesepuluh contoh tersebut kemudian dibagi 2, dan masing-masing diuji kadarnya (duplo).
- Pengujian dilakukan segera setelah masing masing serum kontrol dibagi dua.
- Hasil pemeriksaan dan perhitungan yang diperlukan dalam uji homogenitas dimasukkan dalam tabel

Kode sampel	Hasil Pem		Xt	Xt-Xr	(Xt-Xr) ²	Wt	Wt ²
	I	II					
1.(4)	102	103	102,50	0,26	0,07	1	1,00
2. (14)	104,2	101	102,59	0,35	0,12	3,17	10,05
3. (27)	109,7	102	105,84	3,60	12,98	7,68	58,98
4. (34)	101	101	101,00	-1,24	1,53	0	0,00
5. (47)	102,7	102	102,33	0,09	0,01	0,66	0,44
6. (59)	102	101	101,50	-0,74	0,54	1	1,00
7. (64)	100	101	100,50	-1,74	3,02	1	1,00
8. (70)	101	102	101,50	-0,74	0,54	1	1,00
9. (85)	101	103	102,00	-0,24	0,06	2	4,00
10. (97)	102	103	102,62	0,38	0,14	1,23	1,51
		Σ	1.022,37	Σ	19,01	Σ	78,98
		Xr	102,24		σ	2,21	18,19

$$S_x^2 = \frac{\sum (X_t - X_r)^2}{(g-1)} = 2,11$$

$$S_w^2 = \frac{\sum W_t^2}{2g} = 3,95$$

$$S_w^2/2 = 1,97$$

$$S_s = \sqrt{S_x^2 - (S_w^2/2)}$$

$$S_s = \sqrt{2,11 - 1,97} = \sqrt{0,14} = 0,37$$

Xt,. = Rerata data simplo dan duplo

Xr,. = Rerata perbedaan data simplo dan duplo n sampel ke-1 hingga ke-10

Wt = Perbedaan data simplo dan duplo dimutlakkan

g = Jumlah sampel (10)

Sw = Standar deviasi antara simplo dan duplo

CV Horwitz	=	$2^{1-0,5\log C}$
Konsentrasi (Rerata konsentrasi)	=	102,24
Satuan	=	persen(perseratus)
Fraksi konsentrasi (C)	=	1,0224
Log C	=	0,009621
0,5 log C	=	0,004810
1-0,5 Log C	=	0,995190
$2^{1-0,5\log C}$	=	1,993342
CV_{Horwitz}	=	1,993342
$0,3\sigma$ (0,3 x CV Horwitz)	=	0,60

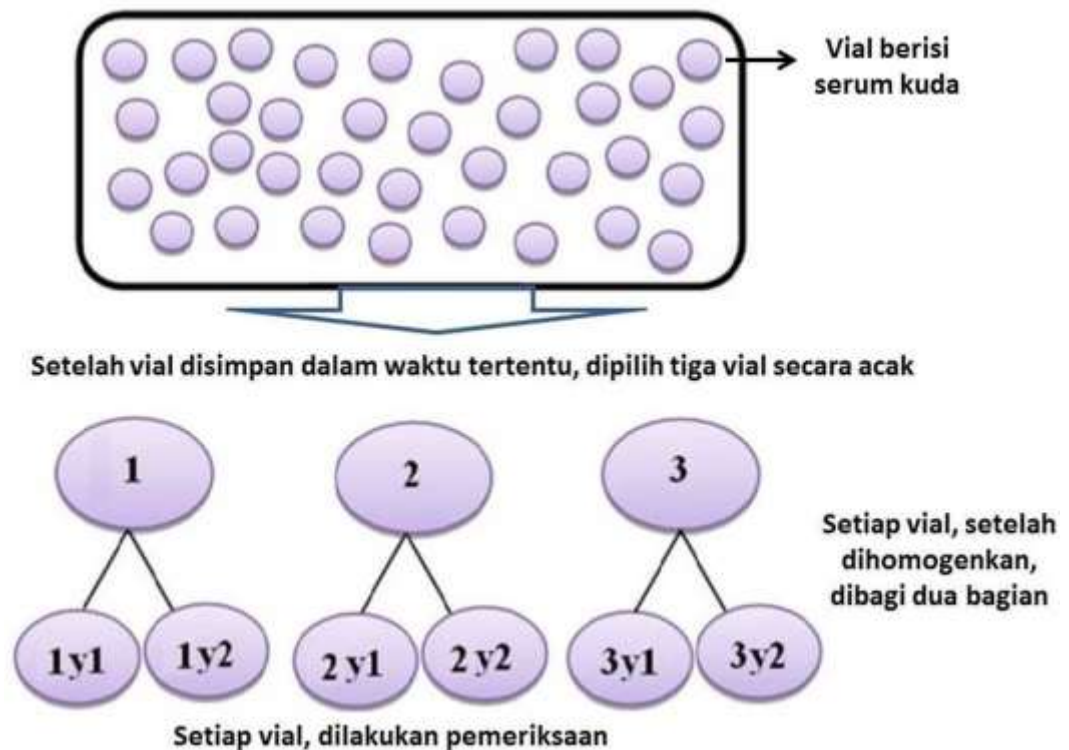
Serum kontrol dinyatakan homogen karena

$$Ss \leq 0.3 \sigma \quad (0,37 \leq 0,60)$$

Uji Stabilitas

- Bahan kontrol harus dilakukan uji stabilitas, untuk membuktikan stabil dan memastikan tidak mengalami perubahan yang signifikan selama penyimpanan.

- Persyaratan uji stabilitas :
 1. Uji stabilitas harus dilakukan di laboratorium dan kondisi yang sama dengan uji homogenitas.
 2. Digunakan metode pemeriksaan yang sama dengan uji homogenitas
 3. Digunakan tenggang waktu analisis pada uji stabilitas.



Perhitungan uji stabilitas

1. Dihitung rerata pemeriksaan yang pertama yang diperoleh pada uji homogenitas (X_r) dan pemeriksaan yang kedua (Y_r) pada uji stabilitas .
2. Dihitung selisih rerata hasil pemeriksaan yang diperoleh pada uji homogenitas (X_r) dengan rerata hasil yang diperoleh pada uji stabilitas (Y_r)
3. Bahan kontrol dinyatakan stabil apabila:
 $|x_r - y_r| \leq 0,3 \sigma$

FAKTOR-FAKTOR YANG PERLU DIPERTIMBANGKAN DALAM MEMILIH BAHAN KONTROL

1. Shelf Life dari bahan kontrol tersebut.
2. Price (harga).
3. Clinically relevant levels, apakah sesuai dengan keadaan klinis.
4. Matrix Effects bahan (sehingga mempunyai kemiripan sifat dengan bahan uji (sampel)).
5. Program uji banding antar Lab yang telah di ikuti bahan kontrol tersebut.

STABILITY OF TEST MATERIALS A CHALLENGE TO FIND THE BALANCE

Christel M. Van Campenhout – EQALM 2014 – Toulouse - France

.be

EQA - schemes

ISO/IEC 17043 (4.4.3): Homogeneity and stability

Criteria for suitable homogeneity and stability shall be established and based on their effects on the evaluation of the participants' performance.

- *Note 1: testing for confirmation of stability and homogeneity*
- *Note 2: not always possible*
- *Note 3: insufficient homogeneous or stable by nature*
- *Note 4: more details in ISO Guide 34, ISO Guide 35, and ISO 13528
"Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons"*

Use of a ISO 13528 template for quantitative schemes : the issues

Annette Thomas

ISO 17043 and homogeneity and Stability

- ISO 17043 requires that an EQA provider demonstrates “sufficient homogeneity and stability” of the material using valid statistical methods. The Standard refers the reader to ISO 13528 - Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons and the IUPAC International Harmonized Protocol. The procedure described in ISO 13528 Annex B is most suited for large quantitative schemes with little guidance provided for Schemes where there are insufficient number of samples for statistical validity, or where split sample analysis is inappropriate. There is little or no guidance as to the design of suitable homogeneity and stability testing protocols for qualitative analytes.



Homogeneity of EQA samples – requirements according to ISO/IEC 17043

Dr.-Ing. Frank Baumeister

TGZ AQS-BW
at Institute for Sanitary Engineering, Water Quality and Solid Waste Management
University of Stuttgart
AQS Baden-Württemberg
Bandtäle 2
70569 Stuttgart
GERMANY
Tel.: +49 711 685 65442 / Fax: +49 711 685 55442
E-Mail: frank.baumeister@aqsbw.de



EUROPEAN COMMISSION

Statistical Methods in PT Exercises, March 2009, F. Cordeiro



Statistical Methods for use in Proficiency Testing

F. Cordeiro

Institute for Reference Materials and Measurements

JRC - EC