

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Hemoglobin dan Hematokrit

1. Definisi Hemoglobin dan Hematokrit

a. Hemoglobin

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 ada. Terdapat 141 molekul asam amino pada rantai beta, gamma dan delta (Sutedjo, 2009).

Hemoglobin (Hb) merupakan bagian utama dari sel darah merah dan mengikat oksigen, bila seseorang memiliki jumlah sel darah merah di bawah batas normal atau kadar Hb rendah sel – sel tubuh tidak akan mendapatkan oksigen yang cukup, sehingga timbul gejala anemia berupa kelelahan. Pemeriksaan hematologi rutin sangat penting (Febianty, dkk, 2013).

Banyak cara yang telah ditemukan untuk pemeriksaan hemoglobin, saat ini banyak tenaga klinis yang masih memakai metode Sahli namun kemungkinan kesalah ini sebesar 10% - 15% .Metode yang dianjurkan oleh *International Committee for Standardization in Hematology* metode Sianmethemoglobin (*autoanalyzer*), yaitu dengan menghitung secara otomatis kadar hemoglobin dalam eritrosit, metode ini banyak digunakan dan mempunyai standar yang stabil (Febianty, dkk, 2015).

b. Hematokrit

Hematokrit adalah persentase volume seluruh eritrosit yang ada di dalam darah dan diambil dalam volume eritrosit yang dipisahkan dari plasma dengan cara memutarnya di dalam

tabung khusus dalam waktu dan kecepatan tertentu yang nilainya dinyatakan dalam persen (%), nilai untuk pria 40-48 vol % dan untuk wanita 37-43 vol % (Sadikin. M, 2008).

Nilai hematokrit dapat digunakan sebagai tes skrining sederhana untuk anemia, sebagai referensi kalibrasi untuk metode otomatis hitung sel darah, dan secara kasar untuk membimbing kekuratan pengukuran hemoglobin. Nilai hematokrit yang dinyatakan g/L adalah sekitar tiga kali kadar Hb (Kiswari, 2014).

Nilai hematokrit dari sampel adalah perbandingan antara volume eritrosit dengan volume darah secara keseluruhan. Nilai hematokrit dapat dinyatakan sebagai presentase (konvensional) atau sebagai pecahan desimal (unit SI), liter/liter (L/L). Asam heparin kering dan etilen diamin tetra asetat (EDTA) adalah antikoagulan yang memuaskan untuk tujuan tes ini (Kiswari, 2014).

2. Sintesis Hemoglobin dan Hematokrit

a. Hemoglobin

Fungsi utama sel darah merah adalah mengangkut O_2 ke jaringan dan mengembalikan CO_2 dari jaringan ke paru – paru. Pertukaran gas ini, sel darah merah mengandung protein khusus, yaitu hemoglobin dan setiap hemoglobin dewasa normal (Hb A) terdiri atas empat rantai polipeptida $\alpha_2 \beta_2$, masing – masing dengan gugus haemnya sendiri. Berat molekul Hb A adalah 68.000 darah dewasa normal juga berisi jumlah kecil dua hemoglobin lain, Hb F dan Hb A^s yang juga mengandung rantai γ dan rantai δ masing – masing sebagai pengganti β . 65% hemoglobin disintesis dalam eritoblas dan 35% hemoglobin disintesis pada stadium retikulosit. Sintesis haem, terjadi banyak dalam mitokondria oleh sederet reaksi biokimia yang dimulai dengan kondensasi glisin dan suksinil.

Koenzim A dibawah aksi enzim kunci data-amino laevulinic acid (Ala) sintase yang dirangsang oleh eritro protein dan dihambat oleh haem. Akhirnya protoporphin bergabung

dengan masing – masing gugus haemnya sendiri terbentuk dalam “kantong” untuk membangun molekul hemoglobin (Hoffbrand, 2005).

b. Hematokrit

Penentuan hematokrit dilakukan dengan sentrifugasi. Tinggi dari kolom eritrosit, *buffy coat*, dan kolom plasma harus diperhatikan. *Buffy coat* adalah lapisan merah keabu – abuan antara eritrosit dengan plasma. Dalam *buffy coat* terdiri dari trombosit dan lekosit. Plasma berwarna oranye atau hijau, yang menunjukkan peningkatan terjadinya hemoglobinemia akibat spesimen mengalami hemolisis.

3. Fungsi Hemoglobin dan Hematokrit

a. Hemoglobin

Hemoglobin di dalam darah membawa oksigen dari paru-paru keseluruh jaringan tubuh dan membawa kembali karbondioksida dari seluruh sel ke paru-paru untuk di keluarkan dari tubuh. Mioglobin berperan sebagai reservoir oksigen : menerima, menyimpan dan melepas oksigen di dalam sel - sel otot. Sebanyak kurang lebih 80% besi tubuh berada di dalam hemoglobin (Sunita, 2001).

b. Hematokrit

Hematokrit digunakan untuk mengukur derajat anemi dan polisitemia. Untuk mengetahui adanya ikterus yang dapat diamati dari warna plasma. Di mana plasma terbentuk warna kuning atau kuning tua (Gandasoebrata, 2008).

B. Pemeriksaan Kadar Hemoglobin dan Hematokrit

1. Faktor-Faktor Mempengaruhi Kadar Hemoglobin dan Hematokrit

a. Hemoglobin

Beberapa faktor yang mempengaruhi kadar hemoglobin adalah :

1) Faktor Kecukupan besi dalam tubuh

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

2) Faktor Usia

Anak – anak, orangtua, wanita hamil akan lebih mudah mengalami penurunan kadar hemoglobin. Pada anak – anak dapat disebabkan karena pertumbuhan anak – anak yang cukup pesat dan tidak di imbangi dengan asupan zat besi sehingga menurunkan kadar hemoglobin (Nasional Anemia Action Council, 2009).

3) Faktor Jenis Kelamin

Perempuan lebih mudah mengalami penurunan kadar hemoglobin dari pada laki – laki, terutama pada perempuan saat menstruasi (Nugrahani, 2013)

4) Faktor Penyakit sistemik

Beberapa penyakit yang mempengaruhi kadar hemoglobin leukimia, thalasemia dan tuberkulosis. Penyakit tersebut dapat mempengaruhi sel darah merah yang disebabkan terdapat gangguan pada sum – sum tulang (Nugrahani, 2013)

5) Faktor pola makan

Sumber zat besi terdapat dimakanan bersumber dari hewani dimana hati merupakan sumber yang paling banyak mengandung Fe (antara 6,0 mg – 14,0 mg). Sumber lain juga berasal dari tumbuh ; tumbuhan tetapi kecil kandungannya (Gibson, 2005).

6) Faktor Kebiasaan minum teh

Konsumsi teh setiap hari dapat menghambat penyerapan zat besi sehingga akan mempengaruhi kadar hemoglobin (Gibson, 2005).

7) Metode

a) Metode cara fotoelektrik : sianmethemoglobin

Hemoglobin darah diubah menjadi sianmethemoglobin (hemiglobinsianida) dalam larutan yang berisi kalium ferrisianida dan kalium sianida. Absorpsi larutan diukur pada gelombang 540 nm atau filter hijsu. Larutan Drabkin yang dipakai pada cara ini mengubah hemoglobin, oksihemoglobin, methemoglobin dan karboksihemoglobin menjadi sianmethemoglobin. Sulfhemoglobin tidak berubah dan karena itu tidak ikut diukur (Gandasoebrata, 2008).

b) Metode cara Sahli

Cara ini hemoglobin diubah menjadi hematin asam, kemudian warna yang terjadi dibandingkan secara visual dengan standart alat itu. Cara sahli bukanlah cara yang teliti. Kelemahan metodik berdasarkan kenyataan bahwa kolorimetri visual tidak teliti. Bahwa hematin asam itu bukan merupakan larutan sejati dan bahwa alat itu tidak dapat distandardkan. Cara ini juga kurang baik karena tidak semua macam hemoglobin diubah menjadi hematin asam, umpamanya karboxyhemoglobin, methemoglobin dan sulfhemoglobin (Gandasoebrata, 2008).

Cara Sahli bukanlah cara yang teliti. Kelemahan metodik berdasarkan kenyataan bahwa kolorimetri visual tidak teliti, bahwa hematin asam itu bukan merupakan larutan sejati dan bahwa alat itu tidak dapat distandardkan. Cara ini juga kurang baik karena tidak semua macam hemoglobin diubah menjadi hematin asam, umpamanya karboxyhemoglobin, methemoglobin dan sulfhemoglobin (Gandasoebrata, 2008)

b. Hematokrit

Beberapa faktor yang mempengaruhi kadar nilai hematokrit (Frandsen, 1992) :

1. Faktor Jenis Kelamin
2. Faktor Jumlah Sel Darah Merah

Dimana sel darah merah Pria lebih banyak dari pada Wanita , apabila jumlah sel darah merah meningkat atau banyak maka jumlah nilai hematokrit juga akan mengalami peningkatan.

3. Aktivitas dan keadaan patologis

4. Ketinggian Tempat

Kadar oksigen dalam udara berkurang sehingga oksigen yang masuk ke dalam paru – paru berkurang , oleh karena itu supaya terjadi keseimbangan maka sumsum tulang belakang memproduksi sel – sel darah merah.

5. Metode

a) Makrometode menurut Wintrobe

Padatunya kolom eritrosit yang didapat dengan memusing darah di tentukan oleh faktor : radius sentrifuge, kecepatan sentrifuge dan lamanya pemusingan. Dalam sentrifuge yang cukup besar, dengan memakai makrometode dicapai kekuatan pelantingan (relative centrifugal force) sebesar 2.260 g , untuk memadatkan sel – sel merah dengan memakai sentrifuge itu diperlukan rata – rata 30 menit (Gandasoebrata, 2008)

b) Mikrometode

Sentrifuge mikrohematokrit mencapai kecepatan yang jauh lebih tinggi, maka dari itu lamanya erupusingan dapat diperpendek. Tabung mikropipiler yang khusus dibuat untuk mikro hematokrit panjangnya 75 mm dan diameter dalamnya 1,2 sampai 1,5 mm. Ada tabung yang sudah dilapisi heparin, tabung itu dapat dipakai untuk darah kapiler ada pula tabung kapiler tanpa heparin yang dipergunakan dengan darah oxalat atau darah EDTA dari vena. (Gandasoebrata, 2008).

Lama – kelamaan penetapan nilai hematokrit dengan mikrometode menggeserkan makrometode karena hasilnya dapat diperoleh dalam waktu singkat. Hasil itu kadang –

kadang sangat penting untuk menentukan keadaan klinis yang mrnjurus kepada tindakan darurat (Gandasoebrata, 2008).

2. Metode Pemeriksaan Kadar Hemoglobin dan Hematokrit

a. Hemoglobin

1) Metode cara fotoelektrik : sianmethemoglobin

Hemoglobin darah diubah menjadi sianmethemoglobin (hemiglobinsianida) dalam larutan yang berisi kalium ferrisianida dan kalium sianida. Absorpsi larutan diukur pada gelombang 540 nm atau filter hijsu. Larutan Drabkin yang dipakai pada cara ini mengubah hemoglobin, oksihemoglon, methemoglobin dan karboksihemoglobin menjadi sianmethemoglobin. Sulfhemoglobin tidak berubah dan karena itu tidak ikut diukur (Gandasoebrata, 2008).

2) Metode cara Sahli

Cara ini hemoglobin diubah menjadi hematin asam, kemudian warna yang terjadi dibandingkan secara visual dengan standart alat itu. Cara sahli bukanlah cara yang teliti. Kelemhan metodik berdasarkan kenyataan bahwa kolorimetri visual tidak teliti. Bahwa hematin asam itu bukan merupakan larutan sejati dan bahwa alat itu tidak dapat distandardkan. Cara ini juga kurang baik karena tidak semua macam hemoglobin diubah menjadi hematin asam, umpamanya karboxyhemoglobin, methemoglobin dan sulhemoglobin (Gandasoebrata, 2008).

b. Hematokrit

1. Makrometode menurut Wintrobe

Padatnya kolom eritrosit yang didapat dengan memusing darah di tentukan oleh faktor : radius sentrifuge, kecepatan sentrifuge dan lamanya pemusingan. Dalam

sentrifuge yang cukup besar, dengan memakai makrometode dicapai kekuatan pelantingan (relative centrifugal force) sebesar 2.260 g , untuk memadatkan sel – sel merah dengan memakai sentrifuge itu diperlukan rata – rata 30 menit (Gandasoebrata, 2008)

2. Mikrometode

Sentrifuge mikrohematokrit mencapai kecepatan yang jauh lebih tinggi, maka dari itu lamanya erpusingan dapat diperpendek. Tabung mikrokapiler yang khusus dibuat untuk mikro hematokrit panjangnya 75 mm dan diameter dalamnya 1,2 sampai 1,5 mm. Ada tabung yang sudah dilapisi heparin, tabung itu dapat dipakai untuk darah kapiler ada pula tabung kapiler tanpa heparin yang dipergunakan dengan darah oxalat atau darah EDTA dari vena. (Gandasoebrata, 2008).

3. Faktor yang mempengaruhi pemeriksaan kadar Hemoglobin dan Hematokrit

1. Hemoglobin

a. Pembendungan Vena

Pemasangan tourniquet (tali pembendung) hendaknya tidak lebih dari 2 menit. Pemasangan tali pembendung dalam waktu lama dan terlalu keras dapat menyebabkan hemokonsentrasi (peningkatan nilai hemoglobin, hematokrit dan elemen sel) (Riswanto, 2009)

b. Sampel Darah

Kekeruhan dalam suatu sampel darah dapat mengganggu dalam fotokolorimeter dan menghasilkan absorbensi dan kadar Hb yang lebih tinggi dari yang sebenarnya. Kekeruhan semacam ini dapat disbabkan antara lain oleh leukositosis, lipemia, dan adanya globulin abnormal seperti pada macro iobulinemia (Dian Rakyat, 2006)

c. Reagen

Reagen adalah bahan pereaksi yang harus selalu baik kualitasnya mulai dari saat penerimaan, semua reagen yang dibeli harus diperhatikan nomor lisensi kadaluarsanya, keutuhan wadah atau botol atau cara transportasinya.

d. Waktu Inkubasi

Sesuai prosedur kerja Hb, setelah sampel diperoleh dilakukan pemeriksaan kadar hemoglobin, kemudian diinkubasi selama 10 menit dan baca pada fotometer 4010, hal ini diselenggarakan agar eritrosit dalam darah lisis terlebih dahulu kemudian akan bereaksi dengan kalium cianida membentuk cyanmethemoglobin, namun sering kita jumpai di laboratorium petugas sering mengabaikan masa inkubasi, misalnya dalam pemeriksaan Hb, yang seharusnya masa inkubasi 10 menit menjadi berkurang masa inkubasinya dan terkadang pula tanpa diinkubasi sampel pemeriksaan Hb langsung dibaca hingga mengeluarkan hasil yang tidak akurat.

2. Hematokrit

a. Pembendungan Vena

Pemasangan tourniquet (tali pembendung) hendaknya tidak lebih dari 2 menit. Pemasangan tali pembendung dalam waktu lama dan terlalu keras dapat menyebabkan hemokonsentrasi (peningkatan nilai hemoglobin, hematokrit dan elemen sel) (Riswanto, 2009).

b. Kecepatan centrifuge

Makin tinggi kecepatan centrifuge semakin cepat terjadinya pengendapan eritrosit dan begitu pula sebaliknya, semakin rendah kecepatan centrifuge semakin lambat terjadinya pengendapan eritrosit. Pengaruh kecepatan centrifuge, dapat kita lihat pada hasil pemeriksaan hematokrit dengan menggunakan kecepatan centrifuge 16.000 rpm dan selama 2-3 menit yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna

c. Waktu centrifugasi

Selain radius dan kecepatan centrifuge, lamanya centrifugasi juga berpengaruh terhadap hasil pemeriksaan hematokrit. Makin lama centrifugasi dilakukan maka hasil yang diperoleh semakin maksimal.

4. Pengaruh pembendungan terhadap kadar hemoglobin dan hematokrit

Tali pembendung (tourniquet) adalah alat yang diikatkan di lengan pasien sebelum pungsi vena untuk membatasi atau menahan aliran darah. Penggunaan tourniquet yang benar adalah cukup ketat untuk membatasi atau menahan aliran darah arteri. Tujuan dari penggunaan tourniquet adalah agar pembuluh darah tampak lebih melebar dan menonjol karena pembendungan, serta dindingnya menjadi lebih tipis sehingga lebih mudah ditembus oleh jarum (Kiswari, 2009).

Pemasangan torniquet (tali pembendung) hendaknya tidak lebih dari 2 menit. Pemasangan tali pembendung dalam waktu lama dan terlalu keras dapat menyebabkan hemokonsentrasi. Hemokonsentrasi adalah pengentalan darah akibat perembesan plasma (komponen darah cair non seluler) ditandai dengan nilai hematokrit. Hematokrit adalah perbandingan sel darah merah dan serum darah (cairan darah). Semakin tinggi nilai hematokrit, artinya semakin rendah nilai serum darah. Apabila serum darah berfungsi sebagai pelarut rendah, maka terjadi kekentalan di dalam pembuluh darah. Selain peningkatan nilai hematokrit juga terjadi peningkatan PCV, elemen sel, hemoglobin, peningkatan kadar substrat (protein total, AST, besi, kolesterol, lipid total) (Riswanto, 2009).

5. Hemokonsentrasi

Hemokonsentrasi adalah pengentalan darah akibat perembesan plasma (komponen darah cair non seluler) ditandai dengan nilai hematokrit. Hematokrit adalah perbandingan sel darah merah dan serum darah (cairan darah). Semakin tinggi nilai ematokrit, artinya semakin

rendah nilai serum darah. Jika serum darah yang berfungsi sebagai pelarut rendah, maka terjadi kekentalan di dalam pembuluh darah.

6. Cara mengatasi dan menanggulangi kesalahan dalam pemeriksaan

a. Tahapan pra analitik

1) Identitas pasien harus lengkap dan jelas

Identitas pasien harus lengkap dan jelas , agar tidak tertukar dengan pasien lain.

2) Posisi pengambilan sampel

Volume darah orang dewasa pada saat berdiri berkurang 600 ml dibandingkan pada saat berbaring. Hal ini disebabkan oleh volume plasma yang relatif berkurang pada saat berdiri karena terjadi peningkatan protein plasma. Maka posisi pengambilan darah sebaiknya duduk kecuali pada kasus penyakit berat.

3) Pembendungan Vena

Proses plebotomi diawali dengan pembendungan. Fungsi pembendungan untuk membatasi aliran darah vena sehingga menyebabkan pembuluh darah menonjol sehingga vena lebih jelas. Pemasangan tourniquet (tali pembendung) hendaknya tidak lebih dari 2 menit. Pemasangan tali pembendung dalam waktu lama dan terlalu keras dapat menyebabkan hemokonsentrasi. Hemokonsentrasi adalah pengentalan darah akibat perembesan plasma (komponen darah cair non seluler) ditandai dengan nilai hematokrit. Hematokrit adalah perbandingan sel darah merah dan serum darah (cairan darah). Semakin tinggi nilai hematokrit, artinya semakin rendah nilai serum darah. Apabila serum darah berfungsi sebagai pelarut rendah, maka terjadi kekentalan di dalam pembuluh darah. Selain peningkatan nilai hematokrit juga terjadi peningkatan PCV, elemen sel, hemoglobin, peningkatan kadar substrat (protein total, AST, besi, kolesterol, lipid total) (Riswanto, 2009).

4) Pengambilan sampel

Pengambilan sampel darah harus dicegah terjadinya hemolisis. Hemolisis berat bisa mengakibatkan pecahnya eritrosit, sehingga zat yang ada dalam bekuan masuk ke plasma.

5) penanganan sampel

Sampel darah yang sudah di peroleh di tambah dengan larutan EDTA agar darah tidak membeku. Darah tadi di ambil dengan menggunakan mikropipet sebanyak 20 ul di masukan pada tabung yang sudah berisi 5 ml larutan drabkin , di homogenkan , dan baca dalam spektrofotometer pada gelombang 540 nm , program c/st dan faktor 36,77

b. Tahap analitik

1) Reagen

Perlu diperhatikan pada penggunaan reagen adalah:

- a) Fisik, kemasan dan tanggal kadaluarsa.
- b) Suhu penyimpanan.
- c) Penyimpanan reagen sebelum pemeriksaan (suhu, peralatan, stabilitas).

2) Alat/Instrumen

Perlu diperhatikan pada penggunaan peralatan:

- a) Bagian-bagian fotometer dan alat ukur otomatis lainnya harus berfungsi dengan baik (kalibrasi alat).
- b) Pipet juga harus dipantau secara teratur ketepatannya.
- c) Kebersihan, keutuhan dan ketepatan merupakan persyaratan yang harus dipenuhi agar alat dapat dipakai.

3) Metode pemeriksaan

Dalam memilih metode pemeriksaan hendaknya dipertimbangkan:

- a) Reagen yang mudah diperoleh.
- b) Alat yang tersedia dapat untuk memeriksa dengan metode tersebut.
- c) Suhu pemeriksaan dipilih sesuai dengan tempat kerja.

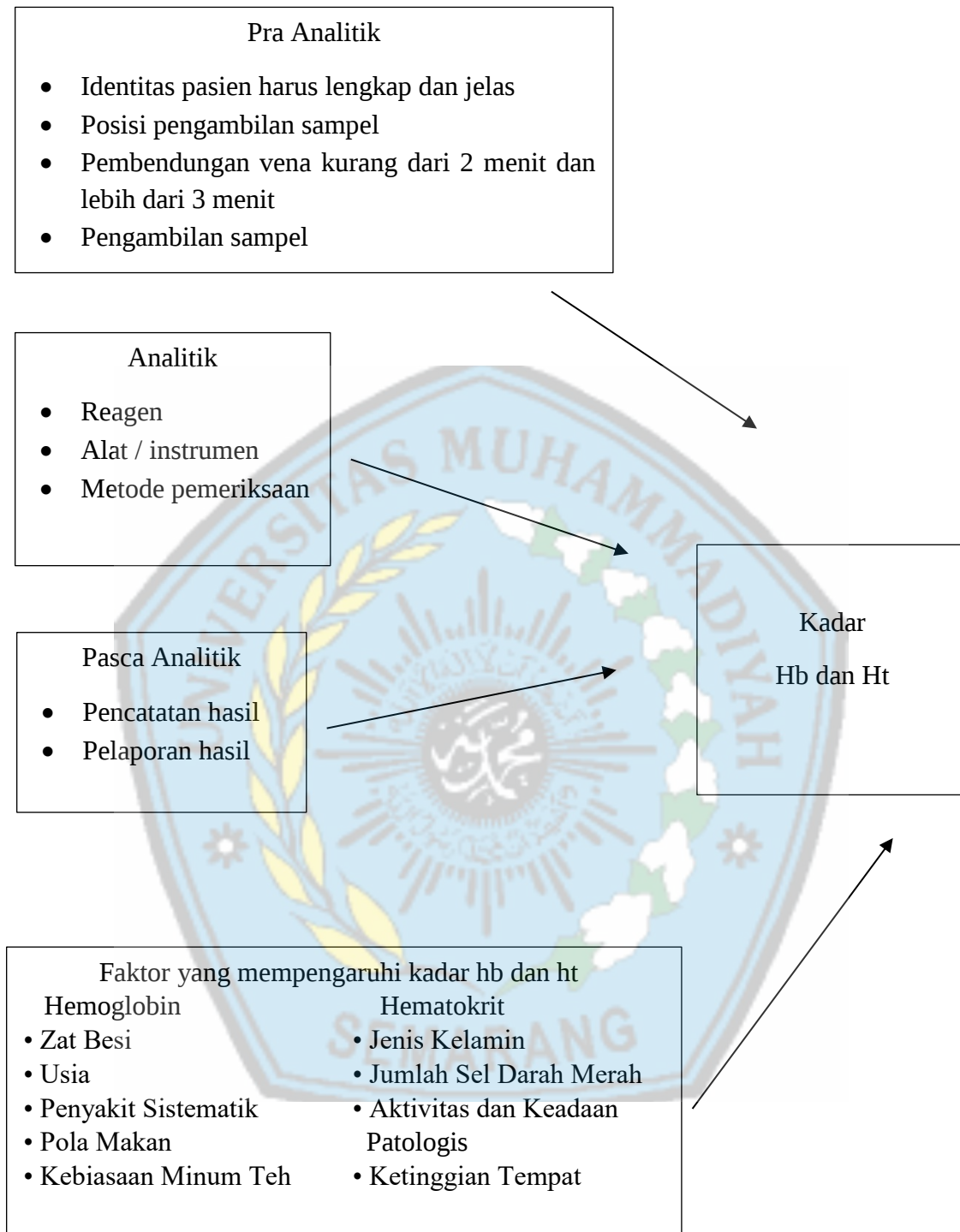
d) Metode pemeriksaan yang mudah dan sederhana.

c. Tahap pasca analitik

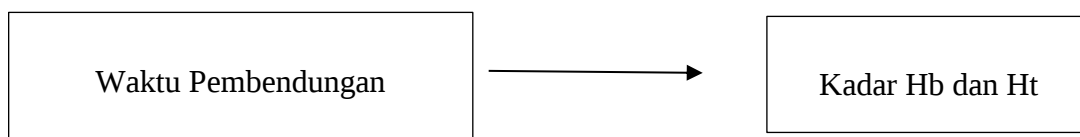
Pencatatan hasil dan pelaporan hasil dilakukan secara teliti dan benar.



C. Kerangka Teori



D. Kerangka konsep



E. Hipotesis

Ada perbedaan kadar Hemoglobin dan Hematokrit pembendungan kurang dari 2 menit dan pembendungan lebih dari 3 menit pada saat pengambilan darah.

