

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Darah

1. Definisi darah

Darah merupakan cairan tubuh berwarna merah yang ada di dalam tubuh yang tersusun atas komponen cair, sel-sel, serta partikel mirip sel yang beredar di dalam pembuluh darah seperti arteri, kapiler dan vena (Sekarningrum, 2013). Darah berperan penting dalam menjaga keseimbangan asam basa tubuh, menyalurkan zat gizi ke seluruh jaringan, mengatur suhu tubuh, serta berfungsi sebagai media transportasi yang membawa oksigen melalui hemoglobin, dan juga mengedarkan karbohidrat dan hasil metabolisme lainnya. Menurut Jitowiyono (2018) kandungan sel dan protein yang beragam dalam darah menyebabkan teksturnya menjadi lebih kental dan tidak sepenuhnya cair. Oleh karena itu, viskositas darah lebih tinggi daripada air murni.

Sekitar 7-8% dari berat badan total seseorang terdiri dari darah yang mengalir melalui sistem peredaran darah, yaitu arteri dan vena, dengan jantung berperan sebagai pompa utama. Suhu darah normal umumnya sekitar 38°C dengan tingkat keasaman (pH) antara 7,35 dan 7,45 (Nurhayati dkk., 2022). Rentang pH ini berfungsi sebagai sistem penyangga yang menjaga kestabilan asam-basa darah, yang pada gilirannya memengaruhi berbagai fungsi fisiologis tubuh. Warna darah bergantung pada kandungan oksigennya, di mana darah yang kaya oksigen tampak merah cerah, sementara darah dengan kandungan oksigen rendah berwarna merah gelap. Jumlah darah dalam tubuh manusia bervariasi berdasarkan jenis kelamin, pada pria dewasa umumnya berkisar antara 5 hingga 6 liter, sedangkan pada wanita

dewasa sekitar 4 hingga 5 liter (Rosita dkk., 2019).

2. Fungsi darah

Menurut Jitowiyono (2018) darah memiliki tiga fungsi pokok yang saling berkaitan, yakni fungsi transportasi, regulasi, dan perlindungan.

a. Fungsi transportasi

Darah memainkan peran penting sebagai sistem transportasi utama dalam tubuh manusia. Oksigen yang diperoleh dari paru-paru didistribusikan ke semua sel dalam tubuh untuk mendukung proses metabolisme. Selama proses ini, karbondioksida dihasilkan sebagai produk limbah metabolisme dan kemudian dikembalikan ke paru-paru untuk dikeluarkan melalui pernapasan. Molekul hemoglobin dalam eritrosit berfungsi sebagai pengikat dan pengangkut oksigen dan karbondioksida. Selain itu, darah juga mengangkut nutrisi dari saluran pencernaan ke jaringan tubuh, mengangkut hormon dari kelenjar endokrin ke organ sasaran, serta mengangkut limbah metabolik ke organ ekskresi, seperti hati, ginjal, dan usus, sehingga dapat diekskresikan dari tubuh.

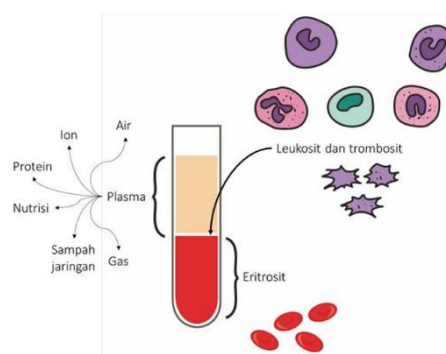
b. Fungsi regulasi

Selain perannya dalam transportasi, darah juga berfungsi untuk menjaga kestabilan kondisi internal tubuh, terutama dalam mengatur suhu tubuh. Plasma darah memiliki kemampuan untuk menyerap dan melepaskan panas, sementara kecepatan aliran darah menentukan efektivitas proses ini. Ketika suhu tubuh naik, pembuluh darah melebar (vasodilatasi) sehingga panas dapat dilepaskan ke lingkungan. Sebaliknya, pada suhu lingkungan yang rendah, pembuluh darah menyempit (vasokonstriksi) untuk mempertahankan panas di dalam tubuh.

c. Fungsi perlindungan

Darah juga berfungsi untuk melindungi tubuh dari berbagai ancaman yang dapat mengganggu kestabilan fisiologis. Ketika terjadi luka atau kerusakan pada pembuluh darah, sistem pembekuan darah segera aktif untuk membentuk bekuan darah (trombus) yang menutup luka dan menghentikan pendarahan, sehingga mencegah kehilangan darah yang berlebihan. Selain itu, sel darah putih (leukosit) dan berbagai zat bioaktif lainnya berperan dalam system pertahanan tubuh untuk melawan infeksi dan melindungi tubuh dari serangan mikroorganisme berbahaya.

3. Komponen darah dan fungsi spesifik



Gambar 1 Komponen darah

Sumber: Rosita dkk., (2019)

Secara umum, sekitar 50-60 persen komposisi darah terdiri dari komponen cair, sementara sisanya terdiri dari elemen seluler. Komponen cair ini dikenal sebagai plasma darah, yang sebagian besar sekitar 90 persen terdiri dari air, sementara 10 persen sisanya terdiri dari berbagai zat terlarut, seperti ion logam, glukosa, asam amino, hormon dan berbagai jenis protein. Serum darah pada dasarnya memiliki komposisi yang serupa dengan plasma, tetapi tidak mengandung fibrinogen yaitu protein yang berperan penting dalam proses koagulasi atau pembekuan darah. Elemen seluler darah meliputi eritrosit (sel darah merah), leukosit (sel darah putih)

yang terdiri dari beberapa jenis, dan trombosit (platelet darah) yang berfungsi dalam proses pembekuan darah (Nurhayati dkk., 2022).

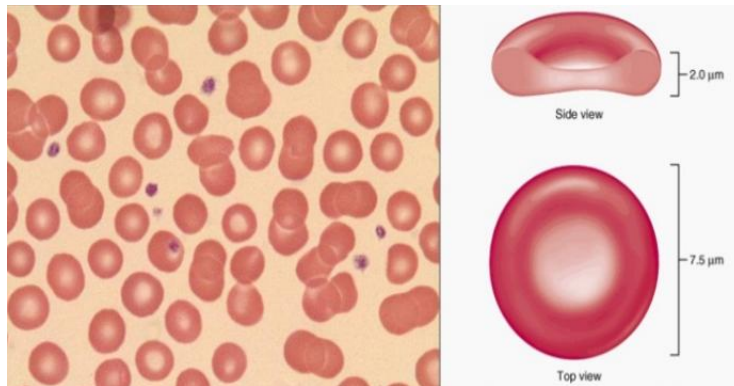
a. Plasma darah

Plasma darah adalah bagian cair dari darah yang mengandung berbagai nutrisi dan zat penting yang dibutuhkan oleh tubuh, seperti albumin, globulin, fibrinogen, hormon, elektrolit, dan faktor pembekuan darah. Komponen-komponen ini memainkan peran penting dalam menjaga keseimbangan asam-basa melalui sistem penyangga yang melibatkan ion hidrogen dan bikarbonat. Selain itu, plasma berfungsi sebagai medium transportasi yang mendistribusikan nutrisi, mineral, lemak, glukosa dan asam amino ke semua jaringan tubuh, sekaligus mengangkut produk limbah metabolik seperti urea dan asam urat untuk diekskresikan dari tubuh (Firani, 2018).

Plasma darah diklasifikasikan sebagai cairan ekstraseluler dengan volume sekitar lima persen dari berat badan manusia. Komposisinya terdiri dari 91-93% air, sekitar 6% protein, dan 7-9% berbagai zat organik dan anorganik seperti enzim, hormon, vitamin dan pigmen. Protein utama yang terdapat dalam plasma meliputi albumin (sekitar 57%) yang berperan dalam menjaga tekanan osmotik koloid, globulin ($\pm 40\%$) yang berfungsi dalam sistem kekebalan tubuh dan keseimbangan osmotik, serta fibrinogen ($\pm 3\%$) yang berperan dalam proses pembekuan darah melalui faktor-faktor koagulasi yang dikandungnya (Nurhayati dkk., 2022).

b. Sel-sel darah

1) Eritrosit (sel darah merah/SDM) atau *Red Blood Cell* (RBC)



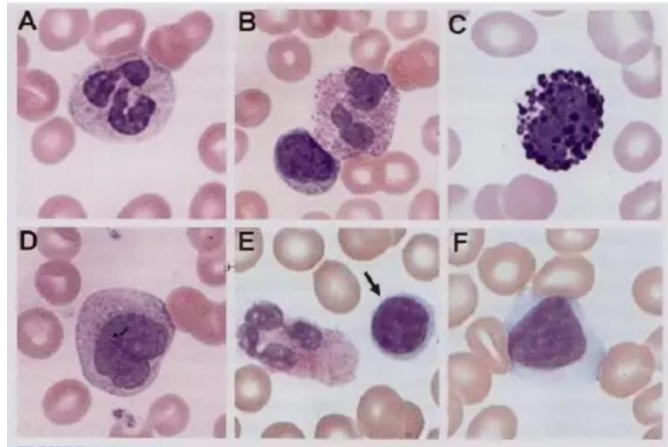
Gambar 2 Morfologi eritrosit

Sumber : Wahyu (2017)

Eritrosit atau sel darah merah merupakan komponen dalam darah yang memainkan peran penting dalam transportasi gas pernapasan. Eritrosit berbentuk seperti cakram bikonkaf, datar dan cekung di kedua sisi, tanpa inti sel, dengan diameter sekitar 7,5 mikrometer dan ketebalan rata-rata 2,0 mikrometer. Sitoplasma eritrosit mengandung hemoglobin, protein yang mengikat dan mengangkut oksigen dari paru-paru ke semua jaringan tubuh serta mengangkut karbondioksida dari jaringan kembali ke paru-paru untuk dikeluarkan melalui pernapasan (Nurhayati dkk., 2022).

Jumlah eritrosit pada orang dewasa berkisar antara 3,5 hingga 5 juta sel per milimeter kubik darah dengan usia hidup sekitar 120 hari. Selama siklus hidupnya, eritrosit tetap berada dalam sistem pembuluh darah dan tidak meninggalkannya. Pembentukan eritrosit terjadi di sumsum tulang melalui proses eritropoiesis yang dirangsang oleh eritropoiten, hormon yang diproduksi oleh ginjal untuk merangsang pematangan dan pembentukan sel darah merah (Firani, 2018).

2) Leukosit (sel darah putih/SDP) atau *white blood cell* (WBC)



Gambar 3 Morfologi leukosit

Sumber : Nurhayati dkk., (2022)

Keterangan : a) Neutrofil segmen, b) Eosinofil, c) Basofil, d) Monosit, e) Limfosit, f) Limfosit atipik)

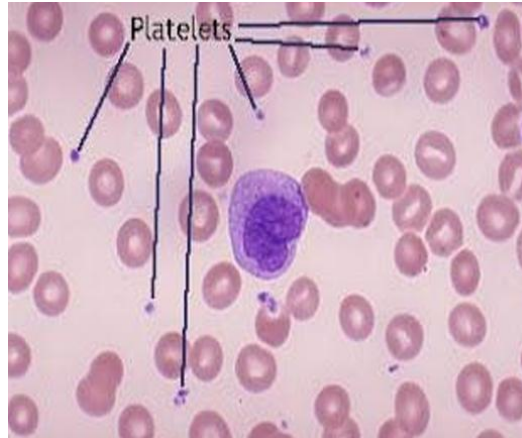
Leukosit atau sel darah putih adalah sel yang memiliki inti dan memainkan peran krusial dalam pertahanan tubuh terhadap berbagai infeksi. Berdasarkan keberadaan granula dalam sitoplasma, leukosit dibagi menjadi dua kategori utama, yaitu granulosit dan agranulosit. Granulosit mencakup neutropil, eosinopil, dan basopil, sementara agranulosit terdiri dari limfosit dan monosit. Di antara semua jenis leukosit, neutropil adalah yang paling sering ditemukan dalam darah tepi, sedangkan basopil adalah yang paling jarang. Monosit adalah yang terbesar dalam ukuran, sedangkan limfosit adalah yang terkecil (Nurhayati dkk., 2022).

Setiap tipe leukosit memiliki peran yang berbeda dalam sistem kekebalan tubuh. Neutropil melawan infeksi akut melalui proses fagositosis terhadap mikroorganisme kecil seperti bakteri dan jamur. Monosit juga memiliki kemampuan fagositik, tetapi lebih efektif dalam menghadapi partikel yang lebih besar, dan akan berkembang menjadi makrofag di jaringan tubuh. Eosinopil

berperan dalam respons imun yang bersifat kronis, seperti pada infeksi parasit, reaksi alergi, dan asma. Sedangkan limfosit berfungsi dalam sistem kekebalan yang adaptif dengan memproduksi antibodi saat terpapar antigen, dan basofil terlibat dalam reaksi alergi dan peradangan (Nurhayati dkk., 2022).

Secara umum, jumlah sel darah putih pada manusia berkisar antara 4.000 hingga 11.000 sel dalam setiap milimeter kubik darah. Komposisi sel-selnya terdiri dari neutrofil 55%, limfosit 36%, monosit 6%, eosinofil 1-2%, dan basofil 0-1%. Meskipun angkanya lebih rendah dibandingkan sel darah merah, sel darah putih memiliki peranan yang sangat penting dalam sistem imun tubuh, terutama melalui kemampuannya dalam melakukan fagositosis terhadap kuman serta dalam proses penyembuhan luka (Firani, 2018).

3) Trombosit (butir pembeku) atau platelet



Gambar 4 Trombosit

Sumber : Nurhayati dkk., (2022)

Trombosit atau yang dikenal sebagai keping darah adalah partikel sel kecil berbentuk bulat dengan ukuran sekitar 2 hingga 4 mikrometer dan tidak memiliki inti. Sel-sel ini berasal dari pemecahan sitoplasma megakariosit, yang merupakan sel besar yang ada di sumsum tulang. Setelah megakariosit mencapai kematangan,

Sebagian sitoplasmanya dilepaskan menjadi trombosit yang kemudian beredar dalam aliran darah. Jumlah trombosit yang dianggap normal berkisar antara 150.000 hingga 400.000 sel per microliter darah, dengan umur hidup sekitar 5 hingga 10 hari (Nurhayati dkk., 2022).

Trombosit memainkan peran krusial dalam hemostasis, yaitu proses pembekuan darah. Ketika terjadi kerusakan pada pembuluh darah, trombosit dengan segera menempel pada lokasi luka dan membentuk sumbat trombosit untuk menutup kebocoran. Granula yang ada di dalam trombosit mengandung berbagai faktor koagulasi yang mempercepat proses pembekuan. Trombosit yang sudah tua akan dikeluarkan dari sirkulasi darah, terutama melalui makrofag yang ada di limpa (Firani, 2018).

B. Hemoglobin

1. Definisi hemoglobin

Hemoglobin (Hb) merupakan salah satu bagian dari sel darah merah (eritrosit). Heme adalah senyawa porfirin yang sangat bergantung pada keberadaan zat besi, sedangkan globin adalah protein tetramer yang berperan dalam mengikat molekul non-protein lainnya (heme). Oleh karena itu, keberadaan hemoglobin dalam darah sangat tergantung pada asupan zat besi dan protein dari makanan sehari-hari. Jika asupan tersebut mencukupi, maka hemoglobin akan dapat melaksanakan fungsinya dalam pengangkutan oksigen di dalam tubuh (Siregar dkk., 2023). Dua transportasi yang penting adalah mengantarkan oksigen ke berbagai jaringan tubuh dan proses pengangkutan balik untuk membawa karbondioksida serta proton dari seluruh tubuh menuju saluran pernapasan untuk dibuang melalui hidung (Proverawati, 2015). Tingkat hemoglobin yang rendah dalam eritrosit akan mengurangi

kemampuan eritrosit untuk mendistribusikan oksigen ke seluruh jaringan tubuh, sehingga dapat menyebabkan anemia (Gunadi dkk., 2016).

Tingkat hemoglobin dipengaruhi oleh berbagai aspek, seperti tingkat aktivitas fisik, kebiasaan makan, waktu tidur, dan jenis kelamin. Keteraturan tidur yang buruk atau begadang bisa menurunkan tingkat hemoglobin dan berpotensi menyebabkan anemia, karena tubuh tidak dapat menjaga kestabilan fisiologisnya. Aktivitas fisik juga berkontribusi pada perubahan kadar hemoglobin. Latihan yang dilakukan dengan intensitas rendah hingga sedang dapat memengaruhi kadar hemoglobin, sedangkan aktivitas dengan intensitas sedang hingga tinggi dapat menyebabkan variasi karena adanya perubahan pada volume plasma, pH darah, dan hemolisis yang terjadi di dalam pembuluh darah. Peningkatan tingkat metabolisme saat berolahraga menghasilkan penumpukan ion hidrogen serta asam laktat yang dapat menurunkan pH darah. Saat pH menurun, kemampuan hemoglobin untuk mengikat oksigen jadi berkurang, sehingga terjadi peningkatan pengeluaran oksigen ke jaringan, terutama ke otot (Gunadi dkk., 2016).

2. Struktur hemoglobin

Hemoglobin adalah molekul protein yang rumit, terdiri dari empat rantai polipeptida yang dikenal sebagai globin, serta empat kelompok heme yang masing-masing mengandung satu atom besi. Pada orang dewasa, tipe hemoglobin yang umum (HbA) terbuat dari dua rantai alfa dan dua rantai beta yang terikat dengan cara nonkovalen. Setiap subunit memiliki struktur yang mirip dan berat molekuler sekitar 16.000 Dalton, sehingga total berat tetramer mencapai kurang lebih 64.000 Dalton. Pada bayi, jenis hemoglobin yang paling banyak ditemukan adalah HbF,

yang terdiri dari dua rantai alfa dan dua rantai gamma, sebelum akhirnya digantikan oleh HbA seiring dengan pertumbuhannya (Firdayanti dkk., 2023).

Kelompok heme dalam setiap subunit terdiri dari cincin porifirin berbentuk tetrapirrol yang berisi atom Fe^{2+} di bagian tengah. Struktur porifirin ini terdiri dari empat cincin pirol yang terhubung satu sama lain, serta memiliki rantai samping yang berupa gugus metil, venil, dan propionate. Kehadiran atom besi dalam heme memberikan kemampuan kepada hemoglobin untuk mengikat dan melepaskan molekul oksigen dan karbondioksida selama proses transportasi gas dalam darah. Heme yang ada, hemoglobin pada orang dewasa memiliki kemampuan untuk mengikat hingga empat molekul oksigen secara sekaligus. Konfigurasi tetramerik dan karakteristik pengikatan nonkovalen antar subunit inilah yang menjadikan hemoglobin sangat efisien dalam proses pertukaran gas di jaringan tubuh (Yahya, 2018).

3. Fungsi hemoglobin

Hemoglobin memainkan peran krusial dalam sirkulasi darah, khususnya dalam proses pertukaran gas antara oksigen (O_2) dan karbondioksida (CO_2) di berbagai jaringan tubuh. Oksigen yang terikat pada sel darah merah memberikan warna merah pada darah, sehingga penurunan tingkat hemoglobin umumnya berdampak langsung pada fungsi biologis tubuh. Ketika kadar hemoglobin menurun, seseorang dapat merasakan gejala seperti lemas, pusing, mudah lelah, sesak napas, dan dalam kondisi tertentu dapat berkembang menjadi anemia atau bahkan polisitemia. Oleh sebab itu, pengawasan kadar hemoglobin dan identifikasi penyebab penurunan tersebut menjadi langkah penting dalam menjaga kesehatan (Lestari, 2019).

Menurut Departemen Kesehatan Republik Indonesia dalam Lestari (2019) menjelaskan bahwa hemoglobin memiliki beberapa fungsi, yakni:

- a. Mengatur pertukaran oksigen dengan karbondioksida di jaringan tubuh.
- b. Mengangkut oksigen dari paru-paru ke seluruh jaringan sebagai sumber energi.
- c. Membawa kembali karbondioksida hasil metabolisme ke paru-paru untuk disingkirkan.

Kadar hemoglobin sering digunakan sebagai indikator untuk menilai apakah terdapat kekurangan darah. Nilai di bawah batas normal menunjukkan adanya kondisi anemia.

4. Kadar hemoglobin

Menurut Kementerian Kesehatan Republik Indonesia tahun 2024, nilai normal kadar hemoglobin, yaitu :

Tabel 1
Nilai Normal Hemoglobin

Kelompok	Jenis Kelamin	Nilai Normal
Dewasa	Laki-laki	13,0 – 17,0 g/dL
	Perempuan	12,0 – 16,0 g/dL

5. Faktor yang memengaruhi kadar hemoglobin

Menurut Nurwidiyanti dan Afrida (dalam Nareshwari, 2024), ada berbagai macam faktor yang mempengaruhi level hemoglobin dalam tubuh seseorang, antara lain :

- a. Usia

Seiring bertambahnya usia, kemampuan tubuh untuk menghasilkan eritrosit berkembang dengan lambat. Pada individu yang lebih tua, aktivitas sumsum tulang

dalam memproduksi sel darah merah biasanya mengalami penurunan, yang menyebabkan kadar hemoglobin sering kali berada di bawah ambang normal.

b. Jenis kelamin

Pria cenderung memiliki kadar hemoglobin yang lebih tinggi dibandingkan wanita. Penyebabnya adalah karena wanita mengalami siklus menstruasi setiap bulan, yang membuat mereka lebih mungkin mengalami penurunan kadar hemoglobin.

c. Asupan zat besi

Ketersediaan zat besi dalam makanan sehari-hari memiliki pengaruh besar pada produksi hemoglobin. Makanan dengan kandungan zat besi yang tinggi sangat penting untuk proses sintesis eritrosit, sehingga membantu meningkatkan kadar hemoglobin dalam sistem peredaran darah.

d. Kelainan pada eritrosit

Eritrosit yang sehat memiliki bentuk cakram bikonkaf tanpa inti, yang mendukung kemampuan mereka dalam mengikat oksigen dan melewati kapiler yang sempit dengan mudah. Penyimpangan dalam ukuran, bentuk, atau warna eritrosit, yang dapat dilihat melalui apusan darah tepi dengan teknik pewarnaan Wright atau Romanowsky, dapat mempengaruhi efektivitas sel dalam membawa oksigen serta berkontribusi terhadap perubahan kadar hemoglobin.

e. Gaya hidup

Kebiasaan buruk seperti merokok, mengonsumsi alkohol, kurang tidur, dan minimnya aktivitas fisik dapat memberikan dampak negatif pada kadar hemoglobin. Cara hidup yang tidak sehat cenderung mengganggu fungsi fisiologis tubuh, termasuk proses pembuatan sel darah merah.

f. Riwayat penyakit

Berbagai kondisi kesehatan, seperti anemia, talasemia, leukemia, tuberkulosis memiliki hubungan erat dengan fluktuasi kadar hemoglobin.

6. Faktor yang berpengaruh pada pemeriksaan kadar hemoglobin

Selain dipengaruhi oleh kondisi fisiologis dan penyakit yang dialami individu, hasil pemeriksaan kadar hemoglobin juga dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor yang berkaitan dengan proses pemeriksaan di laboratorium. Apabila faktir-faktor tersebut tidak dikendalikan dengan baik, maka hasil pemeriksaan yang dilakukan menjadi tidak akurat.

a. Faktor pra-analitik

Faktor pra-analitik merupakan faktor yang terjadi sebelum proses pemeriksaan dilakukan dan merupakan salah satu penyebab terbesar terjadinya kesalahan dalam pemeriksaan laboratorium. Faktor ini meliputi teknik pengambilan darah, jenis tabung dan antikoagulan yang digunakan, serta cara penanganan sampel sebelum diperiksa. Penggunaan antikoagulan EDTA yang tidak tepat atau homogenisasi sampel yang kurang dapat memengaruhi hasil pemeriksaan hemoglobin. Selain itu, kesalahan pada saat pengambilan darah dapat menyebabkan hemolisis yang berdampak pada hasil pemeriksaan (Plebani, 2017).

b. Kondisi sampel darah

Kondisi sampel darah sangat menentukan keakuratan hasil pemeriksaan kadar hemoglobin. Sampel yang mengalami hemolisis dapat mengganggu proses pengukuran, khususnya pada metode pemeriksaan berbasis fotometri. Adanya gumpalan darah (clot) dalam sampel EDTA juga dapat menyebabkan Sebagian sel darah tidak terukur, sehingga hasil pemeriksaan menjadi tidak representative.

Selain itu, adanya zat interferen seperti lipemia atau kadar bilirubin yang tinggi dapat memengaruhi pembacaan hasil oleh alat pemeriksaan (Kemenkes RI, 2018).

c. Faktor analitik

Faktor analitik berkaitan langsung dengan proses pemeriksaan yang dilakukan di laboratorium, meliputi metode yang digunakan, kondisi alat, serta kualitas reagen. Pada metode cyanmethemoglobin, ketelitian dalam penggunaan pipet, waktu inkubasi, dan kesesuaian panjang gelombang pengukuran sangat memengaruhi hasil pemeriksaan. Sementara itu, pada pemeriksaan menggunakan *hematology analyzer*, ketepatan hasil dipengaruhi oleh kondisi alat, reagen yang digunakan, serta pelaksanaan kalibrasi dan quality control secara rutin. Quality control yang tidak dilakukan dengan baik dapat menyebabkan hasil pemeriksaan menjadi menyimpang.

7. Pengukuran kadar hemoglobin

Hemoglobin merupakan salah satu parameter penting dalam analisis darah rutin yang berfungsi untuk mengevaluasi kondisi kesehatan pasien. Tes ini membantu dalam mengidentifikasi masalah seperti rendahnya kadar hemoglobin yang disebut anemia, serta mengawasi perkembangan penyakit yang berkaitan dengan anemia dan polisitemia (Hoffbrand, 2020). Hemoglobin juga berfungsi sebagai salah satu indikator utama dalam proses penegakan diagnosis anemia. Rentang nilai hemoglobin normal adalah antara 12,0 – 16,0 g/dL untuk wanita dewasa dan 13,0 – 17,0 g/dL untuk pria dewasa.

Pengukuran kadar hemoglobin dapat dilakukan dengan berbagai teknik, termasuk tallquist, Sahli, Kuprsulfat, cyanmethemoglobin, impedansi listrik, serta fotometri menggunakan *hematology analyzer* (sulfoksihemoglobin). Dalam

pengukuran ini, penting untuk menjaga kestabilan sampel darah agar hasil yang didapat tidak melesat. Beberapa aspek yang perlu diperhatikan meliputi temperatur, lama penyimpanan, potensi kontaminasi, paparan cahaya dan penguapan.

C. Metode Manual Cyanmethemoglobin

Menurut Siregar dkk., (dalam Dewi, 2025) menjelaskan bahwa metode cyanmethemoglobin adalah metode pemeriksaan hemoglobin yang dianjurkan oleh ICSH (*International Committee for Standardization in Hematology*). Metode ini memiliki tingkat akurasi yang tinggi dengan tingkat ketidakpastian hasil sekitar 2%. Metode ini dianjurkan dalam penetapan kadar hemoglobin di laboratorium karena larutan standar cyanmethemoglobin bersifat stabil, mudah diperoleh, serta mampu mengukur hampir seluruh jenis hemoglobin kecuali sulfuhemoglobin (Arifin dkk., 2017).

Metode ini menggunakan reagen Drabkin yang mengandung kalium ferisianida dan kalium sianida dan saat ditambahkan ke sampel darah, kalium ferisianida mengubah bentuk besi dalam hemoglobin dari ferro (Fe^{2+}) ke ferri (Fe^{3+}), sehingga menghasilkan methemoglobin (Hiru, 2018). Methemoglobin yang terbentuk kemudian bereaksi dengan kalium sianida untuk menghasilkan cyanmethemoglobin yang memiliki warna yang stabil, dimana intensitas warna tersebut sebanding dengan kadar hemoglobin dalam darah dan kemudian diukur dengan menggunakan fotometer pada panjang gelombang 540 nm.

1. Prinsip

Prinsip pemeriksaan hemoglobin metode cyanmethemoglobin melibatkan penggunaan reagen Drabkin yang mengandung kalium sianida dan kalium ferisianida, yang dicampurkan dengan darah yang sudah diberi antikoagulan

EDTA. Proses kimia yang berlangsung mengubah ion Fe dalam hemoglobin dari bentuk ferro (Fe^{2+}) menjadi bentuk ferri (Fe^{3+}) melalui interaksi ferrisianida, yang kemudian menghasilkan methemoglobin. Selanjutnya, methemoglobin bereaksi dengan kalium sianida untuk menghasilkan cyanmethemoglobin, yang memiliki warna yang stabil. Intensitas warna yang dihasilkan akan berbanding lurus dengan kadar hemoglobin dalam darah, dan pengukurannya dilakukan menggunakan fotometer pada panjang gelombang 540 nm (Susanti dkk., 2020).

2. Prosedur kerja

Pelaksanaan metode cyanmethemoglobin diawali dengan pembuatan reagen Drabkin yang mengandung kalium ferrisianida 200 mg/L, kalium sianida 50 mg/L, serta kalium dihidrogen fosfat 140 mg/L yang dilarutkan dalam air destilasi dengan pH berkisar 7,0–7,4. Sampel darah, baik berupa 20 μL darah EDTA maupun darah kapiler, kemudian dicampurkan dengan 5 mL reagen Drabkin. Campuran tersebut diinkubasi pada suhu kamar ($18\text{--}25^\circ\text{C}$) selama sedikitnya 10 menit untuk memastikan seluruh hemoglobin terkonversi sempurna. Setelah itu, nilai absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm.

3. *Quality control*

Quality Control (QC) pada peralatan laboratorium sangat penting untuk mengevaluasi kinerja alat sekaligus memastikan bahwa proses pengendalian mutu berjalan dengan efisien, sehingga hasil analisis yang dihasilkan tetap terjamin akurasinya. Implementasi QC bertujuan untuk meminimalkan kemungkinan terjadinya kesalahan dan membantu menemukan lokasi kesalahan itu terjadi. Pengendalian mutu peralatan sebaiknya dilaksanakan setiap hari dan hasilnya dicatat serta dilaporkan dalam interval tertentu, sebaiknya setiap bulan. Tujuan dari

langkah ini adalah untuk memastikan bahwa analisis yang dihasilkan oleh instrument selalu memenuhi standar, baik dari segi teknik, alat, maupun bahan kimia yang digunakan. Dengan demikian, data control yang diperoleh bisa dijadikan pedoman dalam mengevaluasi akurasi serta ketepatan kinerja alat (Nareshwari, 2024).

Adapun langkah-langkah pelaksanaan QC metode cyanmethemoglobin:

1. Persiapan alat dan reagen, yaitu menyalakan spektrofotometer, menyiapkan larutan Drabkin serta control hemoglobin.
2. Pemeriksaan reagen, dengan memastikan bahwa larutan Drabkin masih layak digunakan dan tidak mengalami perubahan warna.
3. Kalibrasi alat, menggunakan larutan Drabkin sebagai blanko pada panjang gelombang 540 nm.
4. Pengukuran control, yaitu mencampurkan control hemoglobin dengan larutan Drabkin, kemudian membaca absorbansinya setelah reaksi berlangsung.
5. Evaluasi hasil kontrol, dengan membandingkan nilai yang diperoleh dengan rentang nilai kontrol yang ditetapkan.

Apabila nilai kontrol sesuai dengan standar yang telah ditentukan, maka alat cyanmethemoglobin pada hari itu bisa dianggap beroperasi dengan baik dan siap dipakai untuk pemeriksaan. Di sisi lain, jika nilai kontrol tidak memenuhi standar yang ditetapkan meskipun telah dilakukan beberapa kali pengulangan, maka alat tersebut tidak dapat digunakan karena hasil pengukurannya dianggap tidak sah.

4. Kelebihan dan kekurangan metode cyanmethemoglobin

a. Kelebihan metode cyanmethemoglobin

1) Akurasi tinggi

Metode ini telah ditetapkan sebagai gold standar oleh organisasi Internasional, seperti *International Council for Standardization in Haematology* (ICSH) dan *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI), karena tingkat akurasi yang unggul. Teknik ini mampu mendeteksi hampir seluruh bentuk hemoglobin termasuk oksihemoglobin, deoksihemoglobin, karboksihemoglobin, serta methemoglobin dengan pengecualian pada sulfhemoglobin, sehingga hasil yang diperoleh sangat akurat.

2) Presisi sangat baik

Dengan koefisien variasi (CV) kurang dari 2%, metode ini menunjukkan tingkat reproduktibilitas yang konsisten apabila prosedur dijalankan sesuai standar yang berlaku.

3) Standarisasi internasional

Metode ini memiliki standar referensi internasional, yaitu ICSH HiCN standard, yang memungkinkan proses kalibrasi dan penyelarasan hasil antar-laboratorium di berbagai negara.

b. Kekurangan metode cyanmethemoglobin

1) Bahan kimia beracun

Metode ini melibatkan kalium sianida, yaitu zat yang sangat beracun sehingga memerlukan penanganan dengan prosedur keamanan ketat, penyimpanan khusus, serta penerapan protokol dekontaminasi yang sesuai.

2) Waktu analisis lebih lama

Proses pemeriksaan membutuhkan waktu inkubasi sekitar 10 menit agar warna dapat terbentuk sempurna, sehingga relatif lebih lambat dibandingkan metode otomatis yang mampu memberikan hasil hanya dalam hitungan detik.

3) Prosedur manual

Pelaksanaannya rentan terhadap kesalahan teknis, misalnya ketidaktepatan dalam pipet, pengenceran, maupun ketidakkonsistenan waktu inkubasi, yang dapat memengaruhi keakuratan hasil.

4) Biaya dan kompleksitas tinggi

Metode ini membutuhkan peralatan spektrofotometer yang harus dikalibrasi secara teratur, operator yang memiliki keahlian khusus, serta biaya tambahan untuk penanganan dan pembuangan limbah beracun secara aman.

D. Metode Otomatis *Hematology Analyzer Sysmex XP-100*

Hematology analyzer Sysmex XP-100 adalah salah satu alat otomatis untuk pemeriksaan hematologi yang umum digunakan di laboratorium klinik guna menganalisis darah secara rutin. Alat ini bekerja secara otomatis dengan prinsip impedansi listrik untuk penghitungan dan pengukuran ukuran sel (seperti eritrosit, leukosit, dan trombosit) serta fotometri pada panjang gelombang 525 - 555 nm untuk pengukuran hemoglobin melalui metode SLS-Hemoglobin (*Sodium Lauryl Sulfate*) non-sianida (Arini dkk., 2024).

Secara umum, Sysmex XP-100 memiliki kemampuan untuk melakukan pemeriksaan darah lengkap (*Complete Blood Count/CBC*) yang mencakup berbagai parameter seperti sel darah merah (eritrosit), sel darah putih (leukosit), trombosit, serta pengukuran indeks sel darah merah seperti MCV, MCH, dan MCHC. Selain

itu, pengukuran kadar hemoglobin pada Sysmex XP-100 dilakukan melalui metode non-sianida (metode SLS-Hb) yang lebih ramah lingkungan dibandingkan metode cyanmethemoglobin, karena tidak menggunakan reagen beracun seperti kalium sianida.

Dalam operasionalnya, Sysmex XP-100 termasuk alat yang mudah digunakan dengan volume sampel yang dibutuhkan cukup kecil (sekitar 20-40 μL). Proses pengukuran berlangsung secara otomatis setelah sampel dimasukkan. Pemeliharaan alat pun tidak rumit karena dilengkapi dengan program pembersihan otomatis (auto-cleaning) yang membantu mencegah penyumbatan pada aperture. Selain itu hasil analisis dari alat ini tidak hanya berupa angka, tetapi juga menampilkan histogram yang menggambarkan sebaran ukuran sel. Grafik ini membantu memberikan gambaran awal apakah ada kelainan pada bentuk atau ukuran sel darah. Hal ini menjadikan Sysmex XP-100 sangat cocok untuk digunakan di laboratorium yang menerima jumlah sampel sedang hingga tinggi, baik di rumah sakit maupun fasilitas kesehatan lainnya.

1. Prinsip

Sysmex XP-100 bekerja berdasarkan dua prinsip utama, yaitu metode impedansi listrik untuk menghitung sel darah dan metode SLS-Hb untuk mengukur kadar hemoglobin. Dalam pemeriksaan sel darah, alat ini mengalirkan darah melalui lubang kecil yang dialiri arus listrik. Ketika sel lewat, aliran listrik akan sedikit terhambat. Setiap hambatan yang muncul dihitung sebagai satu sel, sedangkan besar kecilnya hambatan menunjukkan ukuran sel tersebut. Dengan cara ini, alat dapat mengetahui jumlah eritrosit, leukosit, dan trombosit secara cepat dan akurat.

Untuk pemeriksaan hemoglobin, XP-100 menggunakan reagen bernama *Sodium Lauryl Sulfate* (SLS). Zat ini memecah sel darah merah, lalu bereaksi dengan hemoglobin sehingga membentuk senyawa berwarna stabil. Warna tersebut kemudian diukur oleh alat menggunakan metode fotometri. Semakin kuat warnanya, semakin tinggi kadar hemoglobin dalam sampel darah.

2. Prosedur kerja

- a. Tekan tombol (Sample No.) pada layer untuk memasukkan nomor identitas pasien.
- b. Homogenkan sampel darah pasien dengan baik dengan membolak-balik tabung sampel.
- c. Buka tutup tabung dan tekan tombol start untuk memulai proses penghisapan sampel.
- d. Setelah terdengar bunyi *beep* dua kali, alat akan mulai menganalisis sampel.
- e. Setelah bunyi *beep* kedua, pindahkan sampel dari bawah, kemudian tunggu hasil pengukuran tampil di layer.

3. *Quality control*

Kontrol kualitas (*Quality Control/QC*) adalah suatu prosedur yang dilaksanakan untuk mengevaluasi pelaksanaan pengujian demi memastikan bahwa system mutu berfungsi dengan baik. Melalui QC, hasil uji laboratorium bisa dikonfirmasi, penyimpangan dapat dikenali sekaligus diminimalkan, serta sumber terjadinya kelainan dapat diidentifikasi (Nareshwari, 2024). Kualitas dari hasil laboratorium pada dasarnya menunjukkan kualitas pelayanan yang diberikan, yang dinilai melalui proses audit sebagai bagian dari kegiatan penilaian dan perbaikan kinerja. Audit ini bertujuan untuk meningkatkan kinerja laboratorium sekaligus

memastikan penggunaan sumber daya dilakukan dengan efisien. Standar pelayanan laboratorium ditentukan melalui penilaian menyeluruh terhadap hasil pemeriksaan, dan salah satu elemen penting penentunya adalah kualitas dari parameter analisis yang dilakukan (Purnama, 2021).

Langkah-langkah pelaksanaan QC alat *hematology analyzer* Sysmex XP-100, yaitu:

- a. Melakukan *cleansing* alat melalui program komputer.
- b. Melakukan *restart* alat.
- c. Menyiapkan reagen kontrol dengan nilai tinggi.
- d. Mengukur sampel menggunakan reagen kontrol tersebut.
- e. Mencatat hasil dan menginterpretasikannya menggunakan Westgard Rules.

Hasil pengukuran control inilah yang akan menentukan kinerja alat layak digunakan untuk pemeriksaan lebih lanjut atau tidak, berdasarkan kesesuaian nilai kontrol yang diperoleh.

4. Kelebihan dan kekurangan *hematology analyzer* Sysmex XP-100

- a. Kelebihan metode Sysmex XP-100

- 1) Kecepatan dan efisiensi tinggi

Alat ini mampu memproses hingga 60 sampel per jam hanya dengan volume darah minimal 20 - 40 μL , sehingga dapat meningkatkan efisiensi kerja laboratorium.

- 2) Teknologi canggih

Menggunakan prinsip impedansi listrik untuk perhitungan sel darah dan metode non-sianida SLS-Hb untuk pengukuran hemoglobin, sehingga hasil pemeriksaan cukup akurat dan konsisten.

3) Kemudahan pengoperasian

Dilengkapi sistem pengoperasian yang sederhana serta fitur *auto-cleaning*, sehingga mudah digunakan dan mengurangi kesalahan operator.

4) Kualitas hasil terjamin

Dilengkapi sistem *quality control* internal yang membantu menjaga konsistensi dan keandalan hasil pemeriksaan.

b. Kekurangan metode Sysmex XP-100

1) Biaya awal tinggi

Pengadaan alat beserta instalasinya membutuhkan investasi yang cukup besar.

2) Ketergantungan pada suplai listrik

Mebutuhkan aliran listrik yang stabil dan berkesinambungan, karena pemadaman berisiko menyebabkan gangguan fungsi alat.

3) Kapasitas sampel terbatas

Sysmex XP-100 memiliki kapasitas pemeriksaan yang terbatas karena proses analisis dilakukan secara satu per satu, sehingga kurang efisien untuk laboratorium dengan volume sampel tinggi dan lebih sesuai digunakan pada laboratorium beban kerja rendah.

4) Perawatan rutin yang rumit

Mebutuhkan perawatan berkala tertentu yang memerlukan teknisi bersertifikat, sehingga dapat menambah biaya operasional.