



**PERBEDAAN KADAR HEMOGLOBIN SAMPEL BERCAK  
DARAH KERTAS S&S-903 DAN KERTAS WHATMAN-1  
DENGAN SAMPEL DARAH EDTA LANGSUNG**

**Oleh:  
HERNIAH ASTI W**

**BAGIAN PATOLOGI KLINIK FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS DIPONEGORO SEMARANG**

**2001**

616.15  
WUL  
P C.1

**PERBEDAAN KADAR HEMOGLOBIN  
SAMPEL BERCAK DARAH KERTAS S&S-903 DAN  
KERTAS WHATMAN-1 DENGAN SAMPEL  
DARAH EDTA LANGSUNG**

**Karya ilmiah akhir  
Untuk memenuhi persyaratan  
Program Pendidikan Dokter Spesialis-I  
Patologi Klinik**

**Pada  
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS DIPONEGORO  
SEMARANG**

**Oleh:  
HERNIAH A WULANJANI**

**P P D S-1 PATOLOGI KLINIK  
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS DIPONEGORO  
SEMARANG  
2001**

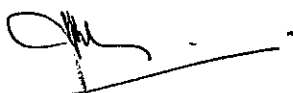
**Karya ilmiah ini telah disetujui untuk dipertahankan**

**di hadapan tim penguji**

**PPDS I Patologi klinik FK UNDIP**


Telah disetujui,

Pembimbing I



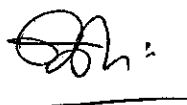
Dr. Imam Budiwiyono, Sp.PK  
NIP. 131.125.893

Pembimbing II



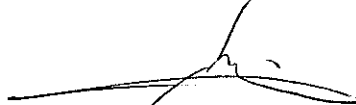
Dr. M I Tjahjati DM, Sp.PK  
NIP. 130.704.307

Ketua bagian Patologi Klinik  
FK UNDIP



Dr. Purwanto AP, Sp.PK  
NIP.131.252.963

Ketua PPDS-I Patologi Klinik  
FK UNDIP



Dr. Lisyani Suromo, Sp.PK(K)  
NIP. 130.354.869

## RIWAYAT HIDUP

**N a m a** : Herniah Asti Wulanjani, Dr.

**A l a m a t** : Jl. Waru Timur Raya 5  
Banyumanik, Semarang.  
Telp. (024) 7474622.

**Tempat / Tanggal lahir** : Jepara, 18 Agustus 1961.

**A g a m a** : Islam

**Status Perkawinan** : Kawin

**Nama Suami** : Fatahilah

**Nama Anak** : 1. Nurulia Khaerani.  
2. Indra Pamukti.  
3. Wirawan Setya Aji.

**Pangkat / Golongan** : Penata / III C.

**N I P** : 140.225.827.

**Riwayat Pendidikan** : 1. Lulus SD N Panggang I Jepara 1973.  
2. Lulus SMP N II Jepara 1976.  
3. Lulus SMA N Jepara 1980.  
4. Lulus FK UNDIP Semarang 1988.

# Perbedaan kadar hemoglobin sampel bercak darah kertas S&S-903 dan Kertas Whatman-1 dengan sampel darah EDTA langsung

Herniah A W, Tjahjati DM, Imam BW  
Bagian Patologi Klinik FK UNDIP/ RSUP dr Kariadi Semarang

## Abstract

**Background.** Haemoglobine detecting using Cyanmethaemoglobine method for screening anemia is a method suggested by WHO. But the sample taking and delivery are so disturbing that a safe and simple way is needed. So far blood spot paper Whatman-1 is suggested to be used. This is a very thin filter paper so that it is needed to find a better material. Here, S&S-903 paper is used as a special paper to collect samples.

**Purpose.** To know the difference between the result of measuring Hb. from blood spot sample by using Whatman-1 paper (KW) and S&S-903 (KS) based on the conventional gold standard (GS).

**Material and method.** A number of 150 EDTA blood samples is taken purposive out of patients in Laboratory dr Kariadi Hospital Semarang. Hb measurement is carried out using Cyanmethaemoglobine as a gold standard. Using the same pipette a blood spot is dropped on Whatman-1 paper and then on S&S-903 paper. It is then dried, cut and dissolved in a Drabkin's solution in the same volume standard, and examined in the same method.

**Result.** The average Hb on GS = 12,13 ( SD = 2,319 ), on KW = 11,96 ( SD = 2,326 ), on KS = 11,953 ( SD = 2,308 ). Using difference test accompanied by Paired T test there is a significant difference between KS and GS ( p = 0,000 ) and KW and GS ( p = 0,000 ). There is no difference between KS and KW ( p = 0,801 ). Linear regression test is done between KS and GS  $y = 0,188 + 0,994x$  ( y = GS, x = KS ), between GS and KW  $y = 0,293 + 0,992x$  ( y = GS, x = KW )

**Conclusion.** There is a significant different between the result of detecting using S&S paper and Whatman-1 paper samples with the conventional ones. These also a significant between the result of detection using KW with GS and KS with GS there is no difference between KS and KW.

**Suggestion.** Correction by  $y = 0,188 + 0,994x$  is needed in Hb detection using KS and using  $y = 0,293 + 0,992x$  is needed for the detection using KW.

**Key words :** Cyanmethaemoglobine, S&S-903, Whatman-1.

## Abstrak

**Latar Belakang** Pemeriksaan Hemoglobin dengan metode sianmethemoglobin untuk skrining anemia adalah metode yang disarankan oleh WHO. Namun pengambilan dan pengiriman sampel merepotkan sehingga dibutuhkan cara yang sederhana dan aman. Cara yang selama ini dianjurkan adalah dengan memakai bercak darah pada kertas Whatman 1. Kertas ini merupakan kertas saring yang tipis sehingga perlu dicari bahan yang lebih baik. Disini dicoba dengan memakai kertas S&S 903 sebagai kertas khusus untuk koleksi sampel.

**Tujuan** Membandingkan hasil pengukuran Hb sampel bercak darah dengan menggunakan kertas kertas S&S-903 (KS) dan Whatman-1 (KW) dengan *gold standart* (GS) cara sampel darah EDTA langsung.

**Bahan dan metode** Sampel darah EDTA sebanyak 150 diambil secara purposif dari penderita yang diperiksa di Laboratorium RSUP dr Kariadi Semarang. Dilakukan pemeriksaan Hb dengan metode sianmethemoglobin sebagai *Gold Standart*. Kemudian dibuat bercak darah dengan pipet yang sama pada kertas S&S-903 dan kertas Whatman 1, dibiarkan kering kemudian dipotong dan dilarutkan pada larutan Drabkin's dengan volume sama dengan standart. Diperiksa dengan metode yang sama.

**Hasil** Rerata Hb pada GS = 12,130 (SD = 2,319), pada KS = 11,953 (SD = 2,308), pada KW = 11,960 (SD = 2,326). Uji beda dengan *Paired T test* didapat perbedaan bermakna antara KS dengan GS (  $p = 0,000$ ), antara KW dengan GS (  $p = 0,000$ ) dan tidak terdapat perbedaan antara KS dan KW (  $p = 0,801$  ). Dilakukan Uji regresi linier antara GS dengan KS -  $y = 0,188 + 0,994x$  (  $y=GS$ ,  $x=KS$ ), antara GS dengan KW -  $y = 0,293 + 0,992x$  (  $y=GS$ ,  $x=KW$ ).

**Kesimpulan.** Terdapat perbedaan bermakna antara KS dengan GS dan antara KW dengan GS dan tidak terdapat perbedaan antara KS dan KW.

**Saran** Pemeriksaan Hb dengan KS perlu koreksi dengan  $y = 0,188 + 0,994x$  , dengan KW dikoreksi,  $y = 0,293 + 0,992x$ .

**Kata kunci** : Sianmethemoglobin, S&S-903, Whatman-1.

## KATA PENGANTAR

Pertama saya panjatkan puji syukur kepada Allah Swt. atas berkat rahmat dan ridhoNya, saya dapat menyelesaikan tulisan ini sebagai karya akhir dalam rangka menyelesaikan Program Pendidikan Dokter Spesialis I Patologi Klinik di Fakultas Kedokteran UNDIP / RSUP Dr. Kariadi Semarang.

Sejak awal pendidikan sampai terwujudnya karya akhir sebagai hasil dari penelitian yang telah saya lakukan ini adalah berkat dari bimbingan, bantuan serta dorongan dari berbagai pihak. Oleh karena itu perkenankanlah saya dengan setulus hati menyampaikan rasa terimakasih dan penghargaan yang sedalam-dalamnya kepada yang terhormat :

1. Dr. Purwanto AP, Sp.PK, Selaku Ketua Bagian Patologi Klinik FK UNDIP yang telah memberikan kesempatan, fasilitas dan tidak bosan-bosannya mendorong saya selama mengikuti Program Pendidikan Dokter Spesialis I di bagian Patologi Klinik sampai akhir pendidikan .
2. Dr Lisyani Suromo, Sp.PK(K), selaku Ketua Program Pendidikan Dokter Spesialis I Patologi Klinik FK UNDIP yang telah berjuang tanpa lelah dalam memberikan semangat dan dorongan kepada saya dan dengan kesabaran seorang ibu memberikan bimbingan kepada saya hingga terselesaikannya pendidikan ini.
3. Dr Latiyani Djamil, Sp.PK(K), Kepala Instalasi Patologi Klinik RSUP Dr. Kariadi Semarang yang telah membantu dan memberikan fasilitas serta kemudahan selama saya menempuh pendidikan maupun menyelesaikan penelitian hingga terwujudnya karya akhir ini.
4. Dr. MI Tjahjati DM, Sp.PK dan Dr Imam Budiwiyono, Sp.PK, selaku pembimbing yang dengan penuh pengertian dan kesabaran memberikan arahan dan bimbingan hingga akhir pendidikan saya.
5. Dr Sabardiman, SpPK(K), Mantan Ketua Bagian Patologi Klinik FK UNDIP yang telah banyak memberikan bimbingan, pengarahan dan dorongan hingga akhir program pendidikan.

6. Dr. AP Pradana, Sp.PK(K), Selaku dosen luar biasa di Bagian Patologi Klinik yang telah dengan rela hati meluangkan waktu dalam membimbing dan memberikan arahan dalam bidang hematologi hingga akhir pendidikan saya.
7. Dr. Anggoro D.B. Sachro, DTM&H. Sp.A(K), Dekan FK UNDIP, atas kesempatan yang diberikan kepada saya untuk mengikuti pendidikan keahlian di Bagian Patologi Klinik FK UNDIP / RSUP Dr. Kariadi Semarang.
8. Prof. Dr. Soebowo, Sp.PA, Mantan Dekan FK UNDIP, atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada saya selama mengikuti Program Pendidikan Dokter Spesialis I.
9. Dr. H. Gatot Suharto, MARS , Direktur RSUP DR. Kariadi Semarang, atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada saya selama mengikuti Program Pendidikan Dokter Spesialis I Patologi Klinik.
10. Dr. Sulaiman, Sp.A, Mantan Direktur RSUP Dr. Kariadi Semarang, atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada saya selama mengikuti Program Pendidikan Dokter Spesialis I Patologi Klinik.
11. Almarhum Dr. Bambang Sutrisno JS, Sp.PK(K), mantan Ketua Bagian Patologi Klinik FK UNDIP, dengan tidak kenal lelah memberikan semangat dan bimbingan kepada saya .
12. Seluruh Staf Pengajar di bagian Patologi Klinik FK UNDIP yang telah membimbing dan membantu saya dalam menyelesaikan program pendidikan .
13. Segenap Tim Penguji PPDS I Patologi Klinik FK UNDIP yang telah meluangkan waktu dan telah memberikan kesempatan kepada saya untuk mempertahankan karya akhir ini.
14. Dr. Wahyu Rochadi MSc, yang telah membantu dan memberikan petunjuk dalam rancangan penelitian dan pengolahan data hingga terselesaikannya penelitian ini.
15. Dr. Hertanto WS, MS, yang telah memperkenalkan dan membantu saya dalam hal statistik dan pemakaian program SPSS.
16. Semua teman sejawat residen di bagian Patologi Klinik yang telah memberikan bantuan serta kerjasamanya yang baik selama saya menempuh pendidikan.



17. Seluruh rekan-rekan analis yang telah membantu baik selama pendidikan maupun dalam menyelesaikan penelitian hingga akhir pendidikan.
18. Suami saya mas Fatahilah yang telah memberikan ijin kepada saya untuk mengikuti Program Pendidikan Dokter Spesialis I serta putra-putriku tercinta Nurulia, Indra dan Aji yang dengan penuh pengertian ikut memberi dorongan hingga pendidikan saya berakhir.
19. Almarhum Bapak dan Almarhumah Ibu saya yang telah ikut bersusah-payah memberikan bantuan baik moral maupun material dengan tanpa pamrih yang tidak bisa saya hitung lagi hingga akhir hayat beliau.
20. Kakak saya Mas Arisno sekeluarga yang telah dengan tulus memberikan bantuan baik moral maupun material yang tiada terhingga, juga adik saya Chandra yang dengan suka rela ikut bersusah-susah dan tidak sanggup saya hitung pengorbanannya.
21. Adik Teguh yang selama ini dengan tanpa pamrih membantu dalam mengatasi permasalahan putra-putri saya dalam pendidikan maupun kehidupan sehari-hari. Kepada semua pihak disekitar saya yang selama pendidikan saya memberikan bantuan yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu.

Akhirnya dengan menyadari bahwa karya akhir ini bukanlah hal yang sempurna untuk itu saya sangat mengharapkan sumbang saran maupun kritik yang membangun dari para guru serta pembaca lainnya serta tidak lupa saya mohon maaf yang sebesar-besarnya bila selama menempuh pendidikan maupun dalam pergaulan sehari-hari ada hal-hal yang kurang berkenan.

Semoga Allah Swt. selalu melimpahkan berkat dan rahmatNya kepada kita semua.

Amin.

## DAFTAR ISI

	halaman
ABSTRAK .....	i
KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR ISI .....	vi
DAFTAR TABEL .....	viii
DAFTAR GAMBAR .....	ix
DAFTAR LAMPIRAN .....	x
BAB I PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Identifikasi Masalah .....	3
1.3 Rumusan Masalah .....	4
1.4 Tujuan Penelitian.....	4
1.5 Manfaat Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Hemoglobin.....	6
2.1.1 Struktur Hemoglobin.....	6
2.1.2 Sintesis Hemoglobin .....	7
2.1.3 Fungsi Hemoglobin.....	9
2.1.4 Degradasi Hemoglobin.....	12
2.1.5 Derivat Hemoglobin.....	14
2.1.6 Abnormalitas Struktur dan Sintesis Hemoglobin.....	15
2.1.7 Kelainan Kwantitatif Hemoglobin : Anemia dan Polisitemia....	16
2.2. Pemeriksaan Hemoglobin .....	20
2.2.1 Metoda Sianmethemoglobin .....	21
2.2.2 Metoda Lain dalam Penelitian.....	24
2.3. Kertas S&S-903 dan kertas sebagai bahan preparasi sampel.....	26
2.3.1 Kertas Whatman-1.....	26
2.3.2 Kertas S&S-903.....	27

2.4.	Kerangka Teori.....	29
2.5.	Kerangka Konsep .....	29
2.6.	Variabel dan definisi operasional variabel .....	30
2.7.	Hipotesis penelitian .....	31

### BAB III METODE PENELITIAN

3.1.	Rancangan Penelitian .....	32
3.2.	Ruang Lingkup Penelitian .....	32
3.3.	Populasi .....	32
3.4.	Sampel dan jumlah sampel .....	33
3.5.	Bahan dan Materi .....	33
3.6.	Alat / Instrumentasi .....	33
3.7.	Strategi Penelitian .....	34
3.8.	Cara pemeriksaan .....	35
3.9.	Analisis data .....	35

BAB IV	HASIL PENELITIAN .....	37
--------	------------------------	----

BAB V	PEMBAHASAN .....	41
-------	------------------	----

BAB VI	KESIMPULAN.....	44
--------	-----------------	----

BAB VII	SARAN.....	45
---------	------------	----

RINGKASAN .....	xi
-----------------	----

DAFTAR PUSTAKA .....	46
----------------------	----

## Daftar Tabel

	Halaman
1. Tabel 1. Ruang dari penderita .....	37
2. Tabel 2. Umur penderita .....	38
3. Tabel 3. Rerata dan simpang baku .....	38
4. Tabel 4. <i>Paired T-test</i> .....	39

## Daftar gambar

	Halaman
1. Struktur hemoglobin.....	7
2. Sintesis hemoglobin .....	8
3. Oksigenated Hb dan Deoksigenated Hb.....	10
4. Pengaruh 2,3-Bifosfo-D-Gliserat terhadap ikatan Oksigen .....	11
5. Grafik regresi linier S&S-903 terhadap baku emas .....	40
6. Grafik regresi linier Whatman-1 terhadap baku emas.....	40

## **Daftar lampiran**

1. Lampiran 1. Data penelitian
2. Lampiran 2. Grafik
3. Lampiran 3. Analisa data
4. Lampiran 4. dokumentasi

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar belakang masalah.

Pemeriksaan kadar hemoglobin merupakan cara yang banyak dipakai untuk pemeriksaan penyaring terhadap kelainan dalam tubuh manusia . Kelainan dapat berasal dari penyakit darah atau penyakit yang mengenai bagian lain dari tubuh. Gejala atau kelainan yang tampak dari hasil pemeriksaan hemoglobin adalah berkurangnya atau meningkatnya kadar hemoglobin, yaitu adanya anemia atau polisitemia. Dari hal tersebut yang lebih sering terjadi dan menimbulkan berbagai masalah nasional dan perlu mendapat perhatian adalah **anemia**.

Anemia merupakan salah satu sasaran pengentasan masalah gizi kurang disamping KEK ( kekurangan Energi Kronik), GAKY (Gangguan akibat kekurangan Yodium) dan KVA (Kekurangan Vitamin A). Di negara berkembang seperti Indonesia anemia merupakan masalah yang sangat serius dan perlu penanganan khusus terutama pada resiko tinggi yaitu Ibu hamil dan menyusui, anak balita, wanita usia produktif serta golongan usia lanjut, <sup>(1)</sup>. Penurunan prevalensi anemia setiap tahun diharapkan 4,2% . Secara nasional penurunan prevalensi sebesar 4,2 % pertahun dapat dicapai, tetapi dalam survei cepat anemia ternyata belum bisa melaporkan cakupan terhadap seluruh daerah tingkat kabupaten, hal ini sangat penting karena antara kabupaten satu dan lainnya terdapat kondisi yang bervariasi dan tidak bisa dipungkiri bahwa banyak dari

tingkat kabupaten prevalensi anemi masih sangat tinggi bahkan beberapa daerah cenderung terjadi peningkatan .<sup>(1,2)</sup>

Anemia karena kekurangan gizi terbanyak disebabkan oleh defisiensi Fe. Dalam survei cepat anemia, Departemen Kesehatan menganjurkan pemeriksaan penyaring dengan memeriksa kadar hemoglobin atau dengan hematokrit. Kedua cara tersebut merupakan pemeriksaan yang sederhana, dan cukup memadai sebagai pemeriksaan penyaring terutama didaerah yang sulit dijangkau. Dari hasil pemeriksaan kadar hemoglobin, maka hasil pemeriksaan yang kurang dari nilai rujukan yang akan mendapat perhatian. Dengan kadar hemoglobin dalam batas nilai rujukan sebenarnya belum bisa disingkirkan kemungkinan adanya defisiensi Fe namun untuk mendapatkan data secepatnya secara luas dan penanganan yang lebih awal pemeriksaan penyaring ini sangat membantu.<sup>(2)</sup>

Walaupun pemeriksaan hemoglobin merupakan pemeriksaan penyaring dalam survei anemia namun beberapa peneliti melakukan pemeriksaan hemoglobin bersamaan dengan pemeriksaan parameter lain untuk ikut menentukan adanya gangguan terutama yang berkaitan dengan permasalahan gizi ataupun status kesehatan secara umum. Dalam penelitian Adi HS (1996) yang berisi mengenai peranan gizi terhadap keselamatan kerja dan oleh Darwin K dkk (1973) dengan hasil penelitian menyebutkan adanya hubungan antara status gizi terhadap produktifitas kerja , keduanya memakai parameter hemoglobin sebagai salah satu pilihan yang dapat mewakili kondisi gisi secara umum.<sup>(3,4)</sup> Dengan melihat kepentingan diatas pemeriksaan hemoglobin banyak dipilih oleh para peneliti sebagai salah satu parameter pemeriksaan yang sering digunakan.



Panduan Survei Cepat Anemia oleh Departemen Kesehatan menetapkan bahwa pemeriksaan penyaring terhadap hemoglobin memakai metode sianmethemoglobin dan dianjurkan preparasi sampel dengan cara pembuatan bercak darah pada kertas Whatman-1 , dengan tujuan dalam pengiriman maupun penyimpanan sampel akan lebih mudah, murah , aman dan yang terpenting adalah terpenuhinya cakupan skala yang luas semaksimal mungkin. <sup>(2,5)</sup> Preparasi sampel dengan metoda sianmethemoglobin yang lazim dikerjakan selama ini memakai darah vena EDTA , dimana pada saat pengiriman sampel sering terjadi tumpah, pecah sehingga dirasakan tidak efisien dan kurang praktis.

Kertas Whatman-1 merupakan kertas saring yang tipis sehingga pada saat penetesan bercak darah sering melebar tidak beraturan dan sangat menyulitkan pada saat preparasi sampel dimana hal ini merupakan pengalaman penulis selama bekerja di laboratorium. Maka perlu dicari alternatif kertas lain yang lebih baik dan memenuhi syarat dalam preparasi sampel. Dalam penelitian ini dicoba pemakaian kertas S&S-903 sebagai kertas koleksi sampel yang sudah mendapat pengakuan dari *National Committee on Clinical Laboratory Standard*. <sup>(6,7)</sup>

## **1.2. Identifikasi masalah.**

Pengambilan sampel dalam survei cepat anemia merupakan permasalahan yang sangat penting karena .

1.2.1. Tempat pengambilan sampel biasanya berada di daerah yang tidak dekat dengan laboratorium pemeriksaan.

- 1.2.2. Pengiriman sampel berupa cairan memiliki resiko tumpah, bocor, pecah atau rusak.
- 1.2.3. Diperlukan banyak peralatan untuk membawa sampel cairan.
- 1.2.4. Cara pengiriman banyak memakan biaya.
- 1.2.5. Kertas saring Whatman-1 tipis, preparasi tidak mudah.
- 1.2.6. Perlu kertas S&S-903 sebagai alternatif pengganti.

### **1.3. Rumusan masalah.**

- 1.3.1. Apakah preparasi sampel dengan menggunakan bercak darah pada media kertas dapat menggantikan cara preparasi sampel darah EDTA langsung dalam pemeriksaan kadar hemoglobin
- 1.3.2. Metode preparasi sampel manakah yang lebih baik antara sampel bercak darah kertas S&S-903 atau kertas Whatman-1.

### **1.4. Tujuan penelitian.**

- 1.4.1. *Tujuan umum* : Untuk mengetahui adanya perbedaan hasil pemeriksaan kadar hemoglobin dengan preparasi sampel bercak darah pada kertas S&S-903 dan sampel bercak darah pada kertas Whatman-1.
- 1.4.2. *Tujuan khusus* :
  - Menetapkan hasil pemeriksaan hemoglobin sampel darah EDTA langsung sebagai baku emas.
  - Meneliti hasil pemeriksaan hemoglobin sampel bercak darah pada kertas Whatman-1.

- Meneliti hasil pemeriksaan hemoglobin sampel bercak darah pada kertas S&S-903.
- Membandingkan hasil pemeriksaan hemoglobin sampel bercak darah kertas Whatman 1 dengan sampel darah EDTA langsung.
- Membandingkan hasil pemeriksaan hemoglobin sampel bercak darah kertas S&S-903 dengan sampel darah EDTA langsung.
- Membandingkan hasil pemeriksaan hemoglobin sampel bercak darah kertas S&S-903 dan bercak darah kertas Whatman-1.

#### **1.5. Manfaat penelitian.**

Mendapatkan alternatif yang paling baik dalam preparasi sampel memakai cara bercak darah pada pemeriksaan kadar hemoglobin .

## BAB II

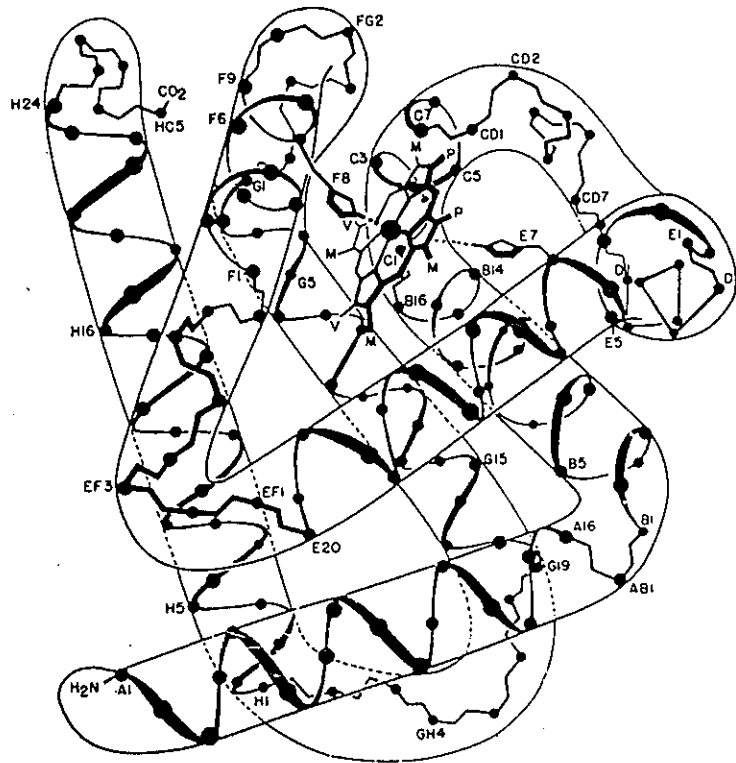
### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Hemoglobin

##### 2.1.1 Struktur hemoglobin

Hemoglobin adalah suatu molekul protein dasar dari eritrosit (*conjugated protein*) yang terdiri atas 4 subunit dan merupakan lapisan tipis dengan berbentuk celah ditengahnya. Masing-masing subunit mengandung gugus hem yang dihubungkan dengan suatu polipeptida, dibagian luar terdapat suatu celah seperti saku yang diisi oleh gugus hem (derivat portoporphirin yang mengandung besi).<sup>(8,9)</sup> Hemoglobin merupakan bagian dari 90% bobot kering eritrosit.<sup>(10)</sup> Dapat juga disebut bahwa hemoglobin merupakan 7,8 sampai 11,2 mmol monomer hemoglobin perliter ( 12,6 sampai 18,4 g/dl) darah.<sup>(11)</sup> Variasi pada masing-masing rantai polipeptida yang melekat pada hem dapat untuk membedakan berbagai jenis hemoglobin : Hemoglobin A1 (Hb A1 ), A2 (Hb A2), F ( Hb F) dalam keadaan normal ditemukan pada kehidupan sesudah lahir.

Pada orang dewasa normal susunan hemoglobin adalah 97% HbA1, 2% Hb A2 dan, 1% Hb F. Hemoglobin fetal merupakan hemoglobin utama pada janin , pada bayi baru lahir terdapat Hb F sekitar 80% dan secara progresif akan berkurang sampai usia delapan bulan, sesudah lahir susunan menjadi sama dengan hemoglobin dewasa.<sup>(12)</sup> Pada saat masih mudigah hemoglobin terdiri dari Gower 1 dengan struktur  $\zeta_2\varepsilon_2$  , Portland dengan struktur  $\zeta_2\gamma_2$  dan Gower 2 dengan struktur  $\alpha_2\varepsilon_2$ .<sup>(13,14)</sup> 50 % – 60% hemoglobin embrio adalah Gower 2.<sup>(8)</sup>



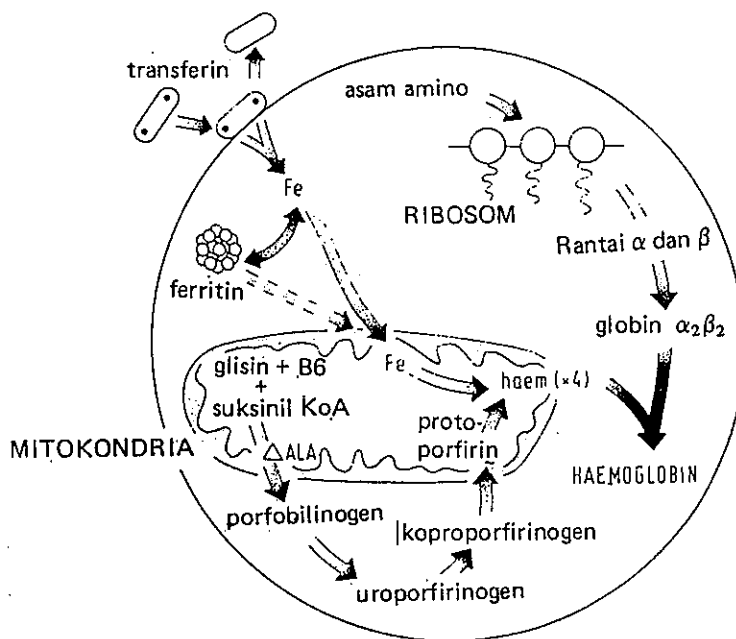
**Gambar 1.** Struktur sub unit hemoglobin. Rantai asam amino didalam spiral atau segmen heliks terikat oleh segmen pendek nonheliks. Segmen heliks di tandai dengan tulisan A sampai H. Gambar disini asam amino di disain segmen heliks dan nonheliks sesuai dengan urutannya. (Sumber: Fairbanks, Klee. 1996. Lehman H, Huntsman RG. 1974)

### 2.1.2. Sintesis hemoglobin

Sintesis hemoglobin dimulai sejak eritrosit dalam bentuk proeritroblas dengan jumlah yang masih sangat sedikit sehingga tidak bisa dideteksi dengan tehnik pewarnaan biasa. Selama perkembangan hemoglobin terus terbentuk sehingga pada saat eritroblas polikromatofil hemoglobin terbentuk cukup yang akan menyebabkan sitoplasma berwarna asidofilik (merah muda), dan apabila

ditambahkan basofilik akan menyebabkan warna menjadi merah muda keabu-abuan pada sitoplasma. (8,10).

Sintesis hemoglobin terjadi banyak dalam mitokondria oleh sederetan reaksi biokimiawi yang dimulai dengan kondensasi glisin dan suksinil koensim-A untuk membentuk asam  $\alpha$ -amino  $\beta$ -keto adipik. Reaksi ini dibawah kendali aksi enzim asam delta amino laevulinik (ALA) sintetase sebagai penghambat kecepatan. Piridoksal fosfat (vitamin B6) adalah koensim untuk reaksi ini yang dirangsang oleh eritropoetin dan dihambat oleh hem.



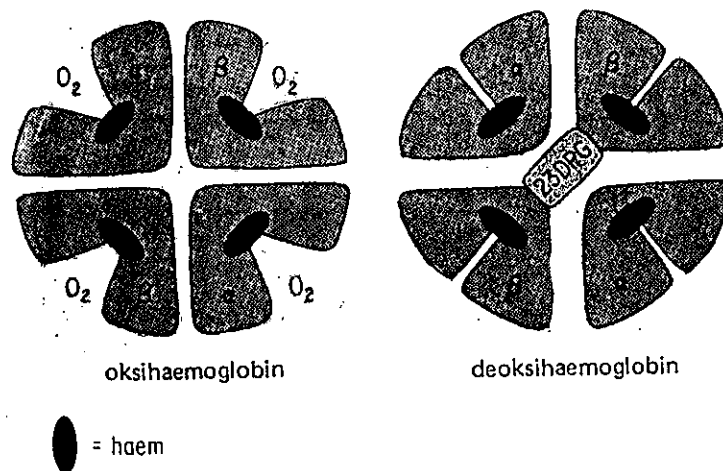
**Gambar 2.** Sintesis hemoglobin dalam sel darah merah yang sedang berkembang. Mitokondria adalah tempat utama sintesis protoporfirin, besi disediakan dari transferin yang beredar dan rantai globin disintesis pada ribosom. (Hoffbrand AV, Petit JE. 1996)

Pada akhir reaksi protoporfirin bergabung dengan besi untuk membentuk hem, masing-masing molekul bergabung dengan rantai globin yang dibuat pada poliribosom, reaksi ini dipengaruhi oleh enzim hem sintetase. <sup>(14)</sup> Kemudian tetramer empat rantai globin dengan masing-masing gugus hemnya sendiri terbentuk dalam kantong untuk membangun molekul hemoglobin. <sup>(10)</sup>

Maturasi sel eritroid didalam sumsum tulang pada saat diferensiasi memerlukan besi dalam jumlah besar, ini sangat dibutuhkan dalam proses sintesis hemoglobin. Besi didapatkan dari proses pinositosis oleh sel retikuloendotelial dan terbesar diambil dari transferin plasma . <sup>(14)</sup>

### **1.1.3. Fungsi hemoglobin**

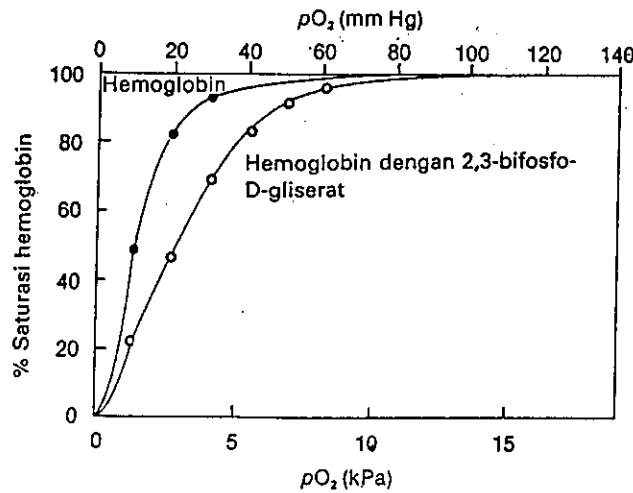
Fungsi utama dari hemoglobin adalah mensuplai organ dengan oksigen yang digunakan untuk metabolisme jaringan dan mengangkut karbondioksida (CO<sub>2</sub>), suatu gas yang ditranspor dalam bentuk larutan dalam plasma untuk dikeluarkan dari paru-paru . <sup>(10,12,15)</sup> Kemampuan hemoglobin untuk mengangkut oksigen dan membentuk oksihemoglobin merupakan ciri khas dari hemoglobin. Penggabungan ini berlangsung dengan meningkatkan tekanan oksigen. Pengaruh CO<sub>2</sub> terhadap penggabungan oksigen dengan hemoglobin ( efek Bhor) disebabkan oleh perubahan pH pada medium di sekitar sel darah merah. Gabungan oksigen dengan hemoglobin hanya oleh pengaruh tekanan oksigen yang rendah terhadap oksihemoglobin. Pada tekanan oksigen 100 mmHg atau lebih , hemoglobin 100% jenuh, dan kira-kira 1,34 ml oksigen terikat dengan tiap-tiap gr hemoglobin. <sup>(10,15,16)</sup>



**Gambar 3.** Molekul hemoglobin yang mengandung oksigen (*oksigenated*) dan tidak mengandung oksigen (*deoksigenated*). 2,3 DPG= 2,3 difosfogliserat.  $\alpha$  g = rantai globin dari hemoglobin dewasa normal. (Hb A). (Sumber: Hoffbrand AV, Petit JE. 1996)

Senyawa penting yang berpengaruh pada pengangkutan oksigen oleh hemoglobin adalah asam 2,3-difosfogliserat (DPG). Pengaruh terhadap pengangkutan oksigen oleh hemoglobin sama dengan pengaruh  $\text{CO}_2$  <sup>(15)</sup>. Ketika molekul hemoglobin memuat dan melepas  $\text{O}_2$ , masing-masing rantai globin mendorong satu sama lain. Ketika oksigen dilepas, rantai-rantai  $\beta$  terpisah, yang akan memudahkan masuknya metabolit 2,3 difosfogliserat (2,3-DPG) dan mengakibatkan afinitas molekul untuk  $\text{O}_2$  merendah. <sup>(12)</sup>. Hemoglobin teroksigenasi mempunyai afinitas yang rendah untuk 2,3-DPG. Terjadinya reoksigenasi dilukiskan sebagai proses yang berlangsung perlahan-lahan. <sup>(15)</sup>.





**Gambar 4.** Pengaruh 2,3-bifosfo-D-gliserat pada pengikatan oksigen oleh hemoglobin. (Sumber: Montgomery R, Dryer RL. 1993)

Efek 2,3-DPG dalam mengurangi afinitas hemoglobin terhadap oksigen dipengaruhi oleh beberapa variabel. Misalnya ada pengurangan pengikatan 2,3-DPG pada hemoglobin fetal (Hb F) dibandingkan dengan hemoglobin dewasa normal (Hb A). Beberapa kelainan hereditas pada glikolisis sel darah merah mempengaruhi konsentrasi 2,3-DPG sel darah merah, seperti pada defisiensi heksokinase ( konsentrasi 2,3-DPG turun sampai dua pertiga dari normal) , dan defisiensi piruvat kinase ( konsentrasi 2,3-DPG dua kali lebih besar dari normal). Akibatnya afinitas hemoglobin terhadap oksigen lebih besar dari normal pada defisiensi heksokinase dan kurang dari normal pada defisiensi piruvat kinase. <sup>(15)</sup>

Sel darah merah memiliki sifat yang sangat lentur dan bentuk bikonkaf untuk mengantarkan hemoglobin sampai ke jaringan. Sel darah merah memiliki diameter 8  $\mu\text{m}$ , harus sanggup melewati secara berulang-ulang mikrosirkulasi yang diameter minimumnya 3,5  $\mu\text{m}$ , dan untuk menjaga hemoglobin dalam

keadaan tereduksi dan untuk mempertahankan keseimbangan osmotik walaupun terdapat konsentrasi protein (hemoglobin) tinggi didalam sel.<sup>(15)</sup>

#### **1.1.4. Degradasi hemoglobin.**

Dalam keadaan normal degradasi hemoglobin dilakukan oleh sel fagosit dari sel retikuloendotelial. Pada eritrosit yang telah tua akan terjadi penurunan ATP bersamaan dengan penurunan enzim-enzim untuk metabolisme sehingga fungsi akan mengalami penurunan dan eritrosit akan menjadi mudah rusak.<sup>(17,18)</sup> Destruksi sel darah merah ekstravaskuler dimulai dari proses fagosit terhadap sel tua kemudian cincin hemoglobin membuka dan membentuk verdohemoglobin dan yang terakhir membongkar besi dan protein dari rantai tetrapirrol.<sup>(9)</sup> Rantai tetrapirrol akan termetabolisir menjadi bilirubin sambil melepaskan karbon monooksida.<sup>(9,17,19)</sup> Besi akan terikat dengan transferin dan dibawa ke sumsum tulang dipakai kembali dalam pembentukan hemoglobin dan protein terpecah-pecah menjadi asam amino kemudian masuk ke pool asam amino.

Bilirubin bebas bersifat tidak larut dalam air, dengan demikian bilirubin akan melekat pada albumin dan diangkut ke dalam hati. Di dalam hati ikatan bilirubin-albumin ini akan dirubah menjadi glukoronid yang larut dalam air dan akhirnya akan diekskresikan. Hati yang sehat akan mampu menangani produksi bilirubin yang lebih banyak dari normal, dan akan sanggup menangani produksi bilirubin yang sangat berlebihan dalam keadaan hemolitik<sup>(19)</sup>. Pada batas lebih dari maksimal kemampuan dalam memproduksi glukoronid hepar tidak akan

mampu lagi untuk menampung dan bilirubin akan tumpah ke dalam darah sehingga kadar dalam darah akan naik.

Kerusakan eritrosit dalam batas moderat tidak akan menyebabkan kenaikan kadar bilirubin di dalam darah, namun bila kerusakan eritrosit terjadi pada umur hidup eritrosit < 50 hari maka kadar bilirubin dalam darah akan meningkat.<sup>(17)</sup> . Meningkatnya konsentrasi bilirubin darah dalam menegakkan diagnosis hemolitik hanya berarti bila fungsi hati secara keseluruhan dalam batas normal.

Bilirubin tidak dikatabolisir di dalam darah tapi akan diekskresikan lewat feses dan dirubah oleh bakteri dalam usus menjadi urobilinogen. Dalam kondisi normal orang dewasa eritrosit hancur 10%- 20%, dan akan membentuk urobilinogen 200 mg.<sup>(18,19)</sup> Sejumlah tertentu urobilinogen selalu direabsorpsi dalam usus dan diekskresikan lewat urin.

Apabila terjadi hemolisis intravaskuler misalnya pada hemolisis mekanik atau paroksismal nokturnal hemoglobinuri hemoglobin terlepas dalam plasma dan akan terikat dengan protein plasma haptoglobin. Ikatan kompleks hemoglobin-haptoglobin cepat dirusak dan disingkirkan oleh sel-sel fagosit mononuklear dan sel parenkim hati, sehingga pada hemolisis intravaskuler konsentrasi haptoglobin dalam plasma cepat menurun sampai habis.<sup>(9,18,19)</sup> Haptoglobin kembali normal setelah 2-3 hari sesudah tidak terjadi hemolisis.<sup>(9)</sup>

Bila jumlah hemoglobin yang dilepas selama proses hemolisis intravaskuler melebihi kemampuan haptoglobin terhadap hemoglobin, maka hemoglobin yang bebas ini beredar dalam plasma (hemoglobinemia).<sup>(19)</sup> Hem

dilepaskan dari hemoglobin dan secara cepat dioksidasi menjadi hematin. Hem yang telah teroksidasi pada awalnya akan diikat oleh protein khusus dalam plasma, protein ini disebut hemopeksin. Ikatan kompleks hemopeksin ini selanjutnya dibersihkan oleh sel hepatosit. Setelah molekul-molekul hemopeksin mengalami saturasi, maka hematin diikat oleh albumin membentuk methemalbumin yang bisa dideteksi dengan tes Schumm. Hemoglobin bebas mengalami disosiasi. Hasil disosiasi hemoglobin ini bebas melewati glomerulus sehingga menimbulkan hemoglobinuria dan memberi warna merah sampai coklat, hemoglobin di urin dideteksi dengan tes *occultblood*.<sup>(9,17)</sup> Bila didalam serum terdapat hemoglobin > 150 mg/dl, maka diurin baru terdeteksi adanya hemoglobin dan bila jumlahnya melebihi 200 mg/dl maka serum berwarna merah buah *cherri*.<sup>(20)</sup> Sebagian hasil disosiasi hemoglobin tersebut juga mengalami penangkapan oleh sel tubulus renalis dan didepositkan diantara sel tubulus renalis sebagai hemosiderin. Konsentrasi hemosiderin ini bisa dideteksi dalam bentuk pintalan dalam urin baik di dalam sel tubuler atau ekstraseluler dengan menggunakan reaksi asam ferrosianid dari *Perl*.<sup>(21)</sup>

#### **1.1.6. Derivat hemoglobin.**

Beberapa derivat dari hemoglobin adalah : **Deoksihemoglobin** (hemoglobin tanpa muatan oksigen) dan **oksihemoglobin** (hemoglobin dengan muatan oksigen) keduanya merupakan pigmen hemoglobin normal. Pigmen tidak normal adalah, **asam methemoglobin, alkali methemoglobin, sianomethemoglobin**, merupakan tipe hemoglobin dengan muatan ion ferro

teroksidasi menjadi ferri dan tidak mampu membawa ion oksigen karena ada ikatan dengan radikal hidroksi, methemoglobin ini reversibel dan kondisi masih normal bila di dalam darah  $\pm 2\%$ . **Hemikrom, karboksihemoglobin** dibentuk dari kombinasi hemoglobin dengan karbonmonooksida, molekul hemoglobin memiliki afinitas lebih tinggi dengan karbonmonooksida dibanding dengan okosigen. Bentuk hemoglobin ini reversibel dan dijumpai pada perokok dengan konsentrasi antara 2% sampai 10%. **Sulfmethemoglobin**, derivat hemoglobin ini tidak normal bila terdapat didalam darah bersifat ireversibel dan tetap tinggal didalam sel darah merah sampai sel darah merah rusak. Penyebab yang pasti belum diketahui tapi dapat ditemukan pada penderita yang memakan obat atau karena reaksi kimia, misalnya obat yang mengandung sulfonamide, amino aromatis. Hemoglobin ini tidak mampu mengikat oksigen. <sup>(8,21)</sup>.

#### **1.1.7. Abnormalitas Struktur dan Sintesis Hemoglobin.**

Dua rantai  $\alpha$  dan dua rantai non  $\alpha$  pada hemoglobin fetus atau postnatal bergabung menjadi satu membentuk molekul globuler. Setiap rantai globin bergabung dengan satu kelompok hem yang mempunyai kemampuan reversibel dalam mengikat oksigen. <sup>(18)</sup>

Kelainan hemoglobin yang bersifat diturunkan dapat dibagi dalam dua kategori:

**1.1.7.1. Hemoglobinopati :** Varian struktur hemoglobin terjadi apabila terdapat perubahan pada urutan asam amino dari sebuah rantai globin tanpa mengalami kelainan dalam sintesis dari rantai yang abnormal tersebut.

**1.1.7.2. Sindroma talasemia :** Terjadi penekanan dalam produksi salah satu rantai globin. Pada keadaan ini urutan dari asam amino dalam rantai globin biasanya normal. Tetapi dalam film darah tepi dari seorang penderita talasemia mungkin menggambarkan adanya struktur rantai globin yang abnormal dimana rantai abnormal ini disintesis dalam jumlah yang kurang. <sup>(17)</sup>

### **1.1.8. Kelainan kuantitatif hemoglobin : Anemia dan polisitemia**

**1.1.8.1. Anemia** adalah turunnya kadar hemoglobin dibawah nilai rujukan. Anemia disebabkan oleh penurunan kecepatan produksi, kehilangan atau destruksi sel darah merah yang meningkat. Ini dapat terjadi pada perdarahan akut , kronik atau dapat ditimbulkan oleh faktor toksik ( racun atau infeksi ) yang menyebabkan hemolisis atau peningkatan destruksi eritrosit.

Harga rata-rata kadar hemoglobin adalah 17,0 g/dl pada saat lahir dan meningkat menjadi 19,0 g/dl setelah 24 jam. Kadar hemoglobin anak berusia 6 bulan sampai 6 tahun cenderung lebih rendah dibanding orang dewasa. Pada laki-laki dewasa memiliki kadar hemoglobin lebih tinggi dari pada wanita karena terdapatnya hormon androgen lebih banyak pada laki-laki., dan kadar ini mulai akan menurun pada usia 70 tahun. Kadar hemoglobin dapat meningkat pada penduduk yang bermukim di dataran tinggi. Pada kehamilan normal kadar

hemoglobin menurun dan akan mencapai titik terendah pada usia kehamilan 32 minggu. Rata-rata kadar hemoglobin menurun antara 1,5-2 g/dl. Hemoglobin ini menurun walaupun terdapat kenaikan massa eritrosit sebesar 300 ml karena terdapatnya peningkatan plasma sebanyak lebih kurang 1 liter. <sup>(19)</sup>

Pada individu yang sehat terdapat korelasi yang kuat antara hemoglobin, hitung eritrosit dan hematokrit. Harga normal hitung jumlah eritrosit pada laki-laki dan wanita dewasa adalah  $4,4-5,8 \times 10^{12}$  /liter dan  $4,1-5,2 \times 10^{12}$  /liter, nilai hematokrit pada laki-laki dan wanita dewasa adalah 0,40-0,51 dan 0,36-0,46.

Nilai batas ambang (*cut off point*) untuk menentukan anemia ( yang disetujui untuk masyarakat yang menjadi obyek perbaikan gizi) di Indonesia adalah :

Anak kurang 5 tahun	: 11 g/dl
Anak usia sekolah	: 12 g/dl
Wanita usia subur	: 12 g/dl
Wanita hamil dan < 3 bulan post partum	: 11 g/dl
Ibu menyusui > 3 bulan	: 12 g/dl
<hr/>	
Laki-laki dewasa	: 13 g/dl

Sumber : 1. *National anemia meeting 1983*

2. *Circular letter of the minister of health no 36 w/1989.* <sup>(23)</sup>

Tanda dan gejala pada penderita anemia adalah: **a. Penurunan suplai oksigen** : mudah lelah, pusing, sakit kepala, nyeri angina, sesak nafas dan lain-lain. **b. Penurunan massa sel darah merah** : pucat, hipotensi ortostatik, udem dan lain-lain. **c. Peningkatan curah jantung** : takikardi, bising jantung fungsional, Bising vena dan lain-lain. <sup>(23,24)</sup>

Pemeriksaan laboratorium lain setelah pemeriksaan Hb dalam menegakkan diagnosis anemia sangat penting, karena dengan mengetahui penyebabnya penanganan anemia dapat lebih tuntas. Selama ini anemia yang paling banyak dijumpai adalah anemia kekurangan zat besi, kemudian diikuti karena perdarahan akut, infeksi, sintesis DNA, hemolitik dan penyebab lain. Kekurangan zat besi dapat disebabkan karena kurang gizi, gangguan absorpsi atau kebutuhan besi yang meningkat. Dapat pula disini disebabkan karena rendahnya transferin dalam darah sehingga eritrosit berinti tidak berhasil mengikat besi dimana diketahui bahwa eritrosit ini hanya memiliki reseptor transferin dan bukan reseptor Fe. <sup>(25)</sup>

Dari penelitian yang dikerjakan oleh Savitri Sayogo (1995) terhadap masyarakat di daerah Utankayu Jakarta ternyata anemia non defisiensi Fe jumlahnya sudah mendekati anemia defisiensi Fe, sehingga diambil kesimpulan perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui apa penyebab anemia non defisiensi Fe tersebut, bahkan dianjurkan pula terhadap *thalasemia trait*. <sup>(26)</sup> Harapan yang sebenarnya sangat diinginkan adalah penuntasan pemeriksaan baik fisik maupun laboratoris terhadap penyebab anemia dan tindak lanjut dalam pengobatan anemia secara berkesinambungan, sehingga keberhasilan dalam program pengentasan masalah gizi menjadi maksimal.

**1.1.8.2. Polisitemia atau eritrositosis** adalah keadaan dimana *Packed cel volume (PCV)* / hematokrit secara berulang lebih dari 0,52 pada pria dewasa dan 0,47 pada wanita dewasa dari sampel darah tepi yang diambil tanpa disertai adanya penyumbatan pada sistim venanya. Peningkatan PCV ini setingkat dengan kadar



hemoglobin dan jumlah hitung eritrosit. <sup>(12,17)</sup> Polisitemia dapat terjadi sebagai akibat dari meningkatnya volume eritrosit total yang beredar dalam darah (polisitemia murni) atau terjadi karena menurunnya volume plasma total (polisitemia relatif). Untuk menentukan keadaan tersebut maka diperlukan pemeriksaan volume eritrosit total dengan menggunakan eritrosit berlabel <sup>51</sup>Cr atau <sup>99m</sup>Tc dan mengukur volume plasma dengan <sup>125</sup>I-albumin. Seorang penderita dinyatakan menderita polisitemia murni bila volume eritrosit total melebihi harga yang dihitung diatas lebih dari 25% pada pria atau 30% pada wanita.

Penyebab polisitemia murni yaitu polisitemia rubra vera, ini disebabkan karena peningkatan jumlah eritropoitin. Hal ini dapat disebabkan karena adanya tumor daerah penghasil atau keadaan hipoksia sehingga menyebabkan sekresi eritropoitin meningkat.<sup>(17)</sup>

Polisitemia relatif kronik ( stres polisitemia ) adalah suatu keadaan yang tidak diketahui etiologinya , biasanya dijumpai pada usia pertengahan , individu gemuk yang cenderung untuk bersikap gelisah. Individu yang terkena gejala ini biasanya disertai dengan hipertensi. <sup>(17)</sup>

Penderita dengan polisitemia memiliki gejala hiperviskositas, sehingga sering terjadi penyumbatan pembuluh darah terutama pada Polisitemia rubra vera.

Penanganan yang sering dilakukan pada penderita polisitemia rubra vera ini adalah dengan melakukan venaseksi, dengan tindakan ini maka akan dapat mengurangi tanda dan gejala dari hiperviskositas maupun mengurangi resiko terjadinya insufisiensi arteri koronaria atau cerebrosipinal. Namun penanganan ini tidak banyak memberi bermanfaat bagi penanganan polisitemia relatif.

## 2.2. Cara Pemeriksaan Hemoglobin.

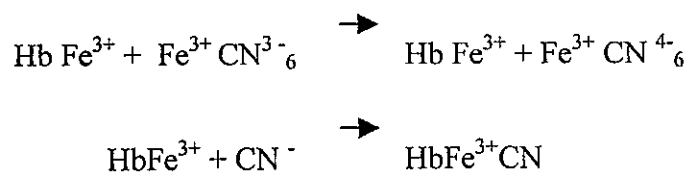
Pemeriksaan kadar hemoglobin bisa menggunakan berbagai macam cara, dapat dengan pemeriksaan terhadap warnanya, terhadap kandungan oksigen atau karbonmonooksida dapat juga dengan kandungan besinya, sedang alat yang dipakai pada pemeriksaan bisa dengan cara sederhana sampai memakai alat otomatisasi. Kandungan oksigen dalam hemoglobin dapat menjadi perkiraan apabila tiap 1,34 ml O<sub>2</sub> per 1 gr Hb, namun cara ini sangat sulit lagi pula kadarnya bisa menjadi 2% lebih rendah dari metoda yang lain. Pemeriksaan terhadap kandungan besi merupakan cara yang sangat diinginkan, kandungan besi dalam hemoglobin merupakan cara yang paling tepat tetapi metoda ini bukan merupakan pemeriksaan rutin didalam praktek sehari-hari, ada hubungan yang erat antara keduanya yaitu setiap 0,347 gr besi = 100 gr Hb. <sup>(16)</sup>

Sampai saat ini alat yang digunakan dalam pemeriksaan yang masih sering dipakai adalah dengan memakai Spektrofotometer. Ada berberapa metoda pemeriksaan dengan menggunakan alat ini, yaitu metode sianmethemoglobin, metode oksihemoglobin, metode alkalin-hematin. <sup>(9)</sup> Metoda pemeriksaan yang sampai sekarang masih digunakan secara luas adalah metode sianmethemoglobin, oleh sebab itu metode ini sangat disarankan oleh WHO terutama pada pemeriksaan penyaring anemia diberbagai tempat diseluruh dunia. <sup>(24)</sup>

### 2.2.1. Pemeriksaan hemoglobin metode sianmethemoglobin

**Prinsip pemeriksaan** dasar dari metode sianmethemoglobin adalah menambahkan zat pengoksidasi untuk membentuk methemoglobin. Zat pengoksidasi secara umum dapat berupa ozon, kalium permanganat, kalium ferrisianida, klorat, nitrit, nitrobenzen dan lain-lain zat pengoksidasi. Pada senyawa ini besi yang dalam hemoglobin berbentuk ferro ( $Fe^{+2}$ ) dioksidasi menjadi bentuk ferri ( $Fe^{+3}$ ) ( dalam bentuk ini hemoglobin tidak dapat mengangkut oksigen). <sup>(15)</sup> Pada metoda sianmethemoglobin digunakan pengoksidasi kalium sianida dan kalium ferrisianida yang juga dipakai sebagai pengencer. Hemoglobin, methemoglobin atau Hb CO ( Tanpa sulf Hb) akan menjadi HiCN.

**Reaksi** sebagai berikut :



Cairan sebagai absorben ini kemudian diukur dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 540 nm atau dengan filter fotometer . <sup>(17)</sup>

**Reagen** adalah cairan Drabkin's sianida-ferisianida. Reagen Drabkin's asli memiliki pH 8,6, kemudian dimodifikasi dengan merubah menjadi pH 9,6, disini akan menghilangkan kekeruhan karena proses presipitasi dari protein plasma. Reagen ini berisi Kalium ferisianida 200 mg, kalium sianida 50 mg dan ditambahkan air sebanyak 1 liter. Ternyata dengan cairan ini proses pelarutan Hb

sempurna memakan waktu 15 menit. Kemudian dengan modifikasi yang direkomendasikan oleh *International Committee of Standardization in Hematology*, waktu pelarutan Hb menjadi 3-5 menit, reagen ini berisi:

- kalium ferisianida                      200 mg
- kalium sianida                              50 mg
- kalium dihidrogenfosfat              140 mg
- nonionik detergen                         1 ml
- air sampai                                    1 L

Larutan ini dengan pH 7,0-7,4, warna kuning jernih. Bila memakai air sebagai blangko pada filter kolorimeter panjang gelombang yang digunakan adalah 540 nm dengan absorben adalah nol. Penyimpanan cairan ini pada suhu kamar dengan botol gelas coklat borosilikat dapat sampai beberapa bulan, cairan tidak bisa digunakan bila telah keruh atau bila pH berada diluar nilai 7,0-7,4. <sup>(16)</sup>

**Persiapan untuk pengambilan sampel** dalam pemeriksaan hemoglobin perlu diperhatikan persiapan umum dalam pemeriksaan darah rutin, penderita diminta puasa 10-12 jam (kecuali kalau pemeriksaan darurat). Saat pengambilan sampel yang perlu diperhatikan, yaitu : Adanya faktor diurnal yang mempengaruhi kadar hemoglobin (pagi hari lebih tinggi dari pada sore hari > 1 gr%). <sup>(27)</sup> Posisi berdiri kadar akan lebih tinggi sedikit dari pada berbaring. <sup>(28)</sup>

**Sampel** sebaiknya dipakai darah vena karena darah ini lebih mendekati keadaan yang sebenarnya dari pada memakai darah kapiler dimana harga untuk darah kapiler akan lebih rendah dengan perbedaan 0,5-1,0 gr%. Pemakaian darah kapiler ini akan tampak kesalahannya apabila dipakai untuk monitoring terapi dengan besi, sehingga ini perlu diperhatikan, namun seandainya pengambilan

dilakukan dengan cermat darah kapiler akan memberi hasil yang dapat diterima.

(2) Sampel darah dari tumit bayi baru lahir kadar hemoglobin akan lebih tinggi bila dibandingkan dengan sampel dari darah vena, Pengambilan sampel pada tumit dapat digunakan alat *Tenderfolt* dengan alat ini akan dibuat luka dengan dalam 1 mm dan lebar 2,5 mm dan darah yang bisa diambil sebanyak 3,5 cc. <sup>(29)</sup> Kapiler pada telinga memiliki kadar hemoglobin lebih tinggi dari kapiler jari. <sup>(27,28)</sup>

**Anti koagulan** dipakai EDTA (*Etylen diamine tetra acetic acid*). EDTA mencegah koagulasi dengan cara mengikat kalsium yang digunakan darah untuk proses pembekuan. EDTA yang umum digunakan adalah dalam bentuk garam kalium dan natrium. Dipotasium EDTA ( $K_2EDTA$ ) sebagai antikoagulan pilihan karena lebih mudah larut dibandingkan dengan natrium EDTA ( $Na_2EDTA$ ). Konsentrasi yang digunakan adalah 1,5 mg EDTA / ml darah. Anti koagulan lain yang bisa dipakai adalah heparin. Sampel dengan antikoagulan ini dapat disimpan untuk 4 hari pada suhu 4 sampai 25 ° C. <sup>(30)</sup>

**Metode pemeriksaan.** 20 µl darah ditambahkan pada 4 ml pelarut dibiarkan beberapa waktu pada suhu kamar sampai reaksi sempurna (3-4 menit), setelah cairan HiCN siap dihitung dengan membandingkan dengan larutan standar dan reagen blangko dalam spektrofotometer dengan panjang gelombang 540 nm atau dengan filter fotometer. Buka ampul HiCN standart (bila disimpan dalam lemari pendingin maka disesuaikan ke suhu kamar dulu) dan dihitung absorban dari larutan dengan spektrofotometer yang sama atau dengan filterfotometer kemudian dibandingkan dengan blangko. Standar hanya bisa

dipakai dalam satu hari dan bila disimpan harus pada botol gelap. Cairan absorben sebagai sampel tes harus diperiksa kurang dari 6 jam sesudah dilarutkan.

### Hitungan

$$\text{Hb (g/l)} = \frac{\text{Abs sampel}}{\text{Abs Standart}} \times \text{Kons. Standart} \times \frac{\text{Faktor pengencer}}{1000}$$

Protein plasma yang abnormal atau jumlah lekosit yang meningkat akan menyebabkan hasil pelarutan dengan reagen Drabkin's menjadi keruh. Kekeruhan dapat dihilangkan dengan sentrifugasi larutan sampel atau dengan cara meningkatkan konsentrasi kalium dihidrogen fosfat menjadi 33 mmol/l (4 g/l).<sup>(10)</sup>

#### 2.2.2. Metoda lain untuk memeriksa kadar hemoglobin dalam skrining anemia.

Banyak metoda yang dapat digunakan dalam rangka pemeriksaan hemoglobin untuk tujuan skrining anemia. Walaupun oleh WHO disarankan dengan metode sianmethemoglobin namun dilapangan metoda pemeriksaan sangat tergantung dengan kondisi setempat.

Oleh Husaini (1997) pernah dlakukan penelitian mengenai penetapan kadar hemoglobin dengan memakai metoda hematokrit yang dibandingkan dengan pemeriksaan dengan metoda sianmethemoglobin. Ternyata dari hasil penelitian disini pemeriksaan dengan hematokrit cukup mendukung dalam tujuan

skrining anemia dilapangan. <sup>(31)</sup> Pemeriksaan dengan metoda hematokrit ini sangat sederhana hanya perlu membawa tabung kapiler dan alat pemusing dan kadar hemoglobin dapat diperkirakan sepertiga dari nilai hematokrit. <sup>(3,31)</sup> Namun perlu dipertimbangkan bahwa tidak selalu nilai hematokrit pada setiap individu adalah sama tiga kali kadar hemoglobin karena banyak faktor yang dapat mempengaruhi, diantaranya adalah morfologi eritrosit ( besar kecilnya dan bentuk). Dengan mengingat hal ini sebaiknya justru pemeriksaan hematokrit dilakukan bersama-sama dengan pemeriksaan kadar hemoglobin sehingga dapat lebih memperkuat diagnosis anemia dan kemungkinan dugaan terhadap morfologinya.

Pemakaian kertas pada survei anemia pernah dikerjakan oleh Van den Broek (WHO, 1999) di daerah Malawi Afrika. Kertas yang digunakan adalah kertas hisap, pemeriksaan disini hanya dengan membandingkan tingkat kekuatan warna dengan skala warna yang ada mulai dari 4,6,8,10,12 dan 14. <sup>(32)</sup> Pemeriksaan disini sangat sederhana dan perlu data klinis dari pemeriksaan konjungtiva palpebra dan lain-lain yang dapat menunjang anemia dan sebaiknya dikerjakan pada daerah dengan prevalensi anemia yang cukup tinggi (50-70%).

Pemeriksaan yang sekarang banyak dilakukan adalah dengan memakai alat HemoCue. Alat ini cukup sederhana dan sangat mudah dibawa maupun dioperasikan karena hanya memakai tenaga baterai . Beberapa peneliti diantaranya adalah Stoltzfus RJ (1997) mengadakan penelitian di daerah Zanzibar. <sup>(33)</sup> Van den Broek dkk (1999 dan 2000) di Malawi. <sup>(32,34)</sup>

membandingkan pemakaian alat ini dengan alat lain, diantaranya automatisasi dan metode sianmethemoglobin dan hasilnya cukup bisa dipertanggungjawabkan..

Sunaryo dkk (1990) pernah menyarankan dalam skrining anemia dapat dipakai metoda Kartu penyaring anemia, pemeriksaan disini sangat sederhana yaitu dengan membandingkan warna mukosa konjungtiva palpebra dengan warna standar. <sup>(35)</sup>

### **2.3. Kertas Whatman 1 dan kertas S&S 903 sebagai bahan untuk preparasi sampel.**

Pemakaian kertas untuk tujuan koleksi sampel sudah sering digunakan, terutama bertujuan untuk mempermudah cara pengiriman bahan pemeriksaan yang jaraknya jauh dari laboratorium rujukan. Sampel dibuat dalam bentuk bercak darah / bercak cairan tubuh lain, bisa dengan ukuran volume cairan yang sudah ditentukan atau dengan cara membuat bentuk bulatan yang sudah tertentu lebar kertasnya. Cara penyimpanan / penyerapan sampel cairan pada kertas adalah dengan mengikuti hukum kapilaritas, sampel akan tersimpan diantara serat-serat kertas ( bisa dari bahan selulose atau bahan kapas). <sup>(36)</sup>

#### **2.3.1. Kertas Whatman 1.**

Kertas Whatman 1 adalah kertas saring yang selama ini diakui sebagai kertas yang dipakai dalam proses pemisahan bahan atau partikel yang nantinya akan menjadi supernatan ( partikel yang tersaring) dan larutan hasil penyaringan . Pemeriksaan dapat dikerjakan pada larutan hasil penyaringan atau supernatannya.



Pemeriksaan disini sifatnya kualitatif atau semi kuantitatif. Kertas Whatman 1 memiliki spesifikasi adalah : dibuat dari bahan selulose murni tanpa penambahan bahan-bahan lain , karena fungsinya sebagai kertas saring, kertas Whatman 1 memiliki rongga-rongga yang berupa pori-pori yang tidak bisa dilewati partikel lebih besar dari 11  $\mu\text{m}$  , kertas ini memiliki ketebalan 0,18 mm dengan berat 87 g/m<sup>2</sup> dan muatan kapasitas dalam kategori normal dengan kemampuan menyaring dengan pengaliran yang sedang sehingga sering digunakan pada laboratorium secara rutin. Ada berbagai ukuran lebar dari kertas dari diameter 2 cm sampai diameter 50 cm, <sup>(5)</sup>

Walaupun kertas ini merupakan kertas saring namun dapat digunakan sebagai kertas sampel, oleh Monarrez B dkk (1999) melakukan penelitian kadar serum feritin di daerah Mexico Utara dengan menggunakan kertas Whatman-1. Pada penelitian ini preparasi sampel berupa serum dibuat bercak pada kertas . <sup>(37)</sup>

### **2.3.2. Kertas S&S-903.**

Kertas S&S-903 merupakan kertas sampel standar untuk pengambilan berbagai sampel cairan tubuh dan kepentingan pengiriman baik pada pemeriksaan klinis yang mendadak maupun tertunda. Kertas S&S-903 merupakan kertas yang terbuat dari serat kapas murni tanpa tambahan zat lain yang dirancang spesifik untuk koleksi maupun pengiriman sampel cairan tubuh misalnya darah, urin, air mata, air ludah dll. Kertas ini strukturnya dapat menghisap secara merata dan akan melepaskan kembali bahan yang terserap secara sempurna. Dalam bentuk bercak kering yang dapat dilarutkan lagi , dengan memakai kertas S&S-903 dapat untuk

mengukur komponen-komponen metabolik berbagai macam zat secara kuantitatif.

Penggunaannya sangat luas dalam pemeriksaan . Bisa digunakan dalam bentuk yang bermacam-macam, misalnya dengan cara sampel diteteskan pada kertas yang dibuat bentuk piringan yang sesuai dengan volume yang tertentu atau piringan sesuai dengan ukuran lebar kertas dibutuhkan.

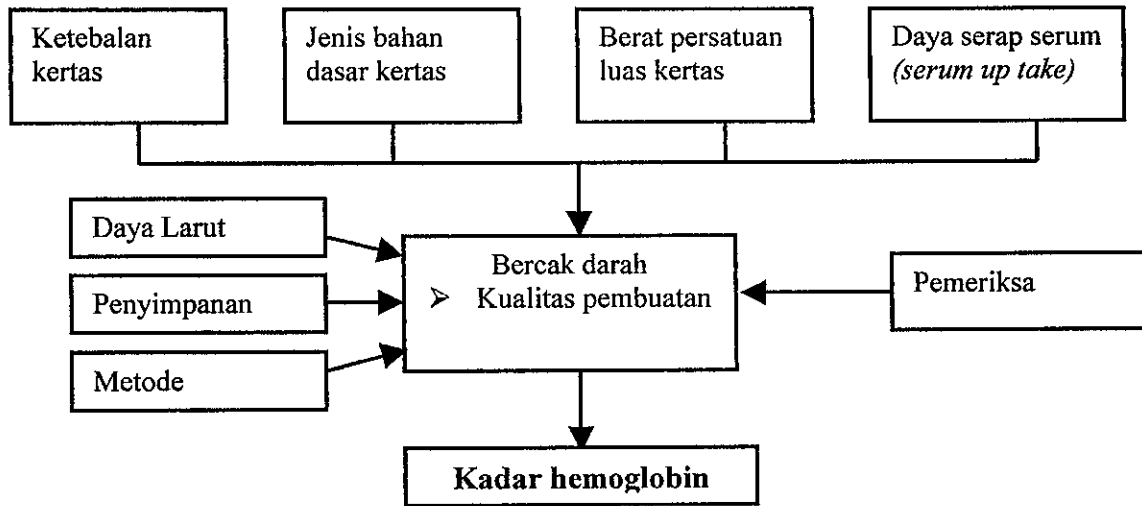
Di negara Amerika Serikat dan Kanada kertas ini sudah dipakai secara luas dalam program rutin skrining bayi untuk mendeteksi Fenilketonuria, juga dapat dipakai dalam pemeriksaan bayi baru lahir yang mengalami kelainan metabolisme seperti galaktosemia, *Branched-chain ketonuri*, Hipotiroid, anemia sel sikel juga dapat digunakan pada program skrining di masyarakat untuk penyakit Measles, tes immunitas rubella, skrining dan lain-lain. Baru-baru ini juga dipakai untuk tehnik skrining dasar DNA dan program deteksi HIV seroprevalensi.

Kertas S&S-903 pertama kali dipakai oleh Dr Robert Guthrie's dalam skrining Phenilketonuri pada tahun 1963 di Amerika Serikat.<sup>(38)</sup>

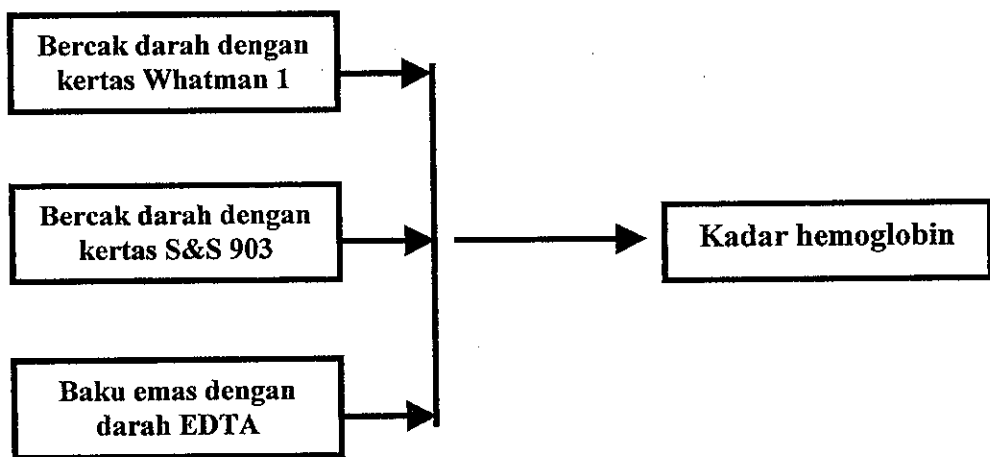
Setelah kering sampel ini sangat stabil baik disimpan pada pendingin maupun tempat khusus. Kertas S&S-903 Sudah distandardisasi oleh *National Committee on Clinical Laboratory Standards (NCCLS) LA4*, terutama dalam pengambilan serum dan kemampuan penyerapan sampel .

S&S-903 memiliki ketebalan 0,50 mm kemampuan dalam menyerap air < 1 (detik/30 $\mu$ l), berat kering 110 (lb/ream) dan *serum uptake* 1,52  $\mu$ l /1/8" lebar potongan.<sup>(6,37)</sup>

## 2.5. Kerangka teori



## 2.6. Kerangka konsep



Variabel bebas ----- Variabel tergantung

## 2.7. Variabel dan Definisi Operasional Variabel.

- 2.7.1. Kadar hemoglobin adalah kuantitas hemoglobin dalam gram/100ml darah yang ditetapkan dengan metode sianmethemoglobin.
- 2.7.2. Metoda sianmethemoglobin metode dalam pemeriksaan kadar hemoglobin dengan prinsip menambah reagen pengoksidan berupa kalium sianida dan kalium ferisianida untuk membentuk sianmethemoglobin dengan alat pengukuran Spektrofotometer memakai panjang gelombang 540 nm. <sup>(17)</sup>
- 2.7.3. Sampel bercak darah adalah sampel yang dibuat dengan cara meneteskan darah dengan volume 20 µl pada kertas ( S&S-903 atau Whatman-1) yang dibiarkan kering pada suhu kamar, kemudian dilakukan elusi / pelarutan dengan reagen Drabkin's (5cc) untuk pemeriksaan hemoglobin.
- 2.7.4. Kertas S&S-903 adalah kertas sampel yang berfungsi sebagai penyimpan sampel darah dalam bentuk bercak kering yang dapat dilarutkannya kembali untuk pemeriksaan hemoglobin. <sup>(7)</sup>
- 2.7.5. Kertas Whatman-1 adalah kertas saring yang fungsinya sebagai pemisah antara supernatan dan hasil saringannya dengan lebar pori  $\pm 11 \mu\text{m}$ . <sup>(6)</sup>
- 2.7.6. Sampel darah EDTA adalah sampel darah vena yang dicampur dengan larutan EDTA sebagai antikoagulan dengan perbandingan 1,5 mg EDTA/1 cc darah.

**2.7. Hipotesis penelitian. (Ho )**

- 2.8.1. Tidak didapatkan perbedaan pada hasil pemeriksaan kadar hemoglobin antara cara preparasi sampel memakai bercak darah dengan kertas S&S-903 dengan cara preparasi sampel darah EDTA langsung
- 2.8.2 Tidak didapatkan perbedaan pada hasil pemeriksaan kadar hemoglobin antara preparasi sampel bercak darah pada kertas Whatman-1 dengan cara preparasi sampel darah EDTA langsung
- 2.8.2. Didapatkan perbedaan yang bermakna dari hasil pemeriksaan kadar hemoglobin dengan cara preparasi sampel bercak darah antara kertas S&S-903 dan kertas Whatman-1.

## **BAB III**

### **METODA PENELITIAN**

#### **3.1. Rancangan penelitian**

Rancangan yang digunakan pada penelitian ini adalah eksplanatori dengan pendekatan belah lintang.

#### **3.2. Ruang lingkup penelitian.**

3.2.1. Ruang lingkup bidang ilmu yang diteliti ialah bidang ilmu Patologi Klinik dengan titik berat pada cabang Hematologi.

3.2.2. Ruang lingkup wilayah penelitian di Instalasi Patologi Klinik RSUP dr Kariadi Semarang.

3.2.3. Lingkup waktu penelitian dikerjakan selama 10 hari ( tgl 9-20 ) pada bulan januari 2001.

#### **3.3. Populasi**

Penderita yang melakukan pemeriksaan darah rutin di laboratorium RSUP dr Kariadi Semarang .

#### **3.4. Sampel dan jumlah sampel**

Pengambilan sampel secara purposif, dengan mengambil darah untuk sampel pada penderita yang datang awal . Kriteria sampel yang diambil adalah

yang memenuhi kriteria inklusi: sampel tidak keruh, tidak ikterik, jumlah lekosit lebih rendah dari 15.000/  $\mu$ l.

Jumlah sampel diambil setiap hari sebanyak 15 dari pasien dengan pemeriksaan darah rutin di laboratorium RSUP dr Kariadi Semarang yang memenuhi kriteria inklusi dari tgl 9 - 20 januari 2001.

### **3.6. Bahan dan materi.**

Bahan berupa darah vena diambil pada pagi hari, darah diambil dari pembuluh darah vena mediana kubiti penderita dengan jarum suntik sebanyak 3 cc yang kemudian dimasukkan pada tabung reaksi yang berisi K2 EDTA dalam bentuk larutan sebanyak 2 tetes yang setara dengan 4,5 mg K2. EDTA.

Kertas S&S-903 diberi kode nomor pemeriksaan dan tanggal pemeriksaan. Kertas Whatman-1 dengan diberi kode nomor pemeriksaan dan tanggal pemeriksaan yang sama dengan pada kertas S&S-903.

Reagen yang digunakan reagen Drabkin's *MPR 3 Hemoglobin ( Roche diagnostics GMBH )* berisi : botol 1 Potasium heksasianoferrat dan botol 2 potasium sianida. Masa berlaku sampai bulan september 2003.

### **3.7. Alat / Instrumentasi**

Alat untuk pengambilan darah vena penderita

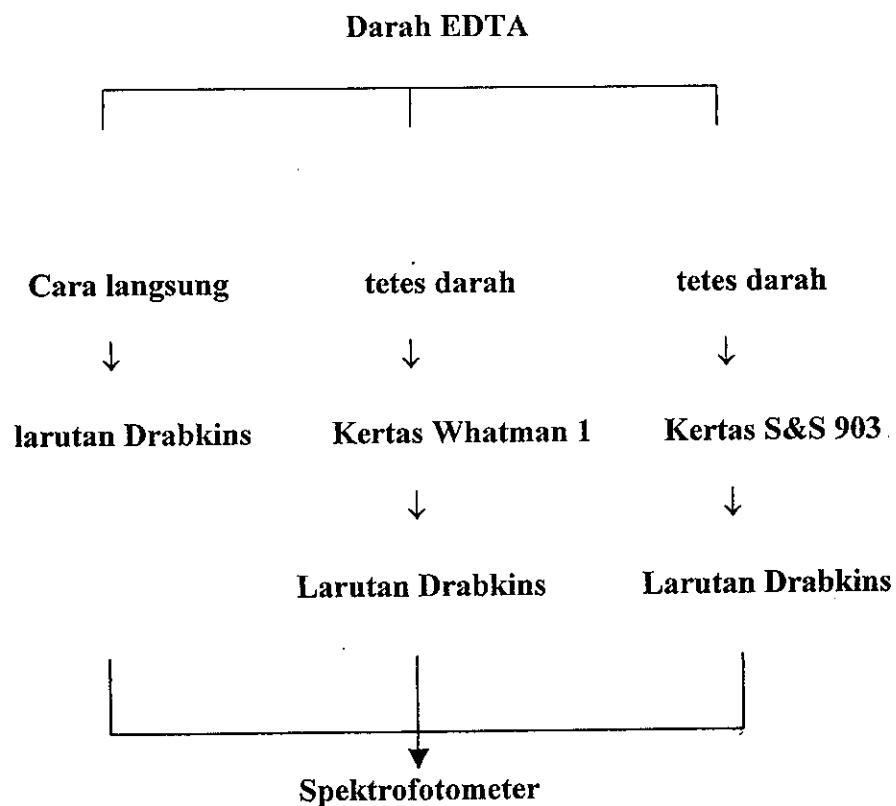
- Spuit 3 cc
- Kapas dan alkohol pembendung yang dapat digunakan dan mudah dilepas.

- Tabung steril yang berisi K2 EDTA 2 tetes dengan kandungan 4,5 mg dengan label nama dan nomor pemeriksaan.

Untuk pengambilan darah sebanyak 20  $\mu$ l dengan memakai pipet otomatis (*eppendorf*), dan untuk memipet larutan Drabkin's memakai pipet 5 cc. Tabung pereaksi dipakai tabung reaksi 10 cc.

Pemeriksaan hemoglobin memakai alat Fotometer 4010 (*Boehringer mannheim diagnostics*), dengan panjang gelombang 546 nm.

### 3.8. Strategi pemeriksaan





### 3.9. Cara pemeriksaan.

Darah vena diambil dari daerah vena mediana kubiti dengan spuit 3 cc. Darah dimasukkan ke tabung berisi EDTA dengan cara dilepas jarumnya dan dialirkan pelan setelah itu digoyang dengan cara di balik-balik untuk mencampur EDTA dengan darah. Pertama untuk pemeriksaan langsung sebagai baku emas dengan metoda sianmethemoglobin, pengenceran dengan larutan Drabkins 250x darah 20 ul dan larutan Drabkin's 5 ml. Dibiarkan 10 menit kemudian dilakukan pembacaan dengan spektrofotometer 4010 pada panjang gelombang ( $\lambda$ ) 546 nm dengan blangko aquades.

Dengan darah yang sama kemudian dibuat bercak darah pada kertas Whatman 1 dan kertas S&S 903 dengan memakai pipet otomatis 20  $\mu$ l, kemudian dibiarkan kering ditempat terbuka (jangan dibawah sinar matahari)  $\pm$  2 jam. Bercak darah dipotong diluar garis batas bercak kemudian dilarutkan pada larutan Drabkin's sesuai dengan baku emas, direndam selama 6 jam sambil sering dikocok sampai bercak darah larut semua. Bila akan dilakukan pembacaan kertas diambil dengan memakai pinset bersih, kemudian

### 3.10. Analisis data.

Data primer yang didapat dientri ke dalam komputer kemudian dilakukan uji statistik diskriptif untuk mendapatkan rerata dan simpang baku. Kemudian dilakukan uji beda *Paired T-test* antara bercak darah S&S-903 dengan baku emas, antara bercak darah Whatman-1 dengan baku emas dan antara bercak darah S&S-903 dengan bercak darah Whatman-1. Untuk mendapatkan faktor konversi pada

bercak darah S&S-903 dan bercak darah Whatman-1 terhadap baku emas maka dilakukan uji regresi linier antara S&S-903 dengan cara baku emas dan Whatman-1 dengan cara baku emas. <sup>(39,40)</sup>

## BAB IV

### HASIL PENELITIAN

Penelitian dilakukan di instalasi Patologi Klinik RSUP dr Kariadi Semarang selama 10 hari pada bulan Januari 2001.

Jumlah sampel didapatkan 150 berupa darah vena EDTA yang dapat memenuhi kriteria penelitian yang sudah ditentukan. Pada 150 sampel tersebut dilakukan pemeriksaan kadar hemoglobin dengan cara preparasi langsung sebagai baku emas dan melalui preparasi bercak darah dengan kertas S&S-903 dan bercak darah dengan kertas Whatman-1.

Sampel yang didapatkan dari penderita laki-laki sebanyak 65 orang ( 43 % ) dan penderita perempuan 85 orang ( 57 % ). Sampel diambil dari hampir seluruh bagian di RSUP dr Kariadi dengan rincian sebagai berikut:

Tabel 1.

	Bagian / ruang	No	Prosentase
1	Penyakit dalam	60	40 %
2	Bedah	31	21 %
3	Kandungan-Kebidanan	16	11 %
4	Anak	16	11 %
5	Syaraf	4	3 %
6	Mata	5	3 %
7	THT	7	5 %
8	Kulit	2	1 %
9	Radiologi	5	3 %
10	TPKP	3	2 %
	Jumlah	150	100 %

Usia penderita mulai dari 0 hari sampai 83 tahun dengan perincian sebagai berikut;

Tabel 2. Usia.

Rentang usia	Jumlah	Prosentase
Neonatus	1	1 %
< 1 tahun	3	2 %
1 – 13 tahun	17	11 %
Wanita 14 – 50 tahun	40	27 %
>50 tahun	38	25 %
Laki-laki > 14 tahun	51	34 %

Dari 150 sampel dengan pemeriksaan cara preparasi darah EDTA langsung sebagai baku emas ditemukan penderita dengan kriteria anemia yang sesuai nilai rujukan sebanyak 75 penderita ( 50%) dan tidak menderita 75 orang (50%).

Dari ketiga macam cara sampling tersebut dilakukan pemeriksaan kadar hemoglobin dan selanjutnya dilakukan uji statistik secara diskriptif maka didapatkan nilai rerata dan simpang baku sebagai berikut :

Tabel 3.

Variabel	Rerata n.: 150	SD	Hasil tinggi	Hasil rendah
Baku emas	12,13	2,3190	18,0	3,8
S&S-903	11,95	2,3077	17,4	3,6
Whatman-1	11,96	2,3255	17,4	3,8

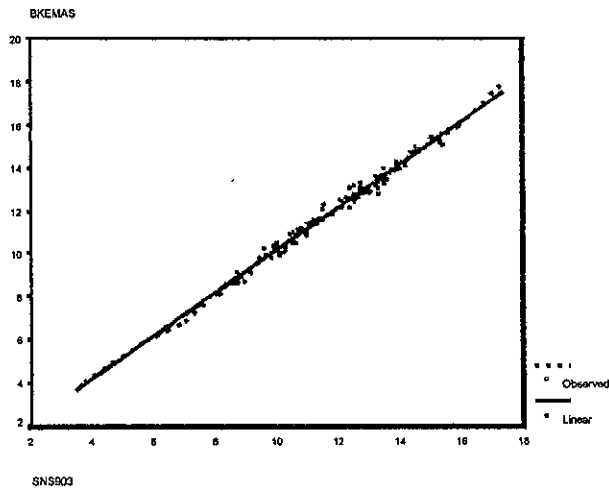
Kemudian dilakukan uji beda dengan *Paired T-test* antara preparasi sampel cara langsung ( baku emas) dengan cara melalui bercak darah kertas S&S-903 didapatkan hasil perbedaan yang bermakna (  $p = 0,000$ ), antara baku emas dengan bercak darah kertas Whatman-1 didapatkan hasil perbedaan bermakna (  $p = 0,000$ ), sedangkan antara bercak darah kertas S&S-903 dengan bercak darah kertas Whatman-1 tidak didapatkan perbedaan pada hasil (  $p = 0,801$  ).

Tabel 4. Uji beda *Paired-t Test*.

Variabel	Rerata (n=150)	Simpang baku (SD )	t =	Kemaknaan p =
Baku emas S&S-903	12,13 11,95	2,32 2,31	8,27	0,000
Baku emas Whatman-1	12,13 11,96	2,32 2,33	7,04	0,000
S&S-903 Whatman-1	11,95 11,96	2,32 2,33	- 0,25	0,801

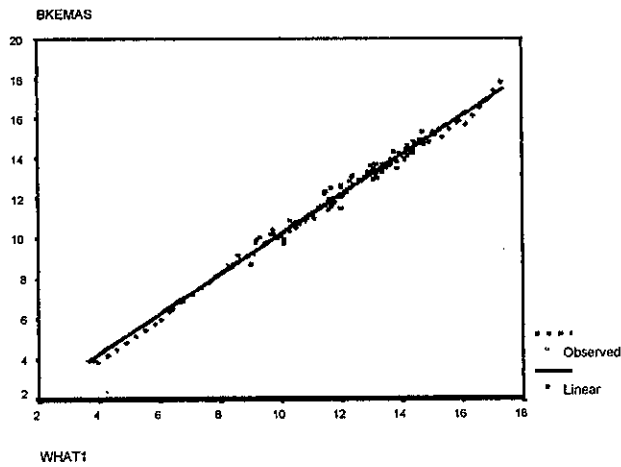
Untuk mencari faktor konversi terhadap baku emas maka dilakukan uji regresi linier terhadap sampel bercak darah kertas S&S-903 dengan hasil,  $y = 0,188 + 0,994x$  ( $y =$  baku emas,  $x =$  S&S-903 )

Gambar 5. Grafik regresi linier antara bercak darah S&S-903 dengan baku emas



Untuk bercak darah kertas Whatman-1 didapatkan hasil,  $y = 0,293 + 0,992x$  (  $y =$  baku emas,  $x =$  Whatman-1 )

Gambar 6. Grafik regresi linier antara bercak darah Whatman-1 terhadap baku emas



## BAB V

### PEMBAHASAN

Pemeriksaan kadar hemoglobin metode sianmethemoglobin dengan preparasi sampel melalui bercak darah menggunakan kertas S&S-903 maupun menggunakan kertas Whatman-1 dibandingkan dengan cara preparasi sampel darah EDTA secara langsung sebagai baku emas terdapat perbedaan secara statistik. Hal ini dapat disebabkan oleh karena pada metode sianmetrhemoglobin sampel darah EDTA langsung digunakan pada pemeriksaan, sedangkan untuk sampel bercak darah dengan kertas S&S-903 dan kertas Whatman-1, pengukuran hemoglobin dilakukan setelah sampel melalui beberapa tahap preparasi mulai dari proses pembuatan bercak, pengeringan bercak dan pelarutan bercak / elusi terlebih dahulu. Dari hasil penelitian didapatkan perbedaan bermakna baik terhadap kertas S&S-903 ( $p = 0,000$ ) dan kertas Whatman-1 ( $p = 0,000$ ) sehingga disini hipotesis ( $h_0$ ) ditolak dan ( $h_1$ ) diterima. Tetapi bila dilihat secara laboratoris bila beda rerata hemoglobin antara sampel darah EDTA (rerata = 12,13) dengan rerata hemoglobin pada sampel dengan kertas S&S-903 (rerata = 11,95) maupun rerata hemoglobin pada sampel dengan kertas Whatman-1 (rerata = 11,96) masih dapat diterima karena toleransi kesalahan pemeriksaan dengan menggunakan metode sianmethemoglobin masih lebih kecil dari 2%.<sup>(41,42)</sup>

Tidak terdapatnya perbedaan yang bermakna antara kertas S&S-903 dan Whatman-1 dengan  $p = 0,801$ , berarti hipotesis ( $h_0$ ) ditolak dan ( $h_1$ ) diterima. Dengan melihat kondisi diatas maka kedua jenis kertas sampel bercak darah

tersebut dapat saling menggantikan, sehingga disini yang perlu dipertimbangkan adalah kemudahan cara preparasi.

Mengingat adanya perbedaan ketebalan kertas ( S&S-903 = 0,50 mm dan Whatman-1 = 0,18 mm ), juga perbedaan dalam fungsi dan bahan dasar yang mana kertas S&S-903 dirancang sebagai kertas untuk sampel dengan bahan dasar dari serat kapas murni sedangkan kertas Whatman-1 dirancang sebagai kertas saring dengan bahan dasar selulosa sehingga daya serap kedua kertas tersebut berbeda. Dengan menggunakan kertas yang tipis (kertas Whatman-1) preparasi sampel akan lebih sulit karena darah akan menyebabkan kertas menjadi sangat basah dan mudah terobek atau bercak yang terbentuk tidak rapi, sehingga disini perlu kehati-hatian dan perhatian khusus. Sedangkan pada penggunaan kertas S&S-903 dimana kertas lebih padat, tebal dan mempunyai daya hisap lebih besar, pembuatan bercak akan lebih mudah dan pada preparasi selanjutnya tidak akan menyulitkan. Dalam pengamatan selama dilakukan penelitian ternyata didapatkan adanya perbedaan waktu pada saat proses elusi atau pelarutannya hal ini dimungkinkan karena adanya perbedaan faktor kepadatan susunan serat kertas yang disesuaikan dengan fungsi dari kertas tersebut. Kertas Whatman-1 sebagai kertas saring justru memiliki serat yang longgar sehingga lebar pori-porinya mampu dilewati partikel dengan besar  $< 11 \mu\text{m}$ . Hal ini menyebabkan pori-pori tersebut masih dapat dilewati eritrosit dengan ukuran  $< 8 \mu\text{m}$  dan dalam preparasi sampel akan dapat menyebabkan darah merembes bahkan sampai menetes. Berbeda dengan kertas S&S-903 dimana justru kertas akan mampu menghisap dan menyimpan sampel diantara serat-serat kertas tersebut. Walaupun terdapat



kelonggaran yang berbeda tapi dalam dalam proses elusi bercak darah akan sama dengan cara mensiasati waktu elusi lebih lama dan melakukan pengoncangan yang lebih sering pada kertas S&S-903.

Untuk mendapatkan faktor konversi dalam penelitian ini dilakukan uji regresi linier dimana didapatkan angka untuk kertas S&S-903,  $y = 0,188 + 0,994x$  dan untuk kertas Whatman-1  $y = 0,293 + 0,992x$ . Bila dipilih pemakaian kertas S&S-903 perlu diperhitungkan waktu pelarutan yang lebih lama dan pengoncangan yang lebih sering dibandingkan bila memakai kertas Whatman-1.

## BAB VI

### KESIMPULAN

Penelitian terhadap kadar hemoglobin dengan metode sianmethemoglobin dengan sampel bercak darah EDTA pada kertas S&S-903 dan kertas Whatman-1 dibandingkan dengan sampel darah EDTA yang diperiksa secara langsung terhadap 150 sampel, didapatkan kesimpulan sebagai berikut :

- 6.1. Terdapat perbedaan yang bermakna pada hasil pemeriksaan kadar hemoglobin pada sampel bercak darah dengan kertas S&S-903 terhadap cara preparasi darah EDTA secara langsung (  $p = 0,000$  )
- 6.2. Terdapat perbedaan yang bermakna pada hasil pemeriksaan kadar hemoglobin pada sampel bercak darah dengan kertas Whatman-1 terhadap cara preparasi darah EDTA secara langsung (  $p = 0,000$  ).
- 6.3. Tidak terdapat perbedaan hasil pemeriksaan kadar hemoglobin dengan sampel bercak darah pada kertas S&S-903 terhadap kadar hemoglobin dengan sampel bercak darah pada kertas Whatman-1 (  $p = 0,801$  ).
- 6.4. Secara laboratoris perbedaan rerata hasil pemeriksaan kadar hemoglobin pada sampel bercak darah S&S-903 (rerata = 11,95 ) terhadap preparasi darah EDTA secara langsung (rerata = 12,13 ) masih bisa ditoleransi karena masih  $< 2\%$ .
- 6.5. Secara laboratoris perbedaan rerata hasil pemeriksaan kadar hemoglobin pada sampel bercak darah kertas Whatman-1 (rerata = 11,96 ) terhadap preparasi darah EDTA secara langsung ( rerata = 12,13 ) masih bisa ditoleransi karena  $< 2\%$ .

## BAB VII

### SARAN

- 7.1. Pemakaian kertas S&S-903 dalam preparasi sampel bercak darah pada pemeriksaan kadar hemoglobin perlu dikoreksi dengan faktor  $y = 0,188 + 0,994x$  ( $y =$  baku emas,  $x =$  S&S-903 ).
- 7.2. Pemakaian kertas Whatman-1 dalam preparasi sampel bercak darah pada pemeriksaan kadar hemoglobin perlu dikoreksi dengan faktor  $y = 0,293 + 0,992x$  ( $y =$  baku emas,  $x =$  Whatman-1 ).
- 7.3. Pemilihan kertas S&S-903 lebih dianjurkan dengan pertimbangan : cara pembuatan bercak darah lebih mudah, cepat dan rapih, sehingga akan mempermudah pula dalam hal persiapan pemeriksaan

## RINGKASAN

Pemeriksaan kadar hemoglobin dalam skrining anemia merupakan pemeriksaan yang paling sering dipakai. Menurut WHO metode yang sudah mendapat rekomendasi adalah metode sianmethemoglobin, karena metode ini sudah sangat dikenal diseluruh dunia. Sampel yang disarankan dengan sampel darah vena EDTA. Karena sampel ini tidak praktis sehingga perlu dipikirkan cara sampel lain. Dengan sampel bercak darah diharapkan dapat mengatasi keadaan ini.

Bercak darah menggunakan kertas saring Whatman-1 disarankan oleh Dep-Kes RI untuk menggantikan darah EDTA. Karena kertas ini tipis dan preparasi tidak mudah maka dalam penelitian ini diupayakan menggunakan kertas sampel S&S-903 untuk mengatasi kekurangan kertas Whatman-1. Kertas S&S-903 memiliki spesifikasi kepadatan, ketebalan dan kemampuan dalam penyerapan lebih baik dari pada kertas Whatman-1.

Tujuan dari penelitian ini adalah membandingkan hasil pemeriksaan kadar hemoglobin antara bercak darah kertas S&S-903 dan kertas Whatman-1 dengan memakai baku emas cara sampel darah EDTA yang diperiksa langsung.

Manfaat yang diharapkan adalah untuk mendapatkan alternatif yang terbaik dalam pemakaian kertas untuk sampel bercak darah antara kertas S&S-903 dan kertas Whatman-1.

Bahan dan cara dalam penelitian ini adalah menggunakan darah vena EDTA sebanyak 150 sampel dari penderita yang melakukan pemeriksaan darah rutin di Laboratorium RSUP dr Kariadi Semarang pada bulan Januari 2001. Cara

pemeriksaan yang digunakan adalah dengan metode sianmethemoglobin dan alat yang digunakan spektrofotometer 4010 dengan  $\lambda$  546 nm, dan reagen yang digunakan adalah larutan Drabkin's. Dalam preparasi volume sampel untuk baku emas maupun untuk pembuatan bercak darah adalah 20  $\mu$ l dan reagen yang digunakan sebanyak 5 ml.

Analisa statistik yang digunakan adalah uji beda dengan *Paired T-test* kemudian untuk mendapat nilai konversi dilakukan uji regresi linier.

Dari membandingkan hasil pemeriksaan kadar hemoglobin memakai sampel bercak darah kertas S&S-903 dan kertas Whatman-1 dengan uji statistik :

- Didapatkan perbedaan bermakna antara bercak darah kertas S&S-903 dengan darah EDTA langsung. ( $p=0,000$ )
- Didapatkan perbedaan bermakna antara bercak darah kertas Whatman-1 dan darah EDTA langsung ( $p = 0,000$ )
- Tidak ada perbedaan hasil pemeriksaan kadar hemoglobin dengan menggunakan bercak darah kertas S&S-903 maupun dengan kertas Whatman-1 ( $p = 0,801$ )
- Untuk pemakaian kertas S&S-903 dedapatkan faktor koreksi ,  $y = 0,188 + 0,994x$  ( $y =$  baku emas dan  $x =$  kertas S&S-903 ).
- Untuk pemakaian kertas Whatman-1 didapatkan faktor koreksi ,  $y = 0,293 + 0,992x$  ( $y=$  baku emas dan  $x=$  kertas Whatman-1 ).

## DAFTAR PUSTAKA

1. *Kodyat A.* Penuntasan masalah gizi kurang. Dalam : Widya karya Nas. Pangan dan gizi (WKNPG) VI. Jakarta : Biro kerjasama IPTEK LIPI, 1998.
2. *DeMaeyer.* Pencegahan dan pengawasan anemia defisiensi besi. WHO ed Bahasa Indonesia, Alih bahasa : Arisman MB. Jakarta : Widya medika, 1993.
3. *Adi HS.* Peranan gizi kerja dan keselamatan kerja disektor pertanian di Jawa Timur dan di Jawa Tengah : sebuah kajian diskriptif. Maj. Kes. Masy. Indon. Tahun XXIV, No 6, 1996: 406-08
4. *Karyadi. D, Tarwojjo I, Basta S.* Gangguan gizi dan kekuatan Jasmani pekerja proyek pembangunan. Laporan Penelitian Gizi makanan. Jakarta; Lembaga gizi dan makanan rakyat, 1973.
5. *Departemen Kesehatan.* Panduan survei cepat kelainan gizi di daerah tingkat II. Jakarta : Dep. Kes. RI. Dir. Jen. Kes.Masy. Direktorat bina gizi Masy, 1995.
6. *Brosur.* Whatman cellulose filter papers. Singapore: Whatman Laboratory product guide,1992.
7. *Brosur.* Schleicher & Schuell 903 Spesimen collection papers. Keene,Schleicher & Schuell.
8. *Talen MJ.* The mature Erithrocyte , in Wintrobe`s clinical Hematology. 9<sup>th</sup>.ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993; 116-27.
9. *Fairbanks VF, Klee GG.* Biochemical aspects of hematologi. In ietz fundamentals of clinical chemistry. 4<sup>th</sup> ed. Philadelphia : WB Saunders company, 1996 ; 709-22
10. *Junqueira LC, Carneiro J.* Basic Histology. 3th ed. Alih bahasa : Adji Dharma. Jakarta :CV EGC, 1980 ; 254-86.
11. *Montgomery R, Dryer RL, Conway TW, Spector AA.* Biochemistry : A case-oriented approach. Terjemahan : Ismadi M. ed 4. Yogyakarta : Gajah Mada University press, 1993 ; 129-41

12. *Hoffbrand AV, Petit JE. Esentiale Haematology. 2<sup>nd</sup> ed. Alih bahasa : Iyan Darmawan. Jakarta: CV EGC, 1996 ; 1-28*
13. *Lehman H, Huntsman RG. An introduction to the structure and function of haemoglobin. Journ. Clin. In haematol. Vol 3,no 2, June 1974 ; 217-23.*
14. *Clegg JB. Haemoglobin Synthesis. Journ. Clin. In haematol. Vol.3, no2 June 1974 ; 225-47.*
15. *Harper Ha, RodwelVW, Mayes PA. Review of Physiologycal Chemistry. 17<sup>th</sup> ed. Alih bahasa Muliawan M. Jakarta: CV EGC,1979 ; 198-227.*
16. *Dacie J, Lewis S. Practical Hematology. 8<sup>th</sup> ed. New York : Churchil Livingstone, 1995 ; 50-8*
17. *Jones HNC, Wickramasinghe SN. Lecture notes on haematoligy. Terjemahan HK Nurtjojo. 5<sup>th</sup> ed. Jakarta: Penerbit buku kedokteran EGC , 1994.*
18. *Deiss A. Destruktion of erytrosites. In Wintrobe's Clinical hematology. 9<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993 ;195 – 222.*
19. *Komatsu N. Proses from production to destruction of erythrocytes and causes of anemia. AMJ, Vol. 42, no. 3. March 1999; 114 – 21.*
20. *Wallach J. Interpretation of diagnostic test. Asynopsis of laboratory medicine. 5<sup>th</sup> ed. USA: Little, Brown and company, 1992.*
21. *Brown BA. Hematology : Principles and procedures. 4<sup>th</sup> ed. Philadelphia : Lea & Febiger, 1984.*
22. *Health services research and development center national institute of health research and development Ministry of health, Republic of Indonesia. Report of the policy workshop on Iron deficiency anemia in Indonesia. Helen Keller International (Indonesia). Juli 1997.*
23. *Urabe A. Establishing Diagnosis of anemia. AMJ, Vol. 42, no. 2. February 1999 ; 51- 61.*
24. *Wirawan R . Diagnosis anemia. Maj. Kedok. Indon. Vol.45, no.12, Desember 1995 ;713 – 21.*
25. *Reksodiputro AH. Mekanisme anemia defisiensi besi. Maj.CDK. No. 95. September 1994*

26. *Sayogo S.* Anemia di Masyarakat. .Maj.Kedok.Indon, volum: 45, no 12. 1995 : 722-23.
27. *De Gruchy GC.* Clinical haematology and medical practice. 3th ed. London ; The English Language book sociaty & Blackwell scientific publication (ELBL), 1976 ; 38-44.
28. *Speicher CE, Smith JW.* Choosing effective Laboratory test. Philadelphia : WB Saunders Company,1983 ; 319-21.
29. *Burns ER.* Development and evaluation of new instrument for safe heelstick sampling of neonates. Journ. Labor. Medic. Juli 1989 ; 481- 3.
30. *Petunjuk kerja Hemoglobin.* Roche diagnostikcs GmbH Mannheim. Germany. September 1999.s
31. *Stoltzfus RJ.* Rethinking anemia survailance. Journ. Lancet (349), 1997 ; 1764-66.
32. *Van den Broek NK, Ntinya C, Mhango E, White SA.* Diagnosing anemia in pregnancy in rural clinics ; Assesing the potensiale of the haemoglobin colour scale. Bulletin of the WHO, 77 (1). WHO, 1999 ; 15-21.
33. *Husaini MA.* Untuk mendeteksi anemia : Apakah sama hasil tes hemoglobin dengan hasil tes hematokrit. Bulet.Penelit. Kes. , 25 (1), 1997 ; 9-17.
34. *Van den broek NR, Rogerson SJ, Mhango CG, Kambala B, White SA, Molyneux ME.* Anemia in pregnancy in Southern Malawi: prevalence and risk faktor. British journ. of Obste.and Gyn, Vol 107, April 2000 ; 445 – 51.
35. *Sunaryo, Atikah, Tri-H, Wikan-t, Lutfi-WM, Upik-M, Yudo-Y.* Kartu penyaringan anemia kehamilan (KPAK). Berita Kes. Masy. VI (4) 1990 ; 294 – 97.



36. *Tipler PA*. Fisika untuk sains dan teknik. Alih bahasa : Lea Prasetio, Rochmad WA. Jakarta : Penerbit erlangga, 1998 ; 400.
37. *Monárrez J, Lönnerdal B, Greiner T*. Assessment of iron deficiency anemia (IDA) in Taruhumara women of northern Mexico using filter paper to quantify serum ferritin. In Study presented at the INACG Symposium (12<sup>th</sup> March, 1999. Durban, South Africa) Uppsala university, 20 July 2000. <http://www.kbh.uu.se/imch/monarrez.html> # obyective.
38. [http:// www.s-und-s. de/pages- NEV- eng/ UB3/ Diagnostic % o Components/ 903. Html.](http://www.s-und-s.de/pages-NEV-eng/UB3/Diagnostic%oComponents/903.html)
39. *Sastroasmoro S, Ismail S*. Dasar-dasar metodologi penelitian klinik. Jakarta : Bagian IKA FK UI, 1995.
40. *Tjokronegoro A, Budi-U, Bintari-R*. Dasar-dasar metodologi riset ilmu kedokteran. Departemen P dan K Konsorsium ilmu Kedokteran, Jakarta : 1981.
41. *Gandasubrata*. Penuntun laboratorium klinik. Dian Rakyat , Jakarta, 1989 ; 11 – 15.
42. *Henry JB*. Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. 7<sup>th</sup> ed. W.B. Saunders Company, Philadephia : 1984 ; 580 – 06.