

KETELITIAN HASIL PENENTUAN HEMOGLOBIN DENGAN CARA SIANMETHEMOGLOBIN, CARA SAHLI DAN SIANMETHEMOGLOBIN-TIDAK-LANGSUNG

Muhilal dan Sukati Saidin.

RINGKASAN

Ketelitian penentuan hemoglobin (Hb) dengan cara Sahli dan cara sianmethemoglobin-tidak-langsung telah dibandingkan dengan cara sianmethemoglobin (cara yang paling teliti yang dianjurkan WHO).

Cara Sahli dan cara sianmethemoglobin-tidak-langsung menghasilkan nilai Hb yang masing-masing lebih rendah 10. – 13 persen dan 14 – 16 persen dari cara sianmethemoglobin.

Hasil penentuan Hb dengan cara Sahli bila dikalikan faktor 1,10 maupun 1,13 menghasilkan nilai Hb yang penyebarannya tidak berbeda bermakna dengan cara sianmethemoglobin. Bila hasil penentuan Hb dengan cara sianmethemoglobin-tidak-langsung dikalikan faktor 1,16 menghasilkan nilai Hb yang penyebarannya berbeda bermakna dengan cara sianmethemoglobin. Bila sarana penentuan Hb dengan cara sianmethemoglobin tidak tersedia penentuan Hb dapat dilakukan dengan cara Sahli dan hasilnya dikalikan faktor 1,1.

PENDAHULUAN

Anemi gizi besi merupakan salah satu masalah gizi utama di Indonesia. Cara untuk menemukan adanya anemi yang mudah dan praktis belum ada (Tarwotjo, dkk. 1978). Satu-satunya cara yang paling tepat untuk menemukan adanya anemi ialah dengan menentukan kadar hemoglobin (Hb) dalam darah. Cara penentuan Hb yang dianjurkan dan dianggap paling teliti sampai saat ini oleh WHO, (1968) dan International Committee for Standardization in Hematology, (1967) ialah dengan cara sianmethemoglobin. Karena penentuan Hb dengan cara ini memerlukan photometer yang harga dan biaya pemeliharaannya mahal, maka cara ini belum dapat dipakai secara luas di Indonesia. Mengingat pula bahwa membawa photometer ke lapangan dapat menyebabkan kerusakan alat tersebut, maka dianjurkan untuk menyimpan darah yang telah diukur volumenya di atas kertas saring, yang kemudian dapat dilarutkan kembali di laboratorium dan ditentukan dengan cara yang sama dengan cara sianmethemoglobin. Cara ini dalam tulisan ini disebut cara sianmethemoglobin-tidak-langsung. (Jelliffe, 1966).

Cara penentuan Hb yang sudah banyak dipakai di Indonesia ialah cara Sahli. Ketelitian cara-cara yang dapat dipakai di lapangan dan cukup sederhana perlu diteliti dan dibandingkan dengan cara standar yang dianjurkan WHO.

Tujuan penelitian ini ialah (1) menguji ketelitian penentuan Hb dengan cara Sahli dan cara sianmethemoglobin-tidak-langsung dibanding dengan sianmethemoglobin; (2) mencari faktor koreksi untuk hasil penentuan Hb dengan cara Sahli dan cara sianmethemoglobin-tidak-langsung agar nilainya tidak berbeda secara bermakna dengan hasil penentuan dengan cara sianmethemoglobin.

Bahan dan cara

Darah diambil dari ujung jari yang telah disterilkan dengan alkohol 70 %. Darah diambil dengan pipet Sahli (0,02 ml) sebanyak tiga kali, untuk tiga macam cara penentuan Hb tersebut. Darah untuk penentuan Hb dengan cara sianmethemoglobin dimasukkan ke dalam 5,0 ml pereaksi Drabkin yang sudah disediakan. Pipet dibilas empat kali dengan pereaksi sampai bersih dari sisa-sisa darah. Darah untuk penentuan Hb dengan cara sianmethemoglobin-tidak-langsung diteteskan pada kertas saring 5 x 5 cm. Pada salah satu pojok kertas saring dituliskan nomor kode contoh dan tanggal pengambilan. Pipet dibilas beberapa kali dengan pereaksi Drabkin dan bilasannya diteteskan pada kertas saring tersebut. Darah pada kertas saring dapat disimpan selama 1 – 2 minggu sebelum dilarutkan kembali. Darah untuk penentuan Hb dengan cara Sahli dimasukkan ke dalam tabung Sahli yang sudah diberi 0,01 N HCl sampai tanda 5, dibilas beberapa kali, ditambah cairan sedikit demi sedikit dan dikocok dengan gelas pengaduk sampai warna campuran darah dan pereaksi sama dengan warna standar pada alat Sahli (Krupp, dkk. 1956). Standar Hb yang dipakai adalah standar buatan Hycel sedangkan photometer yang dipakai Spectrophotometer Beckman B.

Dalam penelitian ini dua orang tehniisi yang bekerjanya terpisah, mengerjakan penentuan Hb dengan tiga macam cara. Seorang tehniisi adalah staf bidang Biokimia Gizi Puslitbang Gizi, yang sudah berpengalaman dalam menentukan Hb, terutama dengan cara sianmethemoglobin, seorang lagi mahasiswa, tingkat III Akademi Gizi yang telah dilatih khusus selama 1 minggu. Tehniisi pertama menentukan Hb dengan 3 macam cara tersebut pada 44 orang yang sebagian besar adalah karyawan Puslitbang Gizi sedangkan tehniisi kedua pada 105 orang mahasiswa dan pelajar di Jakarta. Orang-orang yang ditentukan hemoglobinnya tidak mewakili suatu kelompok masyarakat tertentu dan tidak diambil secara acak karena tujuannya untuk membandingkan hasil penentuan Hb dengan ketiga macam cara tersebut.

Hasil dan pembahasan

Hasil penentuan Hb dengan tiga macam cara tersebut oleh tehniisi pertama, terlihat dalam Tabel 1.

TABEL 1. Nilai rata-rata hemoglobin ditentukan dengan cara sianmethemoglobin, Sahli dan sianmethemoglobin-tidak-langsung.

Cara penentuan	Jumlah penentuan	Nilai rata-rata $\pm$ SE (g%)
Sianmethemoglobin	44	12,60 $\pm$ 0,29
Sahli	44	11,50 $\pm$ 0,28
Sianmethemoglobin-tidak-langsung	44	11,10 $\pm$ 0,29

Pada Tabel 1 dapat dilihat bahwa nilai rata-rata penentuan Hb dengan sianmethemoglobin adalah 10% dan 14% lebih tinggi dari hasil penentuan dengan cara Sahli dan sianmethemoglobin-tidak-langsung.

Bila hasil-hasil penentuan Hb dengan cara Sahli dan cara sianmethemoglobin tidak-langsung masing-masing dikalikan dengan faktor 1,1 dan 1,4 maka penyebaran banyaknya kejadian dalam persen dari berbagai macam nilai Hb dapat dilihat dalam Tabel 2.

TABEL 2. Banyaknya kejadian (persen) nilai Hb ditentukan dengan cara sianmethemoglobin, Sahli x 1,1 dan sianmethemoglobin-tidak-langsung x 1,14.

Nilai Hb (g %)	Cara penentuan		
	Sianmethemoglobin	Sahli x 1,1	Sianmethemoglobin-tidak-langsung x 1,14
	A	B	C
11,9	29,5	29,5	36,4
12 - 12,9	22,7	20,5	15,9
13 - 13,9	22,7	20,5	15,9
14 - 14,9	18,2	20,5	22,7
15,0	6,9	9,0	9,1

A dan B : $P > 0,75$

A dan C : $P > 0,05$

tidak

Hasil analisa statistik menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna antara penyebaran nilai Hb hasil penentuan dengan cara sianmethemoglobin dan dengan cara Sahli yang hasilnya dikalikan faktor 1,1 ($P > 0,75$). Demikian juga penyebaran nilai Hb hasil penentuan dengan cara sianmethemoglobin dengan sianmethemoglobin-tidak-langsung yang hasilnya dikalikan faktor 1,14 ($P > 0,05$).

Nilai rata-rata hasil penentuan dengan tiga cara tersebut oleh tehni kedua tercantum dalam Tabel 3.

TABEL 3. Nilai rata-rata hemoglobin ditentukan dengan cara sianmethemoglobin, Sahli dan sianmethemoglobin-tidak-langsung.

Cara penentuan	Jumlah contoh	Nilai rata-rata $\pm$ SE (g %)
Sianmethemoglobin	105	13,0 $\pm$ 0,15
Sahli	105	11,5 $\pm$ 0,11
Sianmethemoglobin-tidak-langsung	105	11,6 $\pm$ 0,13

Nilai rata-rata Hb hasil penentuan dengan cara sianmethemoglobin oleh tehni kedua adalah 13,0 % lebih tinggi dari hasil penentuan dengan cara Sahli dan 16,0 % lebih tinggi dari hasil penentuan dengan cara sianmethemoglobin-tidak-langsung.

Bila nilai-nilai Hb berdasarkan penentuan dengan Sahli dan cara sianmethemoglobin-tidak-langsung masing-masing dikalikan faktor 1,13 dan 1,16 maka banyaknya kejadian dari berbagai nilai Hb dapat dilihat dalam Tabel 4.

TABEL 4. Banyaknya kejadian (persen) nilai Hb yang ditentukan dengan cara sianmethemoglobin, Sahli x 1,13 dan sianmethemoglobin-tidak-langsung x 1,16.

Nilai Hb (g %)	Cara penentuan		
	Sianmethemoglobin A	Sahli x 1,13 B	Sianmethemoglobin-tidak-langsung x 1,16 C
11,9	15,2	17,5	18,9
12,0 - 12,9	23,8	25,6	25,9
13,0 - 13,9	27,7	34,7	36,2
14,0 - 14,9	17,1	13,5	11,3
15,0	16,2	8,7	7,7

A dan B : $P > 0,05$

A dan C : $P < 0,01$

Hasil analisa statistik menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan bermakna antara penyebaran nilai Hb hasil penentuan dengan cara Sahli dikalikan faktor 1,13 dibanding hasil penentuan dengan cara sianmethemoglobin ($P > 0,05$).

Penyebaran nilai Hb hasil penentuan dengan cara sianmethemoglobin-tidak langsung dikalikan faktor 1,16 berbeda secara bermakna dengan hasil penentuan dengan cara sianmethemoglobin ($P < 0,01$).

Cara penentuan Hb yang dianggap paling teliti sampai saat ini ialah cara sianmethemoglobin (WHO, 1968). Cara ini paling tepat untuk dipakai dalam penelitian gizi.

Kelemahan cara ini ialah mahalnyanya dan sukarnya pemeliharaan photometer, sukarnya mendapatkan standar Hb yang harus didatangkan dari luar-negeri secara periodik, pemakaian pereaksi yang membahayakan kesehatan karena mengandung sianida dan banyaknya perlengkapan yang harus dibawa bila bekerja di lapangan.

Penentuan Hb dengan cara Sahli menghasilkan nilai rata-rata yang 10 % lebih rendah dari hasil penentuan dengan cara sianmethemoglobin jika dilakukan oleh petugas yang cukup berpengalaman dan 13 % lebih rendah jika dilakukan oleh petugas yang mendapat latihan selama seminggu.

Bila hasil penentuan dengan cara Sahli tersebut ditambah 10 %, penyebaran nilai Hb tidak berbeda dengan hasil penentuan dengan cara sianmethemoglobin. Untuk petugas yang kurang berpengalaman diperlukan faktor koreksi 13 %. Mengingat bahwa dalam praktek, petugas yang disertai pekerjaan tersebut makin lama makin dapat bekerja baik, maka faktor koreksi 10 % dapat dianjurkan.

Penentuan Hb dengan cara sianmethemoglobin-tidak-langsung, dengan darah yang telah disimpan selama 1 – 2 minggu menghasilkan nilai yang lebih rendah dari hasil penentuan dengan cara Sahli. Penyebaran nilai Hb ini setelah dikalikan faktor koreksi tidak menghasilkan nilai Hb sebaik hasil penentuan dengan cara Sahli yang dikalikan faktor koreksi. Cara ini perlu diteliti lebih lanjut untuk mempertinggi ketelitian hasilnya.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa penentuan Hb dengan cara Sahli yang hasilnya dikalikan dengan faktor koreksi 1,1 dapat dianjurkan selama belum ada sarana untuk penentuan dengan cara sianmethemoglobin. Khusus untuk penelitian seyogianya tetap dipakai cara sianmethemoglobin seperti dianjurkan WHO.

Ucapan terima kasih.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Sdr. Minarto yang telah melakukan penentuan Hb.

KEPUSTAKAAN

- International Committee for Standardization in Haematology. 1967. Brit. J. Haemat. 13 (Suppl.) : 71.
- Jelliffe, Derrick, B. 1966. The Assessment of the Nutritional Status of the Community. World Health Organization, Geneva.

- Krupp, M.A., N.J. Sweet, E. Jawetz and C.D. Armstrong. 1956. *Physian's Handbook*, 9th ed. Lange Medical Publication, Los Atlas, California. p. 245 – 246.
- Snedecor, G.W. and W.G. Cochran. 1956. *Statistical Methods*, 5th ed. The Iowa State College Press, Amer. Iowa.
- Tarwotjo, Muhilal, Djumadias Abunain, Soekirman dan Darwin Karyadi. 1978. *Masalah gizi di Indonesia. Kertas kerja pada Widyakarya Nasional Pangan dan Gizi*, Bogor 10 – 14 Juli .
- World Health Organization. 1968. *Nutritional Anaemia; Report of a WHO Scientific Group*. Wld Hlth Org. techn. Rep. Ser., No. 405.