

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Pengertian Hemoglobin (Hb)

Hemoglobin adalah molekul yang terdiri atas empat kandungan haem (berisi zat besi) dan empat rantai globin (alfa, beta, gamma dan delta), berada didalam eritrosit dan bertugas untuk mengangkut oksigen. Kualitas darah dan warna merah darah ditentukan oleh kadar hemoglobin. Struktur hemoglobin dinyatakan dengan menyebut jumlah dan jenis rantai globin yang sudah ada. Terdapat 141 molekul asam amino pada rantai beta, gamma dan delta (Sutedjo, 2009).

Hemoglobin merupakan protein yang kaya akan zat besi dan memiliki afinitas (daya gabung) terhadap oksigen dan membentuk oxihemoglobin di dalam sel darah merah. Melalui fungsi ini maka oksigen dibawa dari paru-paru ke jaringan-jaringan (Evelyn, 2007).

Tabel 2. Batas Kadar Hemoglobin

Kelompok Umur	Batas Nilai Hemoglobin (gr/dl)
Anak 6 bulan – 6 tahun	11,0
Anak 6 bulan – 14 tahun	12,0
Pria Dewasa	13,0
Wanita Dewasa	12,0
Ibu Hamil	11,0

Sumber : WHO dalam arisman 2002

B. Struktur Hemoglobin

Struktur hemoglobin terdiri dari satu golongan heme dan globulin yang terdiri dari 4 rantai polipeptida terdiri dari asam amino yang terikat menjadi rantai dengan urutan tertentu. Hemoglobin normal sebagian besar terdiri dari jenis rantai A. Molekul-molekul hemoglobin terdiri dari dua pasang rantai polipeptida (globulin) dan empat gugus haem yang masing-masing mengandung atom besi (Nelson dan Cox, 2005).

Susunan hemoglobin pada manusia berupa tetramer, terdiri dari dua subunit alfa dan beta yang terikat secara nonkovalen setiap subunit memiliki kemiripan

secara struktural dan berukuran hampir sama dan setiap subunit memiliki berat molekul kurang lebih 16.000 dalton. Hemoglobin memiliki gugus heme inilah yang menyebabkan darah berwarna merah, terdiri dari komponen anorganik dan pusat atom besi. Komponen anorganik disebut protoporfirin yang terbentuk dari empat cincin pirol dan dihubungkan oleh jembatan metema membentuk cincin tetra pirol. Empat gugus metil dan gugus vinil dan dua sisi rantai propionol terpasang pada cincin ini (Ganong, 2007).

C. Fungsi Hemoglobin

Hemoglobin senyawa yang berfungsi membawa oksigen dari paru-paru ke seluruh jaringan tubuh dan membawa kembali karbondioksida dari seluruh jaringan ke paru-paru kemudian dikeluarkan dari tubuh (Sunita, 2009).

Menurut Departemen Kesehatan Republik Indonesia fungsi hemoglobin didalam tubuh manusia diantaranya:

1. Mengatur pertukaran oksigen dengan karbondioksida di dalam jaringan-jaringan tubuh
2. Mengambil oksigen dari paru-paru kemudian dibawa ke seluruh jaringan-jaringan tubuh untuk dipakai sebagai bahan bakar
3. Membawa karbondioksida dari jaringan-jaringan tubuh sebagai hasil metabolisme ke paru-paru untuk dibuang

D. Faktor-faktor yang mempengaruhi Kadar Hemoglobin

Berapa faktor yang mempengaruhi kadar hemoglobin adalah :

- a. Faktor kecukupan zat besi dalam tubuh

Zat besi dibutuhkan untuk produksi hemoglobin, sehingga anemia gizi besi akan menyebabkan terbentuknya sel darah merah yang lebih kecil dan kandungan hemoglobin yang lebih rendah. Zat besi juga merupakan mikronutrien essensial dalam memproduksi hemoglobin yang berfungsi mengantar oksigen dari paru-paru ke seluruh tubuh. Zat besi berperan dalam sintesis hemoglobin dalam sel darah merah dan mioglobulin dalam sel otot (Zarianis, 2006).

b. Usia

Semakin tua usia seseorang, maka kadar hemoglobin akan semakin berkurang, karena akan terjadi penurunan produktivitas.

c. Jenis kelamin

Jenis kelamin dapat mempengaruhi kadar hemoglobin seseorang, karena terkait hormone yang ada pada wanita dan pria yang berbeda. Umumnya, pria memiliki kadar hemoglobin yang lebih tinggi daripada wanita. Wanita memiliki kadar hemoglobin yang lebih rendah dari pria karena aktivitas wanita lebih sedikit daripada pria, selain itu wanita juga mengalami siklus menstruasi setiap bulannya.

d. Kondisi geografis

Seseorang yang tinggal di daerah dataran tinggi cenderung memiliki kadar hemoglobin lebih tinggi, karena aktivitasnya yang ekstra aktif. Aktivitas yang cenderung lebih aktif ini akan menyebabkan tubuh memproduksi sel darah merah yang lebih banyak guna meningkatkan oksigen yang lebih banyak dalam tubuh, berbeda dengan seseorang yang hidup di daerah pesisir atau pantai.

E. Antikoagulan EDTA

Antikoagulan merupakan zat yang dapat menghambat penggumpalan darah dengan cara mengikat kalsium atau dengan menghambat pembentukan trombin yang digunakan untuk merubah fibrinogen menjadi fibrin dalam proses pembekuan (Dewi, 2017). Terdapat berbagai macam antikoagulan dan yang umum digunakan dalam pemeriksaan hematologi adalah antikoagulan EDTA (Ethylen Diamine Tetra Acetat) yang mana bisa digunakan dalam pemeriksaan seperti penetapan kadar hemoglobin, hitung jumlah lekosit, eritrosit, trombosit, retikulosit, hematokrit, dan penetapan Laju endap darah (R. Gandasoebrata, 2007).

EDTA mencegah koagulasi dengan cara mengikat atau mengkhelasi kalsium, sehingga EDTA memiliki keunggulan dibanding dengan antikoagulan yang lain, yaitu tidak mempengaruhi sel-sel darah, sehingga ideal untuk pengujian hematologi, seperti pemeriksaan hemoglobin, hematokrit, LED, hitung lekosit, hitung trombosit, retikulosit, apusan darah, dan seterusnya. Darah EDTA

disimpan dalam suhu 4°C pada umumnya pemeriksaan dapat dilakukan tidak lebih dari 12-18 jam penyimpanan.

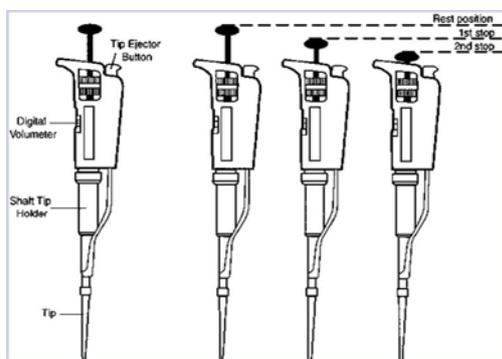
Dosis penggunaan antikoagulan EDTA yang umum dipakai adalah 1 mg Na₂EDTA/ml darah. Pemeriksaan hematologi biasanya diambil 3 ml darah sehingga Na₂EDTA yang diperlukan sebanyak 3 mg dalam bentuk serbuk (R. Gandasoebrata, 2007). Pembuatan larutan 10% dengan cara melarutkan 10 gram Na₂EDTA dalam 100 ml aquades (1 mg Na₂EDTA/10 µl) dapat digunakan untuk mempermudah dalam pengukuran. Pengambilan antikoagulan biasanya menggunakan pipet pasteur, pemipetan seharusnya dilakukan secara tegak lurus dan di pipet dalam keadaan kosong tetapi pada kenyataannya hal itu sering diabaikan sehingga volume tetesan larutan Na₂EDTA 10% menjadi tidak tepat (Nurrachmat, 2005).

F. Penambahan Antikoagulan EDTA

Pemeriksaan kadar hemoglobin dengan penambahan antikoagulan EDTA dapat dilakukan dengan 2 cara yaitu : dengan menggunakan pipet tetes dan mikropipet.

a. Penambahan antikoagulan menggunakan mikropipet

Mikropipet adalah alat untuk memindahkan cairan yang bervolume cukup kecil, biasanya kurang dari 1000 µl. Banyak pilihan ukuran volume dalam mikropipet misalnya, mikropipet yang dapat diatur volume pengambilannya (*adjustable volume pipette*) antara 1-20 µl atau mikropipet yang tidak bisa diatur volumenya, hanya tersedia satu pilihan volume (*fixed volume pipette*) misalnya mikropipet ukuran 5 µl, 10 µl, 20 µl dan seterusnya. Penggunaan mikropipet memerlukan tip sesuai ukuran pada mikropipet yang digunakan (Brooks G. F., dkk 2005)



Gambar 1. Mikropipet (Brooks, G.F., dkk. 2005)

Cara penggunaan mikropipet :

Sebelum digunakan Thumb Knob sebaiknya ditekan berkali-kali untuk memastikan lancarnya mikropipet, tip dimasukkan ke dalam nozzle/ujung mikropipet, kemudian Thumb Knob ditekan sampai hambatan pertama/first stop, jangan ditekan lebih ke dalam lagi. Selanjutnya tip dimasukkan ke dalam cairan sedalam 3-4 mm, tahan pipet dalam posisi vertikal kemudian tekanan dari Thumb Knob dilepaskan maka cairan akan masuk ke dalam tip. Selanjutnya ujung tip dipindahkan ke tempat penampung yang telah disediakan, Thumb Knob ditekan sampai hambatan kedua/second stop atau tekan semaksimal mungkin maka semua cairan akan keluar dari ujung tip, kemudian tip diputar bagian thumb knob searah jarum jam dan ditekan maka tip akan terdorong keluar dengan sendirinya.

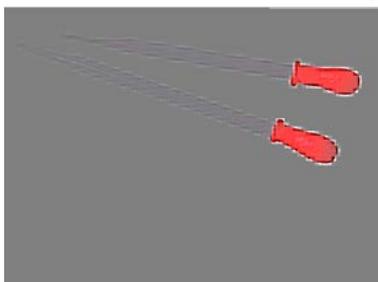
Kelebihan dan kekurangan mikropipet yaitu :

Kelebihan : Memiliki akuritas dan presisi yang lebih baik

Kekurangan : Dalam penggunaan mikropipet memerlukan banyak menggunakan tip, karena tip digunakan hanya sekali pakai.

b. Penambahan antikoagulan menggunakan pipet tetes

Pipet tetes atau pipet dropping merupakan alat yang terbuat dari pipa kaca dan bagian ujungnya meruncing, dan dibagian atas terdapat karet yang berfungsi untuk membantu memindahkan cairan dari wadah yang satu ke wadah yang lain dalam jumlah yang sangat kecil yaitu tetes demi tetes.



Gambar 2. Pipet Tetes (Brooks, G.F., dkk. 2005)

Cara penggunaan pipet tetes yaitu :

Pertama tekan karet pada bagian atas pipet, kemudian masukkan ujung pipet kedalam larutan atau reagen yang akan diambil, lalu lepaskan karet pengisap

dibagian atas saat ujung pipet sudah berada dalam larutan reagen. Selanjutnya angkat pipet, keluarkan perlahan dengan cara menekan kembali karet sesuai yang dibutuhkan, larutan atau reagen akan keluar perlahan berupa tetesan (Brooks G. F., *dkk*2005).

Kelebihan dan kekurangan menggunakan pipet tetes yaitu :

Kelebihan : Memiliki karet pengisap di atasnya yang memudahkan dalam pengambilan larutan.

Kekurangan : Tidak memiliki skala, hanya digunakan untuk mengambil cairan dengan ukuran tetesan kemudian pada saat mengambil cairan tidak dapat langsung diukur volumenya.

G. Macam-macam Antikoagulan

1. EDTA (Ethylene Diamine Tetra Acetate)

Ada tiga macam EDTA, yaitu dinatrium EDTA (Na_2EDTA), dipotassium EDTA (K_2EDTA), dan tripotassium EDTA (K_3EDTA). Na_2EDTA dan K_2EDTA biasanya digunakan dalam bentuk kering, sedangkan K_3EDTA biasanya digunakan dalam bentuk cair. Ketiga jenis EDTA tersebut, K_2EDTA adalah yang paling baik dan dianjurkan oleh ICSH (International Council for Standardization in Hematology) dan CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). Walaupun demikian, sampai saat ini Na_2EDTA dalam bentuk serbuk masih banyak digunakan di berbagai laboratorium. Umumnya untuk memudahkan pengukuran maka dibuat menjadi larutan 10%. Untuk menghindari terjadinya pengenceran darah, zat kering pun boleh dipakai, dalam hal ini perlu menggoncangkan wadah berisi EDTA selama 1-2 menit, sebab EDTA kering lambat larut. Didalam EDTA terdapat garam-garam yang mengubah ion calcium dari darah menjadi bentuk yang bukan ion. EDTA tidak berpengaruh terhadap bentuk leukosit, selain itu EDTA mencegah penggumpalan trombosit sehingga EDTA sangat baik dipakai sebagai antikoagulan pada pemeriksaan darah rutin. Tiap 1 mg EDTA menghindarkan membekunya 1 ml darah. Pemberian antikoagulan EDTA yang lebih dari 2 mg/ml darah maka kadar hemoglobin menjadi lebih rendah dari yang sebenarnya (Gandasoebrata, 2013).

2. Natriumsitrat 3,8%

Natrium sitrat biasanya digunakan untuk pemeriksaan LED (Laju endap darah) dengan volume perbandingan 1:4 yaitu 1 volume antikoagulan dan 4 volume darah. Namun penggunaan Natrium sitrat dapat dilakukan juga untuk pemeriksaan sistem pembekuan darah dengan perbandingan (1 bagian Na citrate + 9 bagian darah), penentuan golongan darah, dan tranfusi darah (Riswanto, 2013).

3. Heparin

Heparin mencegah pembekuan dengan cara menghambat pembentukan trombin. Trombin adalah enzim yang dibutuhkan untuk mengubah fibrinogen menjadi fibrin. Plasma dengan antikoagulan heparin sering kali digunakan untuk beberapa pemeriksaan osmotic fragility test (OFT). Cara kerja heparin sebagai antitrombin atau penghambat aktivitas trombin, takarannya adalah 1 mg (dalam bentuk kering) atau 0,1 ml dalam bentuk larutan (Kiswari, 2014).

4. Double Oxalat

Oksalat mencegah pembekuan darah dengan cara mengendapkan kalsium dalam darah. Antikoagulan ini dapat dijumpai sebagai ammonium, lithium, kalium dan natrium. Natrium oksalat 0,1 N digunakan untuk pengujian faktor pembekuan darah dengan perbandingan 1:9, yaitu 1 bagian Na oksalat ditambah 9 bagian darah (Riswanto, 2013).

H. Faktor-faktor yang Mempengaruhi Pemeriksaan Kadar hemoglobin

1. Bahan pemeriksaan

Pemeriksaan kadar hemoglobin menggunakan darah vena. Sampel yang digunakan tidak boleh lisis maupun menggumpal di dalam tabung penampung, karena pencampuran anatar antikoagulan dengan sampel tidak merata. Dapat menyebabkan sampel menjadi rusak dan mempengaruhi hasil pemeriksaan hematologi.

2. Alat

Alat pemeriksaan bila tidak dilakukan perawatan secara rutin maupun kalibrasi maka akan mempengaruhi hasil pemeriksaan menjadi lebih tinggi maupun lebih rendah. Perlu dilakukan perawatan alat secara rutin dengan melakukan perawatan harian. Kalibrasi hendaknya diperiksa secara teratur dengan

menggunakan program pemantapan mutu yang bisa dilakukan setiap laboratorium, sesuai dengan persyaratan laboratorium yang baik.

3. Reagen

Reagen harus diperlakukan sesuai aturan yang diberikan pabrik pembuatannya termasuk cara penyimpanan, penggunaan dan expirednya. Pemakaian reagen yang sudah rusak oleh karena expired maupun dalam suhu penyimpanan akan menyebabkan penyimpangan hasil.

4. Volume

Volume antikoagulan harus sesuai dengan volume darah yang akan diambil. Pemberian antikoagulan yang kurang akan mengakibatkan eritrosit mengalami pembekuan, sebaliknya jika volume yang diambil berlebihan eritrosit akan mengalami krenasi/mengkerut. Hal ini akan berpengaruh pada kadar hemoglobin.

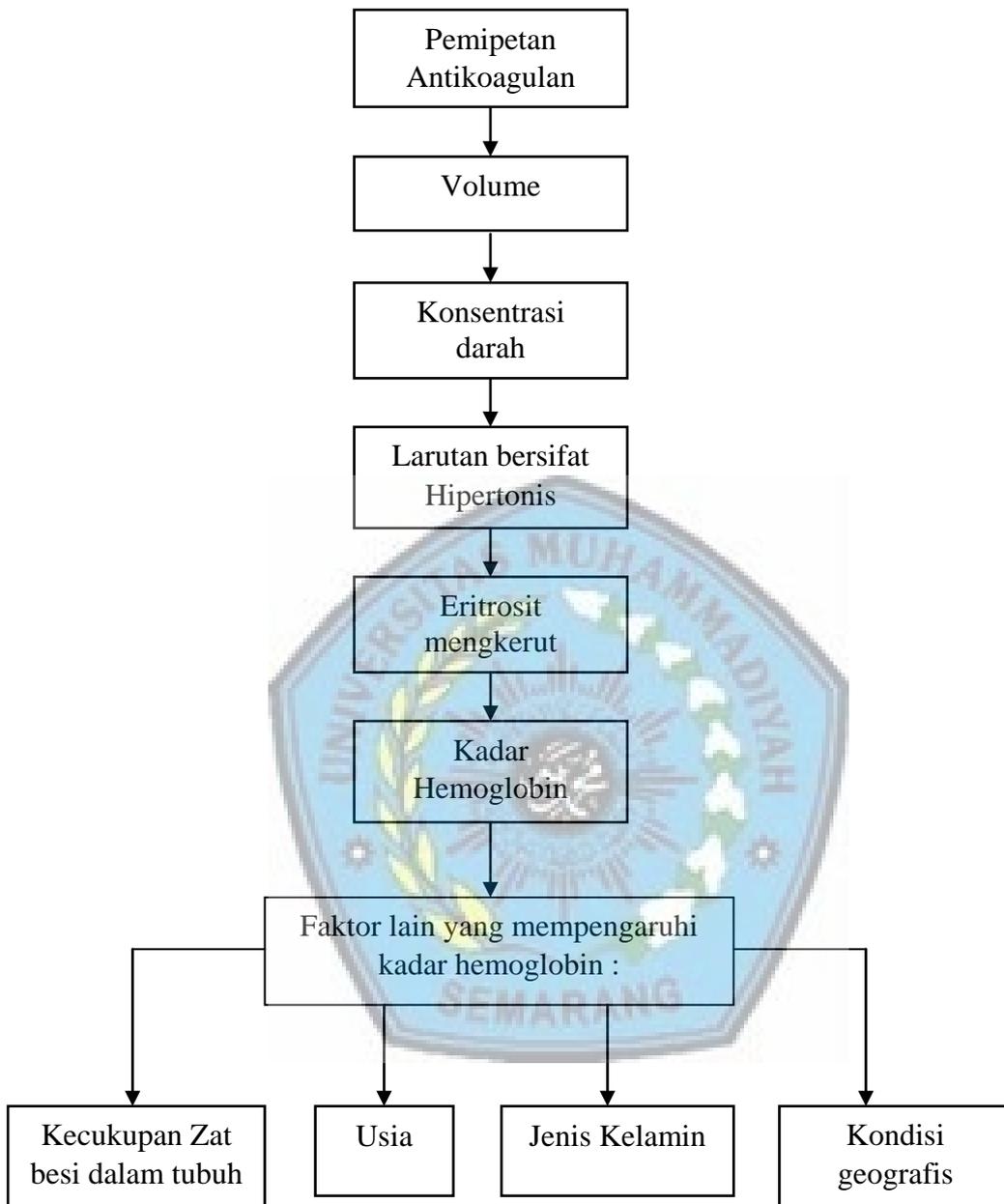
5. Pemeriksaan

Faktor pemeriksaan juga berpengaruh pada hasil pemeriksaan kadar hemoglobin. Bila sampel tidak tercampur dengan baik, sampel dihisap tidak sampai dasar tabung sampel atau hanya pada permukaan tabung sampel, maka hasil kadar hemoglobin akan terjadi penyimpangan.

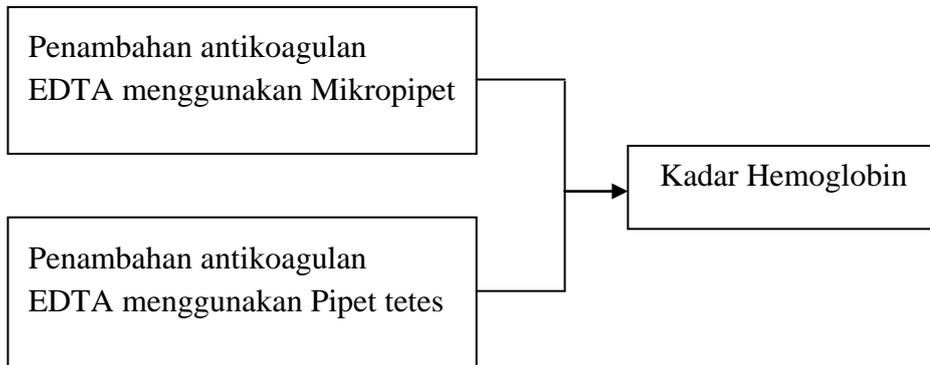
6. Pengaruh waktu, suhu terhadap kadar hemoglobin

Penundaan pemeriksaan lebih dari 2 jam dapat menyebabkan eritrosit mengkerut, mengkerutnya eritrosit menyebabkan kadar hemoglobin rendah (Gandasoebrata R, 2008). Suhu ruangan sampel darah EDTA yang terlalu lama dapat menyebabkan terjadinya serangkaian perubahan pada eritrosit seperti pecahnya membran eritrosit (hemolisis) yang dapat mempengaruhi kadar hemoglobin. Suhu dengan temperature 4°C digunakan untuk menyimpan darah, penyimpanan darah pada suhu ini eritrosit akan lebih stabil.

I. Kerangka Teori



J. Kerangka Konsep



K. Hipotesis

Ada perbedaan kadar hemoglobin dalam penambahan antikoagulan EDTA menggunakan pipet tetes dan mikropipet.

