

ARTIKEL PENELITIAN

Optimasi Metode Pemeriksaan HbA1c Secara Elektrokimia Berbasis *Screen Printed Carbon Electrode*

*Ayi Furqon¹⁾, Prina Puspa Kania¹⁾

¹⁾Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu dan Teknologi Kesehatan, Universitas Jenderal Achmad Yani Cimahi, Indonesia

Correspondence author: Ayi Furqon, E-mail: ayi.furqon@lecture.unjani.ac.id, Cimahi, Indonesia

Abstrak

Kuantifikasi HbA1c sebagai analit yang digunakan pada pemantau keberhasilan pengobatan diabetes umumnya diperiksa di laboratorium dengan alat teknologi canggih dan tenaga profesional. *Point of care testing* (POCT) umumnya dirancang untuk pemeriksaan praktis di sisi pasien. POCT HbA1c menggunakan strip reagen *screen printed electrode* (SPCE) yang dilabel aptamer polimer molekuler tercetak (MIP), boronat atau antibodi anti HbA1c kemudian dikuantifikasi secara elektrokimia. Linieritas pengukuran bekerja pada konsentrasi deteksi normal 5.7-6,4%, belum diuji pada konsentrasi kritis tinggi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengoptimasi metode kuantifikasi HbA1c secara elektrokimia. Prosedur penelitian, SPCE terlebih dahulu diaktifkan dengan NaOH 0,1 M secara *cyclic voltammetry*. Pelabelan aptamer ($\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{MIPHbA1c}$) dilakukan melalui teknik *chronoamperometric* dan kuantifikasi ditentukan dengan teknik *differential pulse voltammetry* (DPV). Stok HbA1c 6% dan 10% dalam PBS pH 7.4 digunakan sebagai larutan konsentrasi normal dan patologis pada studi akurasi dan presisi (impresisi HbA1c CLSI CV <3%). Hasil, rerata konsentrasi normal HbA1c $5,9\% \pm 0,1\%$, CV=1,69% dan konsentrasi patologis $10,4\% \pm 0,21\%$, CV=1,92%. Hasil uji linieritas pengukuran berkisar 2%-15% $R^2=0,987$. Kesimpulan, SPCE teraktivasi MIPHbA1c menunjukkan kondisi optimal pada pengukuran HbA1c di rentang normal dan patologis.

Kata Kunci: SPCE, HbA1c POCT, HbA1c Magnetit, HbA1c Aptamer

Abstract

The quantification of HbA1c as an analyte used to monitor the success of diabetes treatment is generally examined in a laboratory with sophisticated technological equipment and professional staff. Point of care testing (POCT) is generally designed for practical examination at the patient's side. POCT HbA1c uses a screen-printed electrode (SPCE) reagent strip labeled with aptamer molecular imprinted polymer (MIP), boronate, or anti-HbA1c antibody and then quantified electrochemically. The linearity of the measurement works at a normal detection concentration of 5.5-8.5% but has not been tested at high critical concentrations. The purpose of this study was to optimize the electrochemical quantification method of HbA1c. The research procedure, SPCE was first activated with 0.1 M NaOH by cyclic voltammetry. Aptamer labeling ($\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{MIPHbA1c}$) was carried out using the chronoamperometric technique and quantification was determined by the differential pulse voltammetry (DPV) technique. HbA1c stock of 6% and 10% in PBS pH 7.4 was used as normal and pathological concentration solution in accuracy and precision study (target quality CV <3%). The result, the average normal concentration of HbA1c was $5.9\% \pm 0.1\%$, CV=1.69% and pathological concentration was $10.4\% \pm 0.21\%$, CV=1.92%. The linearity test result of measurement ranged from 2%-15% $R^2=0.987$. In conclusion, MIPHbA1c-activated SPCE showed optimal condition in HbA1c measurement in the normal and pathological range.

Keywords: SPCE, HbA1c POCT, HbA1c Magnetit, HbA1c Aptamer

PENDAHULUAN

Menurut proyeksi terbaru, jumlah penderita diabetes akan meningkat dari 529 juta pada tahun 2021 menjadi setidaknya 1,3 miliar pada tahun 2050 (Liane Ong *et al.*, 2023). Diabetes tipe 2 telah dikenal sebagai jenis diabetes yang paling umum di Indonesia. Prevalensi diabetes akan terus meningkat dari 9,19% pada tahun 2020 (18,69 juta kasus) menjadi 16,09% pada tahun 2045 sekitar 40,7 juta kasus (Wahidin *et al.*, 2024).

Diabetes tipe 2 ditandai kadar glukosa darah tinggi, yang menyebabkan perubahan dalam metabolisme lemak, karbohidrat, dan lipid serta pelepasan insulin yang terhambat di pankreas. Hemoglobin terglikasi (HbA1c) telah diterima sebagai standar emas. Ini membantu dalam pemantauan kadar glukosa darah untuk mengendalikan kondisi glikemik pada penderita diabetes. Uji laboratorium yang dirancang untuk pemantauan HbA1c menghasilkan temuan yang akurat dan tepat. Uji ini juga membantu orang mengetahui masalah efektivitas obat dan komplikasi yang terkait dengan diabetes. Beberapa perkumpulan diabetes internasional dan Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) telah menyetujui uji ini untuk penggunaan klinis (WHO, 2024).

Berdasarkan kadar HbA1c, kriteria ditetapkan untuk kondisi diabetes dan pra-diabetes oleh *American Diabetic Association dan International Expert Committee* (American Diabetes Association, 2024). Kadar HbA1c antara 5,7-6,4% (39-46 mM/M) menunjukkan pra-diabetes, sedangkan kadar HbA1c $\geq 6,5\%$ (≥ 48 mM/M) menunjukkan diabetes melitus. Kadar HbA1c $\geq 10\%$ (≥ 48 mM/M) menunjukkan hiperglikemia dengan risiko ketoasidosis atau koma diabetik yang signifikan (Zhu *et al.*, 2016, Piccini *et al.*, 2020). Pembentukan HbA1c terjadi dengan proses glikasi ireversibel yang terjadi secara teratur pada tingkat yang lambat. Ini adalah kombinasi gula yang tersedia dalam serum dan hemoglobin (Hb) dalam sel darah merah (Zhang *et al.*, 2020).

Obesitas dianggap sebagai komplikasi utama dari kadar glukosa yang tidak teratur pada diabetes, dan ini telah mencapai proporsi epidemi. Hipotesisnya adalah bahwa individu dengan obesitas memiliki risiko lebih tinggi terkena diabetes jika dibandingkan dengan orang dengan berat badan normal. Sebuah penelitian telah melaporkan bahwa seseorang yang menderita obesitas memiliki risiko lebih tinggi terkena kondisi pra-diabetes. Saat ini, berbagai uji deteksi telah dikembangkan untuk mengidentifikasi kadar HbA1c, misalnya, analisis kromatografi cair kinerja tinggi (Zhang *et al.*, 2020, Çetinkaya Altuntaş *et al.*, 2021, Pasquel *et al.*, 2021, González-Viveros *et al.*, 2021), metode *immunoassay* (Zhao *et al.*, 2022), metode asam tiobarbiturat (TBA), dan metode afinitas boronat (Ahmad and Rafat,

2013).

High Performance Liquid Chromatography (HPLC) merupakan teknik yang paling disukai dan umum digunakan, tetapi memiliki beberapa kekurangan seperti biaya tinggi, memerlukan lebih banyak pelarut, keahlian khusus, ruang yang besar untuk meletakkan instrumen, dan waktu analisis yang lama. Oleh karena itu, diperlukan pengembangan metode yang efisien untuk analisis HbA1c. Saat ini, pengembangan biosensor *Point of Care Testing* (POCT) merupakan teknologi baru yang sangat diminati untuk diagnosis medis (Agrawal, 2024, Zhan *et al.*, 2022).

Masalahnya, POCT yang ada umumnya mengukur pada rentang 5,7-8,5 % pada rentang rawat jalan. Belum ada informasi bagaimana POCT strip dapat mengukur pada rentang patologis sampai nilai kritis untuk keperluan rawat inap dimana HbA1c >10% dimana tidak memungkinkan untuk puasa terlebih dahulu. Agar dapat dimanfaatkan pada kondisi kritis atau perawatan kegawatdaruratan (koma hiperglikemia atau hipoglikemia), penting untuk mengoptimasi bagaimana unjuk kerja pengukuran HbA1c POCT berbasis strip polimer molekul tercetak HbA1c secara elektrokimia pada konsentrasi sangat tinggi.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian ini adalah eksperimen yang membandingkan hasil pengukuran konsentrasi HbA1c antara metode spektrofotometri UV-VIS (X) dan metode elektrokimia (Y) pada rentang konsentrasi 4% sampai 12% hemolizat. Penelitian dilakukan di laboratorium Kimia Klinik Fakultas Ilmu dan Teknologi Kesehatan Universitas Jenderal Aachmad Yani Cimahi pada bulan April-Juli 2024. Populasi penelitian adalah semua jenis hemolizat HbA1c vertebrata dan sampel 5 hemolizat HbA1c darah manusia dengan teknik *sampling acak sederhana*. Jumlah sampel penelitian dihitung dengan rumus:

$$n = \frac{[(t_{n-1,\alpha/2} + t_{n-1,\beta})]^2}{d^2}$$

dengan ketentuan alfa sebesar 5% dan beta 90%, d=beda/simpangan baku dimana batas beda galat HbA1c adalah 3% dan simpangan baku 1,5% sehingga diperoleh 5 pasang pengukuran dengan dua metode pemeriksaan. Data dianalisis melalui uji t berpasangan dimana tingkat kemaknaan sebesar 0,05 menunjukkan adanya efek korelasi yang kuat ($r > 0,9$). Data disajikan dalam bentuk grafik diagram pencar dan persamaan regresi linear menurut formal protokol *clinical laboratory standard institute*, CLSI EP09-A3. Alat yang digunakan

spektrofotometer UV-VIS thermo fisher tipe genesys 10V dan *Seedstat Open Potentiostat* Elektrokimia. Bahan, hemolizat HbA1c manusia 6% dan 10%. Strip *screen printed carbon electroda* (SPCE) produk lokal, NaOH 0,1 M Heksasianoferrat (II) dan (III), larutan penyangga fosfat salin (PBS) pH 7,4 (Merckmiliphore).

1. Prosedur preparasi SPCE dan kalibrasi alat potentiostat

SPCE ditetesi 20-30 uL NaOH 0,1 M pada area elektroda kerja (WE), kemudian secara elektrokimia diaktifkan dengan cara mengalirkan listrik melalui potensiostat secara voltametrik siklik pada tegangan 0 sampai 2 volt, laju pemindaian 100 milivolt per detik sebanyak lima siklus. Selanjutnya sensor dicuci dengan air bebas mineral dan siap digunakan untuk analisis HbA1c (Kozak *et al.*, 2021). Pelabelan aptamer MIP/HbA1c dilakukan dengan melakukan elektrodeposisi 180 detik pada SPCE aktif dengan kecepatan pemindaian 100 mV/detik pada potensiostat. Prosedur kalibrasi alat elektrokimia, chip kalibrator resistor 10k Ohm digunakan untuk menguji unjuk kerja linearitas tegangan listrik (X) dalam volt terhadap arus listrik (Y) dalam mikroAmpere atas beban tahanan yang diberikan pada strip SPCE. Unjuk kerja koefisien regresi R^2 diatas 0,9 menunjukkan kalibrasi baik (Vamos and Kertesz, 2024).

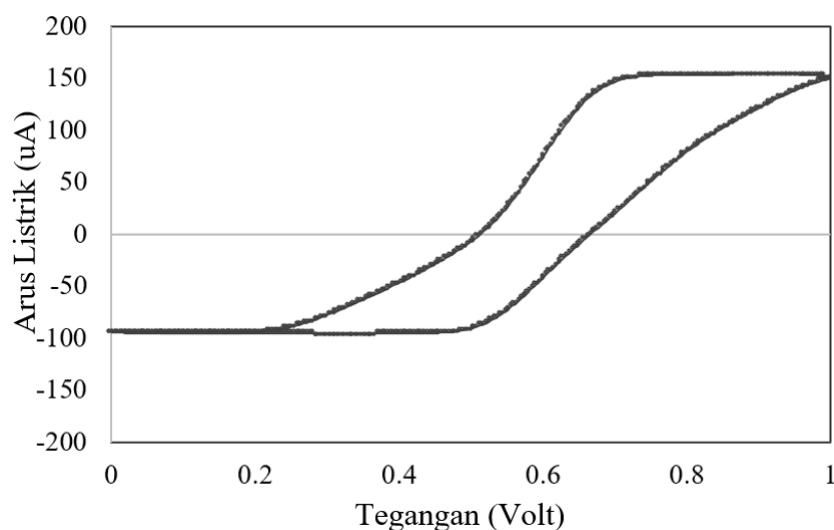
2. Prosedur pengujian HbA1c

Secara spektrofotometri, sebanyak 40 uL hemolizat HbA1c 6% diencerkan 100 kali dengan larutan penyangga PBS pH 7,4 kemudian dilakukan pemindaian absorban untuk panjang gelombang maksimum antara 200-600 nm. Penetapan kadar pada 5 jenis variasi konsentrasi 4%, 6%, 8%, 10% dan 12% digunakan sebagai kurva standar konsentrasi yang akan dibandingkan dengan metode elektrokimia (Mallya *et al.*, 2013). Pengujian secara elektrokimia diawali dengan meneteskan 20 uL hemolizat pada elektroda kerja SPCE dari hemolizat HbA1c 4%, 6%, 8%, 10% dan 12%, Metode *different pulse voltammetry*, DPV digunakan untuk menganalisis HbA1c dalam sampel secara kuantitatif. Untuk parameter DPV, diawali pengaturan alat pada rentang potensial $-0,2$ hingga $0,3$ V, amplitudo menjadi 50 mV, dan potensial langkah menjadi 4 mV (Zhao *et al.*, 2022).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Preparasi SPCE dan Kalibrasi Alat Potensiostat

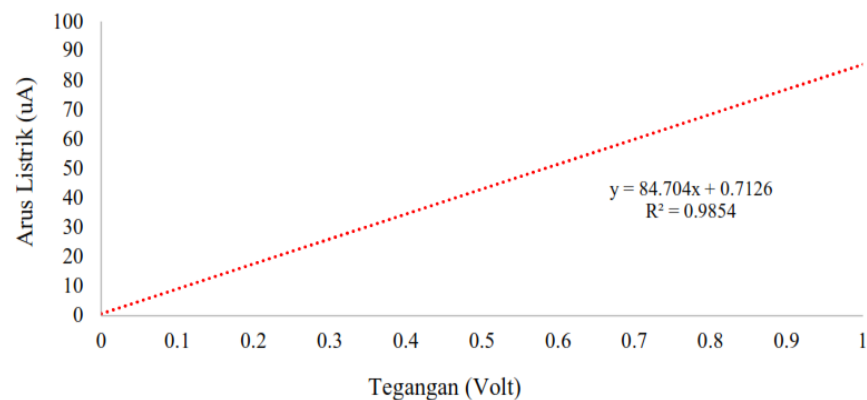
Strip Screen Printed Carbon Electroda atau SPCE yang diproduksi umumnya dibuat dengan menggunakan pasta karbon yang mengandung cairan pelarut berupa minyak tinta dan lapisan wax. Oleh karena itu, untuk mengetahui apakah strip berfungsi atau sudah aktif untuk proses elektrokimia dapat dicek dengan mengukur arus listrik larutan elektrolit oksidator reduktor ferro-ferri klorida 5 mM yang diteteskan pada SPCE melalui pendekatan voltametri siklik menggunakan H_2SO_4 0,1 N atau H_2O_2 10 mM (Liane Ong *et al.*, 2023) atau dapat pula menggunakan NaOH 0,1 M kemudian dikeringkan dengan gas nitrogen (*ultra pure* N_2) (Pan *et al.*, 2015). Dari hasil optimasi pada penggunaan asam sulfat dan peroksida pada penelitian ini tidak menunjukkan perubahan puncak arus katoda dan anoda atau tidak terjadi reaksi oksidasi dan reduksi. Adapun penggunaan natrium hidroksida terbukti mampu menunjukkan reaksi oksidasi dan reduksi pada pengukuran voltametri siklik seperti pada Gambar 1.



Gambar 1. Aktivasi strip SPCE dengan NaOH 0,1 M yang akan dilabel aptamer HbA1c

Dari Gambar 1, dapat diketahui bahwa reaksi oksidasi terjadi pada arus puncak anoda (I_{pa}) 152 uA dan tegangan antara 0,7 volt. Adapun reaksi reduksi terjadi pada arus puncak katoda (I_{pc}) -112 uA tegangan 5,5 volt. Hal ini menunjukkan bahwa konduktivitas elektroda kerja aktif sejalan dengan penelitian pengaktifan elektroda pasta karbon dengan NaOH 0,1 M tanpa dikeringkan dengan gas nitrogen (Tyszczyk-Rotko, Kozak and Węzińska, 2021).

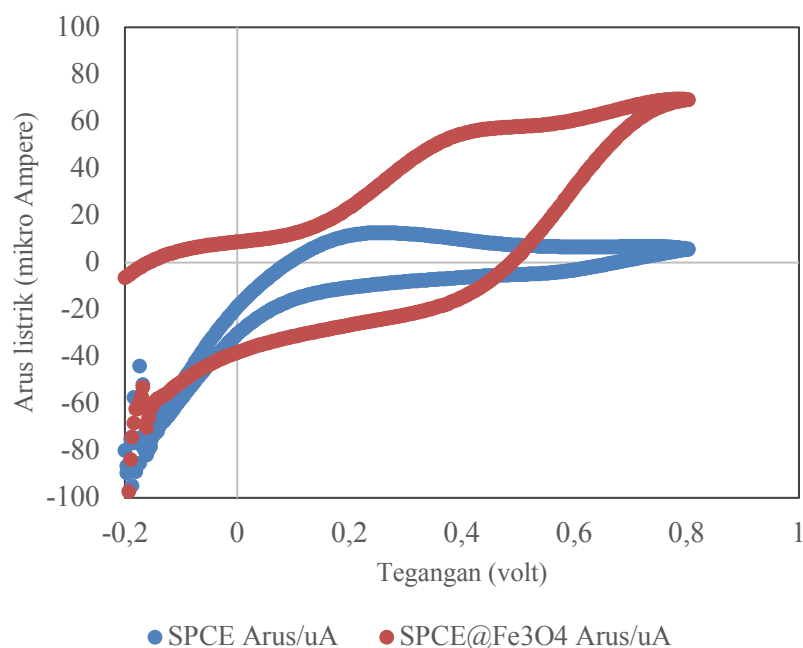
Setelah proses preparasi dan pelabelan strip SPCE dengan aptamet MIP/HbA1c, kemudian dilakukan kalibrasi alat potensiostat menjadi persyaratan mengenai benar tidaknya pengukuran secara elektrokimia. Berikut pada gambar 2 terlihat kurva kalibrasi hasil pemindaian pada resistor chip 10k ohm tahanan listrik dalam menara komponen elektronik pada alat.



Gambar 2. Kurva kalibrasi alat potensiostat dengan *chip* 10k ohm resistor

Dari Gambar 1, terlihat bahwa hubungan antara tegangan listrik pada rentang 0 sampai 1 volt (X) terhadap arus listrik (Y) menunjukkan nilai koefisien regresi 0,9854 mendekati 1,000. Batas rentang arus listrik maksimal adalah 100 mikroAmpere. Dengan demikian alat elektrokimia dapat digunakan untuk pengukuran HbA1c sebagaimana alat potensiostat sejenis (Meloni, 2016, Ainla *et al.*, 2018).

Proses pelabelan aptamer MIP/HbA1c pada strip SPCE yang dilakukan dengan metode voltametri siklik sebanyak 20 siklus dengan kecepatan pemindaian 100 mV. Selanjutnya keberhasilan pelabelan SPCE/MIP/HbA1c (kurva warna merah) dicek dengan larutan medium oksidator dan reduktor ferri-ferro (II)/(III) dibandingkan dengan SPCE blanko (warna biru) seperti tercantum pada gambar 3.

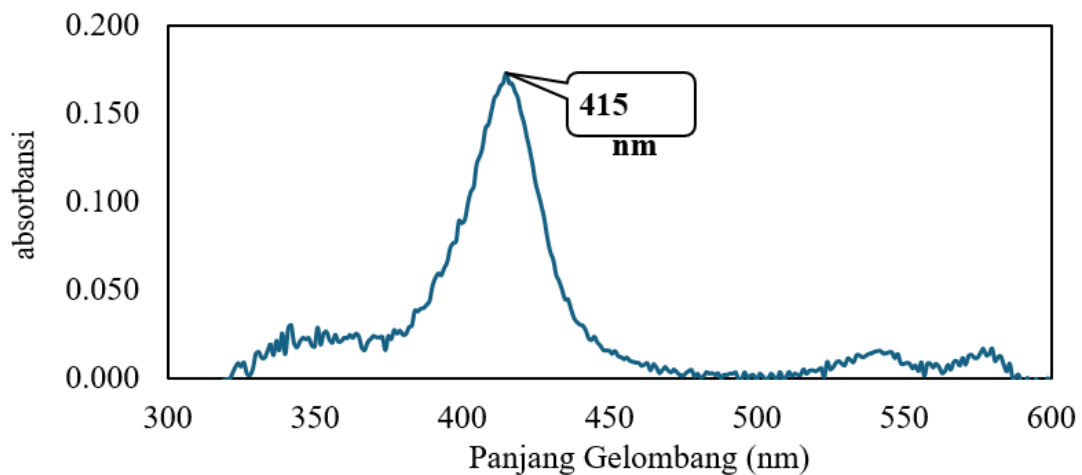


Gambar 3. Voltamogram SPCE blanko dan SPCE@MIP/HbA1c

Dari Gambar 3 dapat dilihat bahwa pada SPCE terlabel puncak arus (I_{pa}) reaksi oksidasi ada pada kisaran 40 – 60 mikro Ampere dan potensial listrik 0,4 volt. Pada SPCE blanko I_{pa} reaksi oksidasi ada pada kisaran arus listrik 0-20 mikroAmpere dengan potensial 0,2 volt. Memiliki perbedaan yang cukup tajam dimana hal ini menunjukkan konduktivitas pada label telah terjadi. Hal ini sejalan dengan penelitian proses pelabelan HbA1c pada platform SPCE kualitas standar (Mahobiya *et al.*, 2023, Grewal *et al.*, 2024).

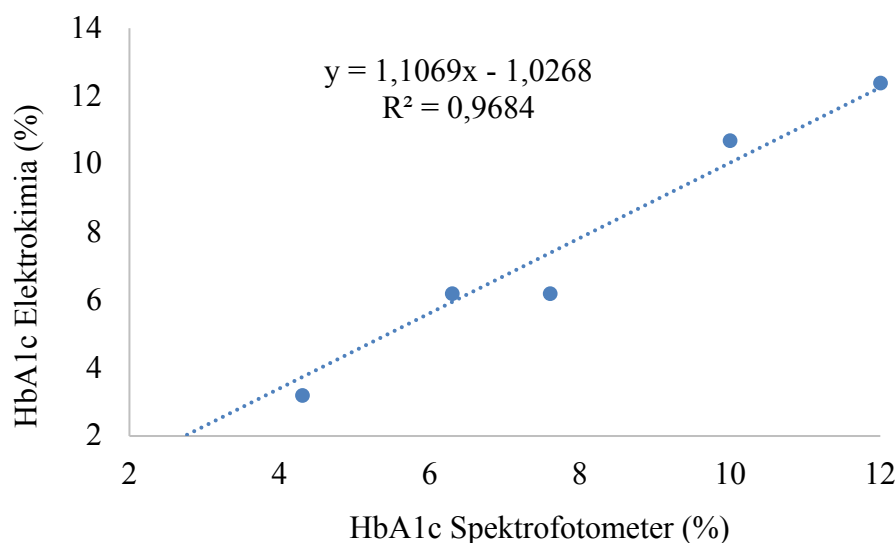
Hasil Pengukuran HbA1c

Pemindaian absorbansi hemolizat HbA1c untuk menentukan panjang gelombang maksimal absorban soret antara 400 nm - 600 nm. Absorban soret adalah metode pencarian panjang gelombang protein yang mengandung gugus heme terutama varian hemoglobin HbA1c yang dapat bergeser karena perubahan kejenuhan oksigen (Sekyonda *et al.*, 2024). Berikut adalah hasil pemindaian spektrofotometri HbA1c hemolizat (Gambar 4).



Gambar 4. Absorban Soret gugus Heme Hemolisis HbA1c

Dari Gambar 4 terlihat bahwa puncak tertinggi absorbansi maksimal pada hemolisis HbA1c konsentrasi 6% dengan pengenceran 100 kali dalam akuades sebagai pelarut dan blanko pengukuran secara spektrofotometrik. Dalam penelitian ini, kami menstandarisasi teknik spektroskopi absorpsi untuk estimasi HbA1c menggunakan sampel pasien dengan nilai HbA1c 10,4%. Sampel diencerkan untuk meminimalkan efek hamburan Rayleigh. Sampel diencerkan secara bertahap menggunakan garam fisiologis sebagai pengencer hingga pola spektral absorbansi sampel cocok dengan spektrum absorbansi kalibrator hemolisis sel darah merah manusia yang diliofilisasi dengan HbA1c. Absorban maksimum berada pada panjang gelombang 415 nm. Hal ini sejalan dengan metode pemeriksaan sejenis yang membandingkan hasil spektrofotometri terhadap metode baku emas HPLC (Ray *et al.*, 2024, Liddy *et al.*, 2023, Doventas dan Erdogan, 2022, Mallya *et al.*, 2013, Antunes *et al.*, 2009).



Gambar 5. Analisis uji perbandingan pemeriksaan HbA1c metode spektrofotometer dan secara elektrokimia

Dari Gambar 5, jelas bahwa nilai HbA1c (%) yang dihitung oleh "area di bawah kurva" dalam teknik spektroskopi absorpsi saat ini mendekati nilai yang diperkirakan oleh teknik HPLC standar dengan koefisien regresi 0,9684 dan nilai korelasi $r = 0,984$ mendekati korelasi sempurna 1,000. Nilai rata-rata Hb terglikasi secara elektrokimia terhadap Spektrofotometri ditemukan masing-masing $7,05 \pm 3,64$ dan $6,78 \pm 4,09$. Analisis statistik dilakukan oleh perangkat lunak SPSS. Korelasi yang signifikan (p -value 0,000) ini dengan jelas menunjukkan bahwa teknik spektroskopi penyerapan saat ini cukup baik dalam estimasi kadar HbA1c dalam sampel hemolisis. Oleh karena itu, hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai teknik tambahan untuk teknik konvensional lainnya yang digunakan untuk estimasi hemoglobin terglikasi pada konteks studi awal skrining. Ada beberapa kelemahan dari uji perbandingan dua metode ini, pertama metode pembandingan spektrofotometri belum diuji komparabilitas terhadap metode HPLC sehingga pelacakan bias atau galat sistematis tidak dapat ditunjukkan, namun kelemahan ini dapat ditutupi dengan uji real sampel pasien dengan jumlah yang lebih banyak mengikuti protokol CLSI EP9-A3 (Budd *et al.*, 2014). Selain itu pemanfaatan teknik analisis elektrokimia lain seperti *square wave voltammetry* SWV terbukti memberikan sensitivitas yang lebih baik dalam melacak sinyal molekul analit HbA1c atau protein (Boonprasert *et al.*, 2023, Suprun *et al.*, 2013, Bugge and Fathima, 2024).

SIMPULAN

Studi awal ini terdiri dari populasi studi kecil yang bertujuan untuk menilai kelayakan teknis menggunakan potensiostat untuk mengukur HbA1c pada sampel manusia. Berdasarkan hasil penelitian ini, metode elektrokimia dapat dikembangkan sebagai alternatif spektrofotometer/HPLC untuk mengevaluasi kadar HbA1c (%) secara praktis dan cepat. Pengukuran elektrokimia sangat memungkinkan adanya *noise sinyal* arus listrik pengganggu (zat ionik yang dapat berkonduksi menghantarkan arus tambahan saat pasien infus elektrolit). Dengan demikian penting menelusuri selektivitas atau spesifisitasnya dalam kondisi sampel / matriks berkadar elektrolit tinggi dan menjamin studi validasi skala besar (>100 sampel).

REFERENSI

- Agrawal, R. (2024) 'Point-of-care Glycated Hemoglobin (POC-A1c) Testing Helps Early Diagnosis of Diabetes', *International Journal of Clinical Metabolism and Diabetes*, pp. 1–4. Available at: <https://doi.org/10.1177/30502071241256261>.
- Ahmad, J. and Rafat, D. (2013) 'HbA1c and iron deficiency: A review', *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*, 7(2), pp. 118–122. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.DSX.2013.02.004>.
- Ainla, A. *et al.* (2018) 'Open-Source Potentiostat for Wireless Electrochemical Detection with Smartphones', *Analytical Chemistry*, 90(10), pp. 6240–6246. Available at: <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.8b00850>.
- American Diabetes Association (2024) 'Understanding A1C Test _ ADA'. Available at: <https://diabetes.org/about-diabetes/a1c> (Accessed: 6 September 2024).
- Antunes, M.V. *et al.* (2009) 'Standardization of method for determining glycosylated hemoglobin (HbA 1c) by cation exchange high performance liquid chromatography', *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 45(4), pp. 651–657. Available at: <https://doi.org/10.1590/S1984-82502009000400007>.
- Boonprasert, K. *et al.* (2023) 'Validation of an electrochemical sensor based on gold nanoparticles as a point-of-care test for quantitative determination of glycated hemoglobin', *PLOS ONE*, 18(6). Available at: <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0276949>.
- Budd, J. *et al.* (2014) 'Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline—Third Edition (EP05-A3)', *CLSI documents EP09-A3*, 33(11), pp. p1-40.
- Bugge, S.K. and Fathima, T. (2024) 'Comparison of HbA1c Estimation by Enzymatic and HPLC Methods', *Indian Journal of Medical Biochemistry*, 27(3), pp. 53–56. Available at: <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10054-0223>.
- Çetinkaya Altuntaş, S. *et al.* (2021) 'HbA1c level decreases in iron deficiency anemia', *Wiener klinische Wochenschrift*, 133(3–4), pp. 102–106. Available at: <https://doi.org/10.1007/S00508-020-01661-6>.
- Doventas, Y.E. and Erdogan, H. (2022) 'Tools for evaluating the performance of HbA1c analyzer: Sigma Metric and Quality Goal Index Ratio', *International Journal of Medical Biochemistry*, 5(1), pp. 71–75. Available at:

- <https://doi.org/10.14744/ijmb.2021.77598>.
- González-Viveros, N. *et al.* (2021) 'Characterization of glycated hemoglobin based on Raman spectroscopy and artificial neural networks', *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 247, p. 119077. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.SAA.2020.119077>.
- Grewal, R. *et al.* (2024) 'Label-free electrochemical detection of glycated hemoglobin (HbA1c) and C-reactive protein (CRP) to predict the maturation of coronary heart disease due to diabetes', *Bioelectrochemistry*, 159, p. 108743. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.BIOELECTCHEM.2024.108743>.
- Kozak, J. *et al.* (2021) 'First Screen-Printed Sensor (Electrochemically Activated Screen-Printed Boron-Doped Diamond Electrode) for Quantitative Determination of Rifampicin by Adsorptive Stripping Voltammetry', *Materials 2021, Vol. 14, Page 4231*, 14(15), p. 4231. Available at: <https://doi.org/10.3390/MA14154231>.
- Liane Ong, K. *et al.* (2023) 'Global, regional, and national burden of diabetes from 1990 to 2021, with projections of prevalence to 2050: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2021', *The Lancet*, 402, pp. 203–234. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(23\)01301-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(23)01301-6).
- Liddy, A.M. *et al.* (2023) 'Impact of haemoglobin variants on the use of haemoglobin A1c for the diagnosis and monitoring of diabetes: a contextualised review', *Irish Journal of Medical Science*, pp. 169–176. Available at: <https://doi.org/10.1007/s11845-022-02967-2>.
- Mahobiya, S.K. *et al.* (2023) 'Developing a Sensing Platform based on Molecular Imprinting of HbA1c on Fe₃O₄ Nanoparticle Modified Screen-Printed Electrode', *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 13(3), pp. 1–13. Available at: <https://doi.org/10.33263/BRIAC133.228>.
- Mallya, M. *et al.* (2013) 'Absorption spectroscopy for the estimation of glycated hemoglobin (HbA1c) for the diagnosis and management of diabetes mellitus: A pilot study', *Photomedicine and Laser Surgery*, 31(5), pp. 219–224. Available at: <https://doi.org/10.1089/pho.2012.3421>.
- Meloni, G.N. (2016) 'Building a microcontroller based potentiostat: A inexpensive and versatile platform for teaching electrochemistry and instrumentation', *Journal of Chemical Education*, 93(7), pp. 1320–1322. Available at: https://doi.org/10.1021/ACS.JCHEMED.5B00961/SUPPL_FILE/ED5B00961_SI_002.DOCX.
- Pan, D. *et al.* (2015) 'Amperometric determination of dopamine using activated screen-printed carbon electrodes', *Electrochemistry*, 83(9), pp. 725–729. Available at: <https://doi.org/10.5796/electrochemistry.83.725>.
- Pasquel, F.J. *et al.* (2021) 'Management of diabetes and hyperglycaemia in the hospital', *The Lancet Diabetes and Endocrinology*, 9(3), pp. 174–188. Available at: [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(20\)30381-8/ASSET/2B2F21FE-B455-462E-8657-2F97622EF342/MAIN.ASSETS/GR2.JPG](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(20)30381-8/ASSET/2B2F21FE-B455-462E-8657-2F97622EF342/MAIN.ASSETS/GR2.JPG).
- Ray, A. *et al.* (2024) 'Comparison of Glycated Hemoglobin (HbA1c) Values Estimated by High-Performance Liquid Chromatography and Spectrophotometry: A Pilot Study', *Cureus*, 16(3), pp. 1–9. Available at: <https://doi.org/10.7759/cureus.56964>.
- Sekyonda, Z. *et al.* (2024) 'Rapid measurement of hemoglobin-oxygen dissociation by leveraging Bohr effect and Soret band bathochromic shift Rapid measurement of hemoglobin-oxygen dissociation by leveraging Bohr effect and Soret band bathochromic shift †', 149, p. 2561. Available at: <https://doi.org/10.1039/d3an02071a>.

- Suprun, E. V. *et al.* (2013) 'Analysis of redox activity of proteins on the carbon screen printed electrodes', *Electroanalysis*, 25(9), pp. 2109–2116. Available at: <https://doi.org/10.1002/elan.201300248>.
- Tyszczyk-Rotko, K., Kozak, J. and Węzińska, A. (2021) 'Electrochemically activated screen-printed carbon electrode for determination of ibuprofen', *Applied Sciences (Switzerland)*, 11(21). Available at: <https://doi.org/10.3390/app11219908>.
- Vamos, I. and Kertesz, V. (2024) 'HunStat – a simple and low-cost potentiostat for analytical and educational purposes', *Analytical Methods*, 16(25), pp. 4198–4204. Available at: <https://doi.org/10.1039/D4AY00791C>.
- Wahidin, M. *et al.* (2024) 'Projection of diabetes morbidity and mortality till 2045 in Indonesia based on risk factors and NCD prevention and control programs', *Scientific Reports 2024 14:1*, 14(1), pp. 1–17. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41598-024-54563-2>.
- WHO (2024) *Guidance on global monitoring for diabetes prevention and control*.
- Zhan, Z. *et al.* (2022) 'A Review of Electrochemical Sensors for the Detection of Glycated Hemoglobin', *Biosensors*, 12(4). Available at: <https://doi.org/10.3390/BIOS12040221>.
- Zhang, H. *et al.* (2020) 'On-resonance islands of Ag-nanowires sense the level of glycated hemoglobin for diabetes diagnosis', *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 321. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.SNB.2020.128451>.
- Zhao, Y. *et al.* (2022) 'Glycated Hemoglobin Electrochemical Immunosensor Based on Screen-Printed Electrode', *Biosensors 2022, Vol. 12, Page 902*, 12(10), p. 902. Available at: <https://doi.org/10.3390/BIOS12100902>.