

PERBEDAAN KADAR HEMOGLOBIN MENGGUNAKAN Hb METER, SPEKTROFOTOMETER DAN *HEMATOLOGY ANALYZER* PADA SAMPEL SEGERA DIPERIKSA DAN DITUNDA 20 JAM

Serti Dameuli¹, Tulus Ariyadi², Fitri Nuroini²

1. Program Studi D IV Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang.
2. Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang.

Info Artikel

Kata kunci : hemoglobin, EDTA segera, EDTA ditunda

Abstrak

Pemeriksaan kadar hemoglobin dipengaruhi faktor pra analitik, analitik dan paska analitik. Faktor pra analitik antara lain penyimpanan, suhu dan lamanya penyimpanan. Penyimpanan darah EDTA harus dijaga pada suhu 2-8°C untuk menjaga kemampuan darah menyalurkan oksigen dan mengurangi pertumbuhan bakteri yang mengkontaminasi darah simpan. Batas penyimpanan 2°C sangat penting, karena eritrosit sangat sensitif terhadap pembekuan, sehingga dinding sel darah akan pecah dan hemoglobin akan keluar atau hemolisis. Pemeriksaan hemoglobin pada kegiatan ANC di Puskesmas Pulokulon I dilakukan ± 20 jam setelah pengambilan sampel. Penundaan sampel dikhawatirkan akan memberikan hasil yang kurang akurat sehingga dilakukan pemeriksaan menggunakan hb meter. Penelitian bertujuan mengetahui perbedaan kadar hemoglobin menggunakan hb meter, spektrofotometer dan *hematology analyzer* pada sampel segera diperiksa dan ditunda 20 jam suhu 2-8°C. Jenis penelitian analitik, dengan rancangan penelitian acak tes akhir dan kelompok kontrol. Pemeriksaan kadar hemoglobin dilakukan segera, tunda 20 jam dengan penyimpanan suhu 2-8°C. Hasil penelitian diperoleh kadar hemoglobin segera diperiksa Hb meter, spektrofotometer dan *hematology analyzer* secara berturut turut 11,50 g/dL, 12,98 g/dL, dan 11,70 g/dL. Kadar hemoglobin ditunda 20 jam secara berturut turut 12,63 g/dL, 12,03 g/dL, dan 12,13 g/dL. Uji *Paired t Test* terdapat perbedaan bermakna pada kadar hemoglobin segera dengan ditunda 20 jam pada suhu 2-8°C.

Corresponding Author :

Serti Dameuli

Email : dameuliserti@gmail.com

Pendahuluan

Hemoglobin merupakan pigmen pengangkut oksigen utama dan terdapat pada eritrosit. Semua bentuk hemoglobin antara lain oksihemoglobin, deoksihemoglobin, methemoglobin dan karboksihemoglobin diubah menjadi bentuk stabil. Perubahan menjadi sianmethemoglobin merupakan metode yang paling luas digunakan karena reagen dan instrumen dengan mudah dapat dikontrol terhadap standar yang stabil dan handal. Kadar hemoglobin dapat diukur menggunakan spektrofotometer dan penghitung sel otomatis (*hematology analyzer*) yang secara langsung mengukur hemoglobin. Spektrofotometer dapat mengukur semua jenis hemoglobin kecuali sulfhemoglobin. Metode *cyanmethemoglobin* pada alat spektrofotometer, prinsipnya adalah hemoglobin diubah menjadi methemoglobin. Sedangkan terdapat beberapa metode pengukuran yang digunakan pada alat *hematology analyzer* yaitu *elctrical impedance*, fotometri, *flowcytometry* dan *histogram* (kalkulasi). Metode fotometrik diintegrasikan ke dalam alat pengukur hitung sel otomatis menggunakan *hematology analyzer*. *Hematology analyzer* merupakan alat yang digunakan secara *in vitro* untuk melakukan pemeriksaan hematologi secara otomatis, menggunakan reagen maupun *cleaning* sesuai *manual book*. *Hematology analyzer* akan memecah hemoglobin menjadi larutan kemudian dipisahkan dari zat lain menggunakan sianida, selanjutnya dengan penyinaran khusus kadar hemoglobin diukur berdasarkan nilai sinar yang berhasil diserap oleh hemoglobin, hasil pengukuran ditampilkan pada layar.

Pemeriksaan kadar hemoglobin menggunakan Hb meter banyak digunakan oleh layanan kesehatan, seperti laboratorium klinik, puskesmas dan rumah sakit. Instrumen Hb meter didesain *portable*, artinya mudah dibawa kemana-mana dan mudah dioperasikan. Alat Hb meter menggunakan strip atau reagen kering. Pemeriksaan kadar hemoglobin menggunakan Hb meter memiliki metode POCT (*Point of Care Testing*) dengan

prinsip *reflectance* (pemantulan) yaitu membaca warna yang terbentuk dari sebuah reaksi antara sampel yang mengandung bahan tertentu dengan reagen yang ada pada sebuah strip, selanjutnya warna yang terbentuk dibaca oleh alat.

Pemeriksaan kadar hemoglobin dipengaruhi oleh faktor pra analitik, analitik dan paska analitik. Faktor pra analitik merupakan faktor paling besar terhadap kesalahan pemeriksaan, antara lain pengambilan, penampungan, pengolahan dan penyimpanan bahan pemeriksaan. Penyimpanan bahan pemeriksaan perlu memperhatikan stabilitas sampel. Suhu dan lamanya waktu penyimpanan dapat berpengaruh terhadap hasil pemeriksaan. Pemeriksaan hemoglobin menggunakan sampel darah EDTA (*Ethylene Diamine Tetra Acetate*) sebaiknya dilakukan segera atau kurang dari satu jam setelah pengambilan, namun apabila diperlukan dapat disimpan dalam lemari es (4°C) selama 2 jam. Darah EDTA yang disimpan pada suhu 4°C selama 24 jam di dalam lemari es tidak menyebabkan penyimpangan bermakna pada kadar hemoglobin.

Penyimpanan darah EDTA harus dijaga pada suhu 2-8°C dengan tujuan menjaga kemampuan darah dalam menyalurkan oksigen dan mengurangi pertumbuhan bakteri yang dapat menyebabkan kontaminasi darah simpan. Batas penyimpanan 2°C sangat penting, karena eritrosit sangat sensitif terhadap pembekuan, apabila eritrosit membeku, sifat dinding sel darah akan pecah dan hemoglobin akan keluar atau hemolysis. Pemeriksaan hemoglobin terhadap darah EDTA apabila terpaksa ditunda sebaiknya memperhatikan batas waktu penyimpanan. Penundaan pemeriksaan disebabkan sampel dikumpulkan dalam jumlah yang cukup banyak kemudian baru dilakukan pemeriksaan. Selain itu penundaan terjadi karena alat mengalami kerusakan atau masih dikalibrasi, terjadi pemadaman listrik serta pergantian jam kerja.

Puskesmas Pulokulon I Kabupaten Grobogan sebagai Unit Pelaksana Teknis Daerah (UPTD) melayani pemeriksaan laboratorium dari pasien rawat jalan dan rawat inap di puskesmas maupun pasien di pos pembantu. Pelayanan di pos pembantu merupakan kegiatan rutin dari Puskesmas Pulokulon I yang dilaksanakan setiap 1 bulan sekali. Kegiatan di pos pembantu tersebut berupa *antenatal care* (ANC) terpadu *mobile* dengan salah satu pelayanannya pemeriksaan laboratorium kadar hemoglobin. Sampel untuk pemeriksaan kadar hemoglobin dari kegiatan ANC tersebut biasanya tidak langsung dilakukan pemeriksaan akan tetapi disimpan dalam lemari pendingin suhu 2-8°C untuk diperiksa keesokan harinya, penundaan diperkirakan hingga 20 jam. Hal tersebut dilakukan karena kegiatan ANC dilakukan dalam waktu satu hari dan *gold standart* pemeriksaan hemoglobin menggunakan *hematology analyzer* sehingga tidak mungkin dilakukan pemeriksaan kadar hemoglobin secara langsung.

Penundaan sampel dengan penyimpanan pada suhu yang tidak tepat dikhawatirkan menyebabkan sampel hemolisis sehingga berpengaruh terhadap hasil pemeriksaan, untuk mengatasi hal tersebut adalah melakukan pemeriksaan kadar hemoglobin menggunakan Hb meter. Pemeriksaan hemoglobin menggunakan alat Hb meter, spektrofotometer dan *hematology analyzer* memiliki prinsip yang berbeda yang kemungkinan memberikan hasil yang berbeda. Penyelenggaraan kegiatan laboratorium khususnya pemeriksaan hemoglobin pada pasien ANC dituntut untuk memberikan hasil yang akurat sesuai dengan standar operasional prosedur yang telah ditetapkan. Berdasarkan uraian pada latar belakang di atas maka penelitian dilakukan dengan tujuan mengetahui perbedaan kadar hemoglobin menggunakan hb meter, spektrofotometer dan *hematology analyzer* sampel segera diperiksa dan ditunda 20 jam pada suhu 2-8°C.

Bahan dan Metode

Bahan pemeriksaan kadar hemoglobin adalah darah EDTA. Metode pemeriksaan menggunakan Hb Meter, spektrofotometer, dan *hematology analyzer*.

Hasil

Sampel penelitian diperoleh dari sampel darah yang diterima di Puskesmas Pulokulon I Kabupaten Grobogan pada bulan Juni 2018. Sampel darah dibagi dalam 6 tabung, yang terdiri dari 3 tabung untuk sampel segera diperiksa dan 3 tabung disimpan pada lemari pendingin suhu 2-8°C selama 20 jam. Setiap sampel segera diperiksa dan yang ditunda pemeriksaannya selama 20 jam mendapat pemeriksaan kadar hemoglobin menggunakan Hb meter, spektrofotometer dan *hematology analyzer*. Hasil penelitian disajikan dalam Tabel dan Grafik berikut.

Tabel 1. Kadar Hemoglobin Segera Diperiksa (g/dL)

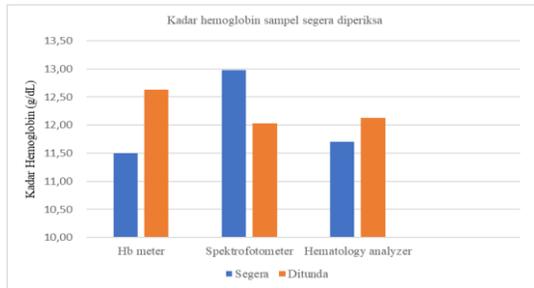
Kadar Hemoglobin	Rerata	Simpang baku
Hb meter	11,50	0,95
Spektrofotometer	12,98	0,85
<i>Hematology analyzer</i>	11,70	0,95

Tabel 1 menunjukkan bahwa rerata sampel penelitian kadar hemoglobin segera diperiksa menggunakan spektrofotometer lebih tinggi dibandingkan menggunakan *hematology analyzer* dan Hb meter.

Tabel 2. Kadar Hemoglobin Ditunda 20 jam

Kadar Hemoglobin	Rerata	Simpang baku
Hb meter	12,63	0,90
Spektrofotometer	12,03	0,40
<i>Hematology analyzer</i>	12,13	1,15

Tabel 2 menunjukkan rerata kadar hemoglobin ditunda 20 jam suhu 2-8°C paling tinggi menggunakan Hb meter.



Grafik 1. Kadar Hemoglobin Sampel Segera Diperiksa dan Ditunda 20 jam

Grafik 1 menunjukkan bahwa rerata sampel penelitian kadar hemoglobin segera diperiksa menggunakan spektrofotometer lebih tinggi dibandingkan menggunakan *hematology analyzer* dan Hb meter, sedangkan pada sampel ditunda 20 jam menunjukkan rerata kadar hemoglobin paling tinggi menggunakan hb meter.

Uji beda *Paired t Test* antara kadar hemoglobin segera diperiksa dengan tunda 20 jam suhu 2-8°C menggunakan Hb meter, spektrofotometer dan *hematology analyzer* diperoleh $p < 0,05$, artinya terdapat perbedaan bermakna kadar hemoglobin segera dan tunda 20 jam suhu 2-8°C.

Diskusi

Penelitian dilakukan terhadap sampel darah EDTA segera diperiksa dan ditunda 20 jam pada suhu 2-8°C, masing-masing diperiksa menggunakan tiga alat ukur yaitu hb meter, spektrofotometer dan *hematology analyzer*. Penghitungan menggunakan kadar hemoglobin *hematology analyzer* sebagai *gold standar*. Kadar hemoglobin dari darah EDTA yang ditunda 20 jam dengan suhu 2-8°C mengalami perubahan seiring waktu penundaan. Kadar hemoglobin darah EDTA disimpan 20 jam suhu 2-8°C pada alat *hematology analyzer* dan hb meter mengalami peningkatan. Hal ini berbeda dengan kadar hemoglobin menggunakan spektrofotometer yang menurun.

Peningkatan kadar hemoglobin palsu biasanya disebabkan karena jumlah leukosit yang sangat tinggi, hiperlipidemi dan

kekeruhan akibat lisis yang tidak sempurna. Peningkatan kadar hemoglobin pada sampel EDTA yang ditunda 20 jam suhu 2-8°C menggunakan *hematology analyzer* kemungkinan terjadi karena adanya kekeruhan akibat sel darah merah tidak mengalami proses lisis yang tidak sempurna. Sesuai dengan prinsip tahap pertama pemeriksaan hemoglobin pada *hematology analyzer* bahwa sel darah merah akan mengalami lisis dan absorpsi SLS pada membran sel darah merah menghasilkan perubahan struktur protein. Penundaan darah EDTA selama 20 jam dapat mengakibatkan terjadinya pembengkakan eritrosit, sehingga pada saat pembacaan hemoglobin menggunakan hb meter yang memiliki prinsip *reflectance* hemoglobin yang berada di dalam eritrosit yang membengkak menghasilkan pantulan yang oleh tes strip dibaca menjadi meningkat.

Hasil pemeriksaan kadar hemoglobin dalam penelitian dipengaruhi oleh tahap pra analitik dan analitik. Tahap pra analitik yaitu penyimpanan sampel darah EDTA pada lemari pendingin suhu 2-8°C selama 20 jam. Penyimpanan darah EDTA harus dijaga pada suhu 2-8°C dengan tujuan menjaga kemampuan darah untuk menyalurkan oksigen dan mengurangi pertumbuhan bakteri yang dapat menyebabkan kontaminasi darah simpan. Batas penyimpanan 2°C sangat penting, karena eritrosit sangat sensitif terhadap pembekuan, apabila eritrosit membeku, sifat dinding sel darah akan pecah dan hemoglobin akan keluar atau hemolisis. Hal ini terlihat pada hasil pemeriksaan menggunakan spektrofotometer pada sampel segera periksa dan ditunda 20 jam yang menunjukkan kadar hemoglobin mengalami penurunan.

Hasil pemeriksaan dianalisis secara deskriptif dan analitik menggunakan program SPSS versi 21. Analisis perbedaan ketiga metode dengan dua perlakuan yaitu segera diperiksa dan ditunda 20 jam suhu 2-8°C dilakukan menggunakan uji *Paired t Test*. Uji beda kadar hemoglobin menggunakan *hematology analyzer* $p = 0,031$,

spektrofotometer $p = 0,040$ dan Hb meter $p = 0,041$. Hal ini berarti terdapat perbedaan bermakna kadar hemoglobin segera dan tunda 20 jam suhu $2-8^{\circ}\text{C}$ pada ketiga metode ($p < 0,05$). Hasil penelitian pengukuran ketiga alat menunjukkan adanya perbedaan bermakna kadar hemoglobin segera dan tunda 20 jam suhu $2-8^{\circ}\text{C}$.

Penelitian kadar hemoglobin terhadap sampel darah EDTA segera diperiksa, dengan ditunda 20 jam suhu $2-8^{\circ}\text{C}$ disimpulkan :

1. Kadar hemoglobin segera diperiksa Hb meter, spektrofotometer, dan *hematology analyzer* secara berturut turut 11,50 g/dL, 12,98 g/dL, dan 11,70 g/dL.
2. Kadar hemoglobin ditunda 20 jam pada Hb meter, spektrofotometer, dan *hematology analyzer* secara berturut turut 12,63 g/dL, 12,03 g/dL, dan 12,13 g/dL.
3. Uji statistik *Paired t Test* menyimpulkan terdapat perbedaan bermakna pada kadar hemoglobin segera dengan ditunda 20 jam pada suhu $2-8^{\circ}\text{C}$ ($p < 0,05$).

UcapanTerimakasih

Terimakasih peneliti ucapkan kepada Kepala Puskesmas Pulokulon I Kabupaten Grobogan atas ijin dan dukungannya selama penelitian dilaksanakan.

Referensi

- Aziz Ansori Wahid dkk. 2013. *Instrumentasi Laboratorium Klinik*. Anggunmekaluhur. Bandung.
- Bontang, 2012. *Pengaruh Waktu Penyimpanan Darah EDTA Pada Suhu Kamar (250-300c) Terhadap Kadar Hemoglobin*. <http://digilib.unimus.ac.id/files/disk1/107/jtptunimus-gdl/saefulhilm-5309-1-bab1.pdf>. Diakses tanggal 14 Oktober 2017.
- Brooker, C. 2001. *Kamus saku keperawatan*. EGC. Jakarta.
- Dinkes Profinsi Jawa Tengah. 2002. *Mutu dan Keamanan dalam Penyediaan Darah*. Semarang.
- Budiwiyono, Imam. 2002. *Pemantapan Mutu Laboratorium, Pemeriksaan Hematologi dan Imunologi*. Semarang.
- Dahlan, S. 2014. *Statistika untuk Kedokteran dan Kesehatan*. Arkans. Jakarta.
- Gandasoebrata R. 2013. *Penuntun Laboratorium Klinis*. Dian Rakyat. Jakarta.
- Guyton, A. C., and Hall, J. E. 2006. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. EGC. Jakarta.
- Hoffbrand, A.V, Pettit, J. E. 2013. *Kapita Selekta Hematologi*. EGC. Jakarta.
- Linda Susilowati, 2017. Perbedaan Kadar Hemoglobin Segera Dan Ditunda Pada Suhu Kamar Dan Suhu Cool Pack Metode Automatik. *Skripsi*. Universitas Muhammadiyah. Semarang
- Murray, Robert K. 2009. *Biokimia Harper*. EGC. Jakarta
- Nurrachmat H. 2005. Perbedaan Jumlah Eritrosit, Leukosit, Dan Trombosit Pada Pemberian Antikoagulan EDTA Konvensional Dengan EDTA Vacutainer. *Tesis*. Bagian Patologi Klinik FK UNDIP. Semarang.
- Patrick Simanjuntak 2016. Perbandingan Hasil Pemeriksaan Kadar Hemoglobin Menggunakan Metode POCT dengan Alat Hematology Analyzer. *Tesis*. FK Universitas Gadjah Mada.
- Pearce, Evelyn. 2009. *Anatomi dan Fisiologi untuk Paramedis*. Gramedia. Jakarta.
- Riswanto. 2013. *Pemeriksaan Hematologi Selayang Pandang*. Alfabedia Kanal Medika.
- Sacher, Ronald. McPherson, Richard. 2004. *Tinjauan klinis Hasil Pemeriksaan Laboratorium*. EGC. Jakarta.
- User Manual Medonic. 2016. *Standar Operating Prosedur Medonic M Series*. MRK Diagnostics.
- User Manual Microlab. 2016. *Standar Operating Prosedur Microlab 300*. MRK Diagnostics.
- User Manual Mission. 2012. *Hb Hemoglobin Testing System*. Acon.
- Supranto J. 2010. *Statistik Teori dan Aplikasi*. UI Press. Jakarta.

