

Beberapa Metoda Penetapan Kadar Hemoglobin Darah

Sihadi, Suryana Purawisastra
Pusat Penelitian dan Pengembangan Gizi, Bogor

Salah satu di antara beberapa masalah gizi yang dihadapi oleh negara-negara berkembang termasuk Indonesia, adalah anemi gizi. Secara umum prevalensi anemi pada ibu hamil dan anak balita di Indonesia masih tinggi. Angka rata-rata nasional prevalensi anemi gizi besi pada ibu hamil 63,6%, dan pada anak balita 55,1%. Angka prevalensi gizi pada ibu hamil terendah terdapat di Provinsi Sulawesi Tengah sebesar 45,5%, sedangkan tertinggi di Sumatera Utara sebesar 77,9%. Untuk anak balita prevalensi anemi gizi terendah terdapat di Provinsi Sulawesi Utara sebesar 24,2%, sedangkan yang tertinggi di Provinsi Sulawesi Tenggara sebesar 81,4%⁽¹⁾.

Penelitian tentang hubungan anemi dengan prestasi belajar pada anak sekolah di Bogor dan sekitarnya menghasilkan data bahwa anak yang anemi mempunyai kesulitan dalam berpikir terang dan berpikir secara analog. Anak yang anemi menurun kemampuan berkonsentrasi dalam menyelesaikan *coding test*, lebih mudah terganggu konsentrasinya oleh musik disco. Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa hasil ujian Ebtanas kelompok anak yang anemi lebih rendah ($p < 0,05$) dibandingkan hasil anak yang tidak anemi⁽²⁾.

Hasil penelitian Karyadi (1974) di daerah perkebunan karet, Sukabumi, menunjukkan bahwa penyadap karet yang anemi mendapatkan lateks hasil sadapan lebih sedikit daripada yang tidak anemi. Penyadap yang anemi mendapat lateks 18,7% lebih rendah daripada yang tidak anemi⁽³⁾.

Penelitian lain yang dilakukan terhadap para pemetong tebu di sebuah perkebunan tebu di Guatemala, menunjukkan bahwa kemampuan kerja fisik yang dinyatakan dalam skor naik-turun bangku Harvard bervariasi menurut kadar hemoglobin (Hb). Apabila kadar Hb rendah maka skor rendah, dan apabila kadar Hb tinggi maka skor juga tinggi⁽⁴⁾. Gambaran di atas, barulah sebagian kecil; sebenarnya masih banyak hasil penelitian yang mengungkap akibat negatif lain bila seseorang menderita anemi.

Untuk mengetahui apakah seseorang menderita anemi, yang paling tepat biasanya dengan cara menentukan kadar hemoglobin (Hb) dalam darah⁽⁵⁾. Penentuan anemi dengan menggunakan parameter Hb telah digunakan secara umum pada berbagai survei untuk menetapkan prevalensi anemi. Apabila kadar Hb darahnya berada di bawah batasan nilai yang ditetapkan, maka ia menderita anemi gizi.

Batasan nilai kadar Hb untuk menentukan seseorang menderita anemi atau tidak, bagi orang dewasa adalah berbeda dengan anak-anak, dan juga berbeda bagi wanita hamil dan tidak hamil. Karena itu WHO (1972) telah menetapkan batasan nilai kadar Hb yang dianjurkan untuk digunakan sebagai standar internasional, yaitu seperti berikut⁽⁶⁾ :

- Anak prasekolah 11 g %
- Anak sekolah 12 g %
- Laki-laki dewasa 13 g %
- Wanita dewasa 12 g %
- Wanita hamil 11 g %

Metoda untuk menentukan Hb saat ini banyak macamnya, masing-masing mempunyai kelebihan dan kekurangannya. Pemilihan metoda yang tepat tergantung pada keadaan serta fasilitas yang tersedia. Tulisan ini menyajikan secara ringkas cara kerja masing-masing metoda dengan kelemahan dan kelebihan-nya.

1) METODA KERTAS LAKMUS

Metoda ini sangat sederhana, praktis tidak memerlukan pereaksi ataupun peralatan tertentu, karena yang dipergunakan adalah kertas yang disebut kertas lakmus, khusus untuk menentukan kadar Hb. Caranya, setetes darah diteteskan di atas permukaan kertas lakmus, didiamkan sebentar pada suhu ruang hingga darah menjadi kering (sekitar 5 menit). Setelah kering, warna darah yang terbentuk dibandingkan secara visual di tem-

pat yang cukup terang dengan sederet warna standar yang disediakan. Deretan warna yang ada pada standar sudah dikalibrasi sedemikian rupa secara kualitatif sehingga setiap warna menunjukkan nilai kadar Hb. Dengan demikian warna standar yang sebanding dengan warna darah yang diuji menunjukkan kadar Hb darah⁽⁷⁾.

Metoda kertas lakmus ini bisa dilakukan oleh seti orang, cocok untuk dipergunakan di lapangan karena tidak memerlukan peralatan atau. pereaksi khusus, waktu yang diperlukan relatif singkat. Tetapi hasil yang diperoleh bisa subjektif, karena kemampuan tiap orang dalam membandingkan warna adalah tidak sama sehingga hasil yang diperoleh akan bervariasi. Walaupun demikian variasi basil bisa diperkecil, apabila orang yang melakukannya telah mempunyai cukup pengalaman dalam menggunakan metoda ini, melakukannya secara berulang, cermat dan teliti.

2) SIANMETHEMOGLOBIN

Berbeda dengan metoda kertas lakmus, metoda sianmethemoglobin ini memerlukan peralatan dan pereaksi khusus, tetapi hasil yang diperoleh lebih teliti. Darah dipipet dengan menggunakan pipet mikro sebanyak 20 mikroliter, kemudian dilarutkan dalam 5,0 ml larutan Drabkin (1 g NaHCO₃, 0,05 g KCN, 0,2 g KF(CN) dalam 1 liter aquades) yang sudah disediakan sebelumnya di dalam suatu tabung reaksi. Larutan Drabkin dikocok untuk menyempurnakan kelarutan darah sehingga diperoleh warna larutan yang homogen. Kepekatan warna larutan dibaca menggunakan alat spektrophotometer pada panjang gelombang 540 nm. Hasil pembacaan menunjukkan kadar Hb, dihitung berdasarkan hasil pembacaan alat pada larutan standar yang telah diketahui konsentrasinya⁽⁷⁾.

Metoda sianmethemoglobin ini sangat dianjurkan oleh WHO (1968) karena sampai saat ini dinilai dapat menghasilkan data yang paling teliti. Kelemahannya adalah ketergantungan pada alat spektrophotometer yang masih terbatas pada instansi tertentu selain sukarnya pemeliharaan photometernya sendiri; alat ini relatif sulit dibawa ke lapangan dan sangat tergantung pada listrik. Di samping itu fasilitas lain yang diperlukan dalam penyiapan larutan Drabkin, listrik dengan voltase yang stabil, biasanya sulit tersedia di lapangan.

3) SIANMETHEMOGLOBIN TIDAK LANGSUNG

Metoda ini merupakan pengembangan metode sianmethemoglobin⁽⁵⁾ sebagai usaha untuk mengatasi kelemahannya. Penetapan kadar Hb dengan metoda ini di lapangan sangat praktis, karena darah yang akan diperiksa di laboratorium tidak dalam bentuk cair. Apabila pelaksanaan pengambilan darah di lapangan dalam waktu yang relatif lama, sampel darah yang telah diteteskan dalam kertas dapat dimasukkan ke dalam amplop dan dikirim ke laboratorium yang dimaksud lewat pos.

Darah dipipet dengan menggunakan pipet mikro sebanyak 20 mikroliter, kemudian seluruhnya diteteskan secara bertahap dan perlahan ke atas permukaan kertas saring sehingga membentuk suatu spot darah, selanjutnya dibiarkan mengering pada suhu ruang. Spot darah kering ini kemudian dibawa ke instansi

yang memiliki fasilitas laboratorium yang diperlukan. Di laboratorium, contoh darah yang mengering digunting, lalu direndam dalam 5 ml larutan Drabkin hingga semua noda darah dari kertas saring melarut. Waktu yang diperlukan untuk melarutkan contoh darah kering ini biasanya selama 2 x 24 jam. Setelah semua contoh darah pada permukaan kertas melarut, perlakuan selanjutnya sama seperti yang telah diuraikan pada metoda sianmethemoglobin. Berdasarkan penelitian, hasil yang diperoleh masih harus dikalikan faktor koreksi yaitu 1,14⁽⁵⁾.

Contoh darah kering di atas permukaan kertas saring tadi bisa bertahan hingga 1 bulan. Dengan demikian, pengiriman contoh darah dan tempat jauh dapat dilakukan.

4) METODA SAHLI

Prinsipnya sama dengan metoda kertas lakmus, yaitu membandingkan warna secara visual, tetapi memerlukan peralatan dan pereaksi tertentu. Berbeda dengan metoda sianmethemoglobin, peralatan yang digunakan sangat sederhana, ringan, sehingga memungkinkan dibawa ke lapangan, dan tidak tergantung pada listrik ataupun baterai.

Kira-kira 5 tetes HCL 0,1 N dimasukkan ke dalam tabung khusus yang disebut tabung hemometer. Darah yang akan ditentukan kadar Hb-nya dipipet sebanyak 20 mikroliter, dan dimasukkan ke dalam tabung hemometer tadi. Tabung kemudian ditempatkan dalam alat hemometer. Pada alat tersebut terdapat dua tempat tabung. Tabung pertama berisikan contoh darah yang akan ditentukan kadar Hb-nya, dan tabung ke dua berisikan larutan standar. Posisi kedua tabung adalah berdampingan, dan isi kedua tabung bisa dilihat dan satu sisi yang sama. Kemudian tabung yang berisikan contoh darah ditambah aquades secara perlahan hingga warna larutan menyamai warna larutan standar yang ada pada tabung di sebelahnya. Setelah persamaan warna tercapai, kadar Hb dapat diketahui dengan membaca batas permukaan larutan yang berimpit dengan skala yang tertera pada alat hemometer dekat tempat tabung contoh darah⁽⁸⁾.

Metoda Sahli ini masih dianggap subjektif⁽⁷⁾ karena pembandingan warna dilakukan secara visual. Metoda ini bisa dianjurkan bila metoda Sianmethemoglobin tidak bisa dilakukan, dan berdasarkan penelitian, kadar Hb hasil penentuan metoda Sahli perlu dikalikan faktor 1,1⁽⁵⁾.

5) METODA ARTEL HEMOGLOBINOMETER

Metoda penentuan Hb darah ini memerlukan peralatan khusus yang disebut Artel Hemoglobinometer.

Sebanyak 2 tetes darah berasal dari jan tangan langsung diteteskan di atas permukaan gelas objek. Kemudian diaduk dengan batang saponin agar darah tidak membeku selama ± 45 menit. Darah kemudian dipindahkan ke dalam kuvet (tabung khusus bertutup). Pemindahan darah ini harus dilakukan secara cermat sehingga tidak timbul gelembung udara, karena bisa mengganggu pembacaan dan terjadi penyimpangan hasil. Kuvet kemudian dimasukkan ke dalam alat Artel Hemoglobinometer. Alat dinyalakan dengan cara menekan tombol "ON" dan selanjutnya segera timbul smgnal pada layar baca alat. Kemudian tekan tombol "read", selanjutnya pada layar akan menampilkan

tanda rd. Kemudian tanda rd berubah menjadi angka yang menunjukkan kadar Hb dalam g/dl⁽⁹⁾.

Alat ini masih dalam taraf uji coba, sehingga saat ini belum digunakan di tingkat masyarakat.

6) METODA COMBUR

Metoda ini menggunakan alat dan pereaksi. Alat ini sangat praktis, ringan, sehingga bisa dibawa ke lapangan, tidak tergantung listrik karena dapat menggunakan baterai. Di samping itu hasilnya sangat teliti, hanya ada ketergantungan pereaksi dan kapiler, selain itu ternyata ada beberapa bahan yang belum beredar di Indonesia.

Darah yang akan ditentukan kadar Hb-nya, dimasukkan ke dalam suatu kapiler khusus mempunyai volume tertentu. Kapiler yang berisikan darah tersebut kemudian dimasukkan ke dalam tabung yang berisikan pereaksi standar, kemudian dikocok hingga homogen. Tabung kemudian dimasukkan ke dalam alat Ames Combur M1000. Pada layar baca alat akan tampil angka yang menunjukkan kadar Hb dalam g/dl⁽¹⁰⁾.

7) METODA HEMOCUE

Metoda ini merupakan pengembangan metoda penentuan Hb secara spektrophotometer, karena menurut *International Committee of Standarization in Hematology (ICSH)*, dengan adanya pengenceran yang terlalu tinggi pada persiapan sampel darah sering menimbulkan penyimpangan hasil pembacaan alat spektrophotometer. Di samping itu, padapersediaan sampel darah sering timbul faktor kekeruhan sehingga terjadi kesalahan hasil pembacaan.

Metoda HemoCue ini berdasarkan pengukuran *optical density* pada kuvet yang mempunyai kapasitas volume sebesar 10 mikroliter oleh sinar yang berasal dari lampu yang berjarak 0,133 milimeter sampai pada dinding paralel celah optis tempat kuvet berada.

Pereaksi kering dimasukkan dalam kuvet melalui dinding bagian dalam kuvet, kemudian sampel darah dalam tabung kapiler dimasukkan secara cermat ke dalam kuvet. Sampel darah akan bercampur dengan pereaksi kering secara spontan. Kuvet dimasukkan ke dalam alat HemoCue photometer untuk dilaku-

kan pembacaan pada panjang gelombang 565 dan 880 nm. Alat akan menghitung sendiri sehingga angka yang muncul pada layar pembacaan adalah kadar Hb darah yang diperiksa⁽¹¹⁾.

Alat penentuan Hb dengan metoda HemoCue ini juga ringan dibawa, praktis, dapat menggunakan baterai, tidak tergantung listrik, dari hasilnya dapat langsung diketahui pada saat itu juga.

Dalam penetapan kadar Hb ada beberapa cara yang dapat dilakukan seperti yang disebutkan di atas, yang masing-masing mempunyai kelebihan dan keiemanannya. Untuk memilih metoda yang akan digunakan tergantung berbagai pertimbangan, di antaranya tujuan atau keperluan penetapan Hb, misalnya untuk penelitianjelas memerlukan metoda yang lebih teliti. Di samping itu juga tergantung pertimbangan biaya, karena ada beberapa metoda walaupun teliti tetapi peralatan dan bahan pereaksi harganya relatif mahal. Situasi dan kondisi lapangan juga mempengaruhi pemilihan metoda seperti ada tidaknya sarana listrik, jauh tidaknya lapangan dan laboratorium dan lain-lain.

KEPUSTAKAAN

1. Anonim. Keadaan dan masalah gizi di Indonesia. Info Pangan dan Gizi. Jaringan Informasi Pangan dan Gizi, Jakarta 1993; 5(4): 13-4.
2. Soewondo S. Krisdinamurtirin Y. Anemia and some aspects of mental functioning. The Third Asian Congress of Nutrition. Jakarta, 1980; Oct.: 6-10.
3. Karyadi D. Hubungan ketahanan fisik dengan keadaan gizi dan anemi besi. Tesis Doktor. Universitas Indonesia, Jakarta 1974.
4. Viteri FE, Torun E. Anemia and physical work capacity. Clin Haematol 1974; 3: 609-626.
5. Muhilal, Sukati. Ketelitian hasil penentuan hemoglobin dengan cara sianmethemoglobin, cara sahli, dan sianmethemoglobin tidak langsung. Penelitian Gizi dan Makanan, 1980; 4: 15-20.
6. WHO. Nutritional anemias. Tech Rep Ser no 503, 1972.
7. Gandasoebata R. Penuntun laboratorium klinik. Dian Rakyat, Jakarta 1985.
8. Krupp MA, Sweet NJ, Jawetz E, Amstrong CD. Physician handbook, 9th ed. California: Lange Med Publ 1956; P. 245-56.
9. Muhilal dkk. Laporan Penelitian tentang Penentuan kadar hemoglobin dengan alat artel di tingkat Puskesmas. PuslitbangGizi (belum dipublikasi), 1992.
10. Anonim. Ames mini lab pc-mini photometer. West Germany, 1990.
11. Schenck HV, Galkensson M, Lundberg B. Clinical Chemistry, 1986; 2(3): 526-29.
12. WHO. Nutritional anemias; Report of WHO Scientific Group. Tech Rep Serno40S, 1968.



Daaily life is more instructive than the most effective book,