

JURNAL

TEKNOLOGI DAN MANAJEMEN PENGELOLAAN LABORATORIUM



Jurnal
Teknologi Dan Manajemen Pengelolaan Laboratorium
(Temapela)

Yusniati

Pengaruh Variasi Waktu Inkubasi
Terhadap Kadar Hemoglobin Metode
Drabkin's Dengan Mikro Lab 300

Hal
86 - 89

PENGARUH VARIASI WAKTU INKUBASI TERHADAP KADAR HEMOGLOBIN METODE DRABKIN'S DENGAN MIKRO LAB 300

YUSNIATI

Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Andalas
Jl.Perintis Kemerdekaan No. 94 Padang

Email: yusniatiamir@gmail.com

ABSTRAK

Pemeriksaan hemoglobin dalam darah mempunyai peranan yang penting dalam diagnosa suatu penyakit. Hemoglobin berperan dalam mempertahankan bentuk sel darah merah yang bikonkaf, jika terjadi gangguan maka keluwesannya dalam melewati kapiler jadi berkurang. Manfaat lainnya adalah untuk mengetahui ada tidaknya gangguan kesehatan pada pasien yang berhubungan dengan anemia dan polisitemia. Di laboratorium masa inkubasi dalam pemeriksaan Hb sering diabaikan, waktu inkubasi yang seharusnya 10 menit menjadi berkurang dan terkadang dibaca setelah melewati masa inkubasi karena banyak sampel yang akan diperiksa atau masalah teknis lainnya, sehingga dikhawatirkan mengeluarkan hasil pemeriksaan yang tidak akurat. Penelitian ini menggunakan metode eksperimental. Sampel berupa darah manusia berjumlah 20 sampel. Pemeriksaan Kadar Hb menggunakan 5 variasi waktu 10,20,30,40 dan 50 menit. Pemeriksaan Kadar Hb dengan metode Drabkin's menggunakan alat spektrofotometer (Mikrolab 300). Data dianalisis dengan uji Normalitas, dilanjutkan dengan uji one way Anova. Berdasarkan hasil penelitian didapatkan rerata kadar hemoglobin darah (gr/dl) berturut-turut adalah $14,23 \pm 2,17$; $14,20 \pm 2,16$; $14,19 \pm 2,15$; $14,20 \pm 2,15$ dan $14,22 \pm 2,15$. Hasil Uji Anova didapatkan nilai $p=1$, secara statistik tidak terdapat perbedaan yang signifikan kadar Hb dengan variasi waktu inkubasi. Metode Drabkin's sangat baik digunakan untuk pemeriksaan Hb karena cukup stabil sampai waktu inkubasi 50 menit.

Kata Kunci: Hemoglobin, metode Drabkin's, waktu, inkubasi

Abstract

Examination of hemoglobin in the blood has an important role in the diagnose of a disease. Hemoglobin play important role in maintains the shape of the red blood cells that biconkaf. if there were disturbance in it, so its fleksibility action in passing through capillary will be reduced . Other benefits whereabouts is to find an impairment of health in patients associated with anemia and polisitemia .In the laboratory the incubation period is complete in examination haemoglobin often ignored, 10 minutes incubation periods should be reduced and sometimes read overtime passing the time incubation because many samples will be examined or other technical problems. This issued will be wooried which maybe give inaccurate results . This research aims is determine Haemoglobin level after variations of the time incubation periods. This research is descriptive design to describe the hemoglobin levels according time incubation mannner. Sample was human which number of sample was 20. The examination of the level of haemoglobin used 5 variation time incubation were 10,20,30,40 and 50 minutes. Levels of haemoglobin was determine by using drabkin' s methods and run absorbancies in spectrophotometer. Data analyzed by test normality first then followed by one way anova test. Based on the research results found that levels of hemoglobin (gr/dl) with incubation time 10, 20,30,40 and 50 minutes sequently were $14,23 \pm 2,17$; $14,20 \pm 2,16$; $14,19 \pm 2,15$; $14,20 \pm 2,15$ dan $14,22 \pm 2,15$. According to one way anova acquired p value was 1. There were no significant statistically difference haemoglobin levels beetween time incubation variation. The conclusion showed that a drabkin' s methods was stabil, steady and good use for determining haemoglobin levels until 50 minutes incubation periods.

Keyword : Hemoglobin, Drabkin's methods, time incubation

I. PENDAHULUAN

Hemoglobin (Hb) adalah molekul protein pada sel darah merah yang berfungsi sebagai media transportasi oksigen (O_2) dari paru-paru ke jaringan di seluruh tubuh dan mengambil karbondioksida (CO_2) dari jaringan tersebut dan dibawa ke paru-paru untuk dibuang ke udara bebas. Hemoglobin berperan penting dalam mempertahankan bentuk sel darah merah dan memberi warna merah pada darah. Struktur hemoglobin yang abnormal bisa mengganggu bentuk sel darah merah dan menghambat fungsi dan aliran darah melewati pembuluh darah. (Sadikin, 2001). Kandungan zat besi (Fe) yang terdapat dalam hemoglobin membuat darah berwarna merah (Tarwoto, 2008).

Pemeriksaan hemoglobin dalam darah mempunyai peranan yang penting dalam diagnosa suatu penyakit. Hemoglobin juga berperan penting dalam mempertahankan bentuk sel darah merah yang bikonkaf, dimana jika terjadi gangguan pada bentuk sel darah merah maka keluwesan sel darah merah dalam melewati kapiler jadi kurang maksimal. Hal inilah yang menjadi alasan mengapa kekurangan zat besi bisa menyebabkan anemia (Evelyn, 2000).

Pemeriksaan kadar hemoglobin termasuk salah satu pemeriksaan darah rutin yang dibutuhkan untuk mendiagnosa suatu penyakit, yaitu untuk mengetahui ada tidaknya gangguan kesehatan pasien, misalnya kekuarangan hemoglobin yang biasa disebut anemia (Guyton, 2006) atau perkembangan penyakit yang berhubungan dengan anemia dan polisitemia. (Hoffbrand, 2013).

Banyak metode yang bisa digunakan untuk pemeriksaan kadar hemoglobin ini, diantaranya metode tallquist, sahli, kupersulfat, *cyanmethemoglobine*, *electrical impedance* dan fotometri dengan hematologi analizer (*sulfoksihemoglobin*). Metode yang dianjurkan oleh International Committee for Standardization in Hematology (ICCSH) adalah cyanmethemoglobin, dengan prinsip pemeriksaan adalah semua derivat hemoglobin dalam darah kecuali *verdoglobin* diubah secara kuantitatif menjadi *hemoglobincyaniade* (cyanmethemoglobin) dengan menggunakan larutan Drabkin's yang mengandung sianida. (Nkrumah, 2011).

Pemeriksaan laboratorium yang baik sangat diperlukan dalam menunjang diagnosa suatu penyakit. Di Laboratorium klinik, kadar hemoglobin dapat ditentukan kadarnya dengan berbagai cara, salah satunya adalah dengan metode Drabkin's. International Commettee for Standarization in Haematologi (ICSH), menganjurkan pemeriksaan kadar hemoglobin

dengan menggunakan metode cyanmeth. Cara ini mudah dilakukan karena mempunyai standart dan dapat mengukur semua jenis hemoglobin kecuali sulf hemoglobin (Panil, 2008). Dalam melakukan pemeriksaan hemoglobin perlu diperhatikan beberapa faktor yang mempengaruhi stabilitas sampel darah sehingga tidak terjadi penyimpangan hasil pemeriksaan. Faktor tersebut adalah suhu, lama penyimpanan, kontaminasi, pengaruh sinar dan penguapan. Apabila dari kedua pemeriksaan hemoglobin ini menunjukkan hasil yang sama, maka metode langsung dapat digunakan sebagai alternatif untuk dalam pemeriksaan hemoglobin bila tempat pengambilan sampel jauh dari laboratorium.

Menurut Gandasubrata (2013) batas waktu pemeriksaan darah EDTA pada pemeriksaan darah lengkap sebaiknya dilakukan segera karena akan mempengaruhi hasil analisa. Hilmi (2009) juga menyatakan bahwa Inkubasi darah mempengaruhi kadar hemoglobin. Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa kadar hemoglobin yang segera diperiksa dan ditunda setelah 6 jam, 12 jam dan 24 jam mengalami perubahan sampai 84% .

Seiring dengan meningkatnya jumlah pemeriksaan, maka waktu yang diperlukan akan semakin banyak dan ketepatan volume sering diabaikan karena kurangnya sampel atau banyaknya sampel yang harus diperiksa dan juga banyaknya item pemeriksaan dalam satu sampel yang akan diperiksa. Sebagai seorang analis yang bekerja di laboratorium, kadang-kadang tidak selalu memperhatikan ketepatan waktu inkubasi karena adanya sampel yang dikerjakan secara seri. Oleh karena itu penulis ingin mengetahui pengaruh variasi waktu inkubasi terhadap kadar hemoglobin dengan metode Drabkin's.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh waktu inkubasi dan untuk mengetahui hasil yang didapatkan dari penundaan waktu selama 10, 20, 30, 40 dan 50 menit terhadap hasil pemeriksaan hemoglobin metode Drabkin's.

II. METODE PENELITIAN

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimental (*true experimental research*) dengan mengamati pengaruh waktu inkubasi selama 10, 20, 30, 40 dan 50 menit terhadap kadar hemoglobin darah metode Drabkin's.

Penelitian ini telah dilaksanakan dari tanggal 5 September s/d 3 November 2018 di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Andalas.

Populasi dari sampel yang digunakan adalah remaja berusia 18 – 24 tahun yang

merupakan mahasiswa Fakultas Kedokteran yang bersedia ikut dalam penelitian ini.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah spektrofotometer (mikro lab. 300), tabung reaksi, klinipet dan tip, rak tabung reaksi, timer, spuit, vaccutainer, torniket, kamera dan alat tulis. Bahan yang digunakan adalah reagen Drabkin's dan darah.

Prosedur pelaksanaan penelitian adalah sebagai berikut :

1. Persiapan Alat

Micro lab 300 dinyalakan dengan menekan saklar pada posisi ON, biarkan 5 -10 menit. Lakukan perawatan awal dari alat sampai alat siap untuk digunakan. Alat alat lain seperti tabung, pipet, timer, vaccu tainer dan lain lain pastikan sudah dalam keadaan bersih dan kering siap digunakan.

2. Persiapan Reagen.

Reagen drabkin`s dikeluarkan dari lemari es, biarkan sampai suhu kamar.

3. Pengambilan Darah Vena

Siapkan spuit dengan jarum yang sesuai, Bersihkan vena fossa cubiti dengan alkohol swab

dan biarkan sampai kering. Pasang torniket sebagai pembendung, pasien diminta untuk mengepal dan membuka tangannya agar venanya terlihat jelas. Tegangkan kulit diatas vena, tusukan jarum kedalam lumen vena. Lepaskan pembendung lalu tarik penghisap semprit sampai volume yang diinginkan. Letakan alkohol swab jarum dan cabut jarumnya perlahan. Pasien diminta menekan kapas dilokasi fungsi vena. Pindahkan darah ke vaccutainer.

4. Prosedur Pemeriksaan Hemoglobin

Siapkan rak dan tabung reaksi sesuai dengan kebutuhan. Label sesuai urutannya, dimulai dari sampel nomor 1,2,3 dan seterusnya. Kedalam masing-masing tabung masukan 5 ml reagen Drabkin`s. Tambahkan 20 ul darah kedalam larutan drabskin sesuai labelnya. Homogenkan larutan dalam tabung reaksi. Inkubasi 10 menit pada suhu kamar. Baca dengan menggunakan mikro lab 300 pada panjang gelombang 540 nm. Selanjutnya dibaca pada menit ke 20, 30, 40

dan 50.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

Tabel 1. Rerata Kadar Hemoglobin (gr/dl) dengan variasi waktu inkubasi 10,20,30,40 dan 50 menit

No	n	Kadar Hb (gr/dl) dengan Variasi waktu inkubasi (menit)					p
		10 Rerata ± SD	20 Rerata ± SD	30 Rerata ± SD	40 Rerata ± SD	50 Rerata ± SD	
1	20	14,23±2,17	14,20±2,16	14,19±2,15	14,20±2,15	14,22±2,15	1,0

Berdasarkan hasil pada tabel 2 maka didapatkan rerata kadar hemoglobin darah (gr/dl) dengan waktu inkubasi 10,20,30,40 dan 50 menit berturut-turut adalah 14,23 ± 2,17; 14,20 ± 2,16; 14,19 ± 2,15; 14,20 ± 2,15 dan 14,22 ± 2,15.

Data diolah dengan uji statistik one way Anova pada interval kepercayaan 95%, didapatkan nilai p 0.05, artinya tidak terdapat perbedaan yang signifikan kadar Hb dengan variasi waktu inkubasi.

Hb dengan reagen Drabkin`s cukup stabil dalam waktu inkubasi yang cukup lama (sampai 50 menit sesuai dengan penelitian yang dilakukan).

Menurut Panil (2008) menyatakan bahwa waktu inkubasi mempunyai peranan penting dalam setiap pemeriksaan kimia klinik tapi tidak selalu berpengaruh nyata terhadap kadar analit yang diperiksa. Senada dengan pernyataan diatas Sulistyarsi (2016) bahwa

B. Pembahasan

Berdasarkan hasil pada tabel 2 maka didapatkan rerata kadar hemoglobin darah (gr/dl) dengan waktu inkubasi 10,20,30,40 dan 50 menit berturut-turut adalah 14,23 ± 2,17; 14,20 ± 2,16; 14,19 ± 2,15; 14,20 ± 2,15 dan 14,22 ± 2,15.

Tidak terdapat perbedaan yang signifikan kadar Hb dengan variasi waktu inkubasi, dengan nilai p 0.05. Hal ini kemungkinan disebabkan pengukuran Hb dengan metoda Drabkin`s tidak dipengaruhi oleh variasi waktu inkubasi dan pemeriksaan interaksi lama fermentasi dan perbedaan konsentrasi inokulum tidak berpengaruh nyata terhadap kadar protein yang dihasilkan oleh kapang *Aspergillus niger*.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Budiman (2009) dapat diketahui bahwa masing-masing medium dengan konsentrasi substrat yang berbeda mempunyai waktu inkubasi optimum yang sama yaitu pada

hari ke 4 sedangkan untuk konsentrasi substrat terbaik dalam menghasilkan aktivitas enzim xylanase adalah pada konsentrasi substrat 1 % dengan aktivitas enzyme sebesar 15.14 UI/ml pada hari ke 4 inkubasi. Sedangkan untuk pH optimum didapatkan pada pH 6 dengan waktu inkubasi 4 hari dengan aktivitas enzim sebesar 15.33 UI/ml.

Yustiani (2007) dalam penelitiannya juga menyatakan bahwa pada penundaan sampel lebih dari 2 jam tidak mempengaruhi hasil pemeriksaan Na dan Cl Serum, tapi mempengaruhi hasil pemeriksaan K serum.

Jadi variasi waktu inkubasi memberikan hasil yang berbeda untuk tiap para meter pengamatan, karena itu petugas laboratorium harus memperhatikan waktu inkubasi disetiap pemeriksaan yang dilakukan di laboratorium agar didapatkan hasil analisa yang tepat dan akurat.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat diambil kesimpulan, bahwa Rerata kadar hemoglobin dari 20 sampel yang diperiksa tidak terdapat perbedaan yang signifikan kadar hemoglobin dengan 5 variasi yang berbeda.

DAFTAR PUSTAKA

Evelyn, 2000. Anatomi dan fisiologi untuk paramedic, cetakan ke 23. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.

Gandasoebrata. 2013. Penuntun Laboratorium Klinik. Dian Rakyat. Jakarta

Guyton, A. C., & Hall, J. E. (2006). Buku Ajar Fisiologi Kedokteran (11 ed.). ECG Jakarta, Indonesia.

Hilmi, Saeful. 2009. Pengaruh waktu penyimpanan darah EDTA pada suhu kamar terhadap kadar hemoglobin. Semarang. Universitas Muhammadiyah Semarang.

Hoffbrand, A. V & Moss H, (2013), Essential haematology. Ed 6, EGC. Jakarta, pp. 126-139

Murray, R. K., D. K. Granner, and V. W. Rodwell. 2013. Biokimia Harper; Alih bahasa, Brahm U. Edisi 27. Jakarta: EGC.

Nkrumah, B., Nguah, S. B., Sarpong, N., Dekker, D., Idriss, A., Mei, J., et al. (2011). Hemoglobin estimation by the HemoCue portable hemoglobin photometer in a resource poor setting. BMC Clinical Pathology .

Panil, Z. 2008. Memahami Teori dan Praktikum Biokimia Dasar Medis. EGC. Jakarta

Sadikin, Mohammad.H, 2001, Biokimia Darah, Penerbit Widya Midika, Jakarta

Tarwoto., dan Wartolah. 2009. Fisiologi Tubuh Manusia untuk Mahasiswa Kebidanan. Trans Info Media. Jakarta.

Yustiani T.N., Mutmainnah, Ruland DN Pakasi, Harjoeno (2007). Kadar Na, K, Cl pada Ragam (Variasi) Selang Waktu Pemeriksaan Serum. Makasar. Departemen Patologi Klinik FK-Unhas.

Sulistiyarsi A, Pujiati, Muh. Waskito Ardhi (2016) Pengaruh Konsentrasi dan Lama Inkubasi terhadap Kadar Protein Crude Enzim Selulase dari Kapang *Aspergillus niger*. Proceeding Biology Education Conference (ISSN: 2528-5742), Vol 13(1) 2016: 781-786

Budiman, Albar and Setyawan, Sigit (2009) Pengaruh Konsentrasi Substrat, Lama Inkubasi Dan Ph Dalam Proses Isolasi Enzim Xylanase Dengan Menggunakan Media Jerami Padi. Skripsi. Teknik Kimia. Undip

ISSN 2621-0878



9 772621 087012