

Kajian terhadap Pemeriksaan Haemoglobin (Hb) Metode Sahli dan Talquist

Review on Haemoglobin Examination: Sahli and Talquist Methods

Ratna Indriawati

Bagian Fisiologi FK Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

Abstract

The prevalence of anemia among pregnant women and under-five-year-old children in Indonesia is still very high. Hemoglobin (Hb) estimation assists in detecting anemia. There are two methods on measuring Hb by colorimetrics i.e. Sahli and Talquist.

The objective of this study was to compare the value of Sahli and Talquist methods by using the agreement test.

This study was conducted in Physiology Laboratory, Faculty of Medicine, Muhammadiyah University of Yogyakarta. A total number of 39 students who took Physiology were enrolled to this study. The Hb level measurement was conducted by trained students. Two students conducted the Hb level measurement using Sahli and Talquist methods randomly.

Subjects of the study were 39 students consisted of 18 men and 21 women. The age mean was $20 \pm 2,2$. Using Talquist method, the Hb levels among men were significantly higher than women ($p=0,02$). Kappa coefficient was calculated to know the agreement between Sahli and Talquist methods. The Hb levels were categorized into two groups using cut-off point 12 mg/dl, 10 mg/dl and 8 mg/dl, respectively. The agreement based on those three cut-off point was low, kappa coefficient were 0,24, 0,20 and 0,22, respectively.

There were differences on the Hb level measurement between Sahli and Talquist methods (the agreement test with $K=0,24$; $K=0,22$ and $K=0,20$ were low).

Key words : Haemoglobin (Hb) level, Sahli, Talquist.

Abstrak

Prevalensi anemia pada wanita hamil dan anak-anak di bawah lima tahun di Indonesia masih sangat tinggi. Untuk menentukan adanya anemia perlu pemeriksaan kadar hemoglobin (Hb). Pemeriksaan kadar Hb secara kolorimetris ada 2 cara yaitu, metode Sahli dan Talquist

Tujuan dari penelitian ini adalah membandingkan hasil pengukuran kadar Hb menggunakan metode Sahli dan Talquist dengan uji kesepakatan.

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Fisiologi, Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Yogyakarta. Jumlah subyek 39 orang mahasiswa yang mengambil matakuliah fisiologi. Mahasiswa sebelumnya dilatih dahulu. Dua orang mahasiswa melakukan pemeriksaan Hb dengan metode Sahli dan Talquist, secara acak.

Subyek penelitian ini adalah 39 mahasiswa, terdiri dari 18 laki-laki dan 21 perempuan, yang berusia rata-rata $20 \pm 2,2$ tahun. Pemeriksaan kadar Hb metode Talquist didapatkan perbedaan bermakna antara kadar Hb laki-laki dan perempuan ($p=0,02$). Perhitungan dengan koefisien Kappa untuk mengetahui kesepakatan antara metode Sahli dengan Talquist. Kadar Hb dikategorikan dalam 2 kelompok menggunakan cut-off point 12 g/dl, 10 g/dl dan 8 g/dl. Uji kesepakatan pada 3 cut-off point tersebut rendah, koefisien Kappa 0,24, 0,20 dan 0,22.

Terdapat perbedaan hasil pemeriksaan kadar Hb metode Sahli dan Talquist (uji kesepakatan dengan $K=0,24$, $K=0,22$ dan $K=0,20$ rendah).

Kata kunci: kadar haemoglobin (Hb), Sahli, Talquist.

Pendahuluan

Anemia adalah bukan suatu penyakit tetapi suatu keadaan yang ditandai dengan menurunnya kadar hemoglobin (Hb) dibawah nilai normal. Biasanya diikuti pula dengan penurunan nilai hematokrit. Kadar Hb bergantung pada umur, jenis kelamin, letak geografis dan metode pemeriksaan yang dipakai (Evatt, 1992 ; Reich, 1984).

Untuk menentukan adanya anemia perlu diperiksa terlebih dahulu kadar Hb, kemudian mencari penyebab anemia sehingga pengobatan dapat dilaksanakan dengan tepat. Untuk mencari penyebab anemia harus dilakukan pendekatan diagnostik secara bertahap dengan mencari data klinis, pemeriksaan fisik dan laboratorium (Evatt, 1992 ; Reich, 1984).

Kekhususan fungsi utama Hb adalah kemampuannya mengikat oksigen dengan lemah dan secara reversibel. Oksigen ini tidak berikatan dengan besi fero yang bervalensi dua dalam molekul Hb, tetapi berikatan lemah dengan dua dari enam valensi koordinasi dari atom besi. Setiap molekul Hb mengandung 4 hem, oleh karena itu 1 molekul Hb terdiri dari 4 atom besi dan dapat mengikat 4 molekul oksigen.

Terdapat 3 dasar penentuan kadar Hb dalam darah yang meliputi :

1. Menentukan ml O₂ yang dapat diikat oleh Hb (1,34 ml O₂ dapat diikat oleh 1 gram Hb)
2. Menentukan banyaknya CO₂ yang dapat diikat oleh Hb (1,34 ml CO₂ dapat diikat oleh 1 gram Hb)
3. Membandingkan intensitas warna Hb atau derivatnya dengan suatu standar yang telah diperinci secara kolorimetris

Secara kolorimetris ada 2 cara yaitu, metode Sahli dan metode Talquist. Pembentukan hematin asam merupakan salah satu cara penetapan Hb secara visual. Metode Sahli dilakukan dengan mengencerkan darah menggunakan larutan HCl sehingga Hb berubah menjadi hematin asam. Larutan campuran tersebut dilarutkan dengan akuades sampai warnanya sama dengan warna batang gelas standar, kadar Hb dapat ditentukan. Metode Talquist dilakukan dengan membandingkan warna darah di atas kertas hisap dengan warna standar. Perincian dan pembagian skala (dibandingkan dengan metode Sahli) yaitu 100% = 16 gram/100 ml. Cara ini tidak begitu akurat dan hanya untuk mengetahui kekurangan Hb secara kasar saja.

Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan hasil pengukuran kadar Hb dengan menggunakan metoda Sahli dan Talquist dengan uji kesepakatan.

Cara Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian *cross sectional* untuk mengetahui kesepakatan pengukuran Hb dengan menggunakan metode Sahli dan Talquist. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Yogyakarta. Responden penelitian adalah mahasiswa Fakultas

Kedokteran Universitas Muhammadiyah Yogyakarta yang sedang mengambil mata kuliah Ilmu Faal I.

Pada awal praktikum setiap mahasiswa dilatih cara melakukan pemeriksaan Hb dengan menggunakan metode Sahli dan Talquist. Setelah semua mengetahui prosedur pemeriksaan, tiap mahasiswa akan melakukan pemeriksaan Hb. Seorang mahasiswa diambil darahnya untuk dua pemeriksaan sekaligus. Darah pertama adalah untuk pemeriksaan Hb dengan menggunakan metode Sahli sedang darah berikutnya dengan menggunakan Talquist. Pemeriksaan Sahli dan Talquist masing-masing dilakukan oleh seorang mahasiswa. Sehingga hasilnya tidak akan saling mempengaruhi.

Pengambilan darah dilakukan pada jari manis kiri, apabila gagal akan dilakukan pada jari tengah dan kemudian pada jari telunjuk. Hal ini dilakukan untuk meminimalkan risiko terjadinya infeksi.

- Pemeriksaan Sahli

- Tabung diisi dahulu dengan 0,1 N HCl sampai tanda 2. Kemudian darah dihisap dengan pipet sampai tanda 20 dan sebelum menjendal segera dihembuskan ke dalam tabung. Untuk membersihkan sisa-sisa darah di dalam pipet maka HCl di dalam tabung dihisap dan dihembuskan lagi sampai 3 kali.
- Ditunggu dahulu 1-2 menit. Berturut-turut akan terjadi hemolisis eritrosit, dan Hb yang keluar akan dipecah menjadi hem dan globin. Kemudian hem dengan HCl akan membentuk hematin-HCl. Hematin-HCl merupakan suatu senyawa yang lebih stabil di udara dibandingkan Hb dan berwarna coklat.
- Dengan pipet penetes hematin-HCl diencerkan sampai warnanya sesuai dengan warna standar. Kadar Hb dapat ditentukan dengan membaca skala pada tabung.

- Pemeriksaan Talquist

- Darah dihisap dengan kertas hisap sampai meresap betul dan ditunggu 1-2 menit sampai semua Hb menjadi HbO₂, yang warnanya lebih tua dibandingkan warna darah di awal penghisapan di kertas saring.
- Kemudian bercak darah yang terjadi ditempatkan di bawah lubang dari skala berwarna untuk disamakan. Pembacaan hanya dapat dilakukan pada siang hari (cahaya matahari). Perincian dan pembagian skala (dibandingkan dengan metode Sahli) yaitu $100\% = 16 \text{ gram}/100 \text{ ml}$.

Semua prosedur yang dilakukan dibawah pengawasan asisten praktikum. Asisten akan mengumpulkan data dari anak yang dilakukan pemeriksaan kadar Hb-nya. Data yang dikumpulkan adalah nama, umur, jenis kelamin, kadar Hb Sahli dan kadar Hb Talquist.

Kemudian data diolah dengan menggunakan *SPSS for windows release 10.0.1 standard version*. Perbedaan antara dua rerata dihitung dengan menggunakan *t-test* sedangkan untuk mengetahui kesepakatan antara kedua metode pengukuran

Hb dengan menghitung koefisien kappa (k). Standar untuk menentukan kekuatan uji kesepakatan terlihat pada tabel 1.

Tabel 1. Standar Nilai Kappa yang Digunakan untuk Uji Kesepakatan pada Penelitian ini.

No	Nilai	Kappa (K)
1.	Sangat Bagus	> 0,75
2.	Bagus	0,4 – 0,75
3.	Rendah	< 0,4

(Eileiss, 1981)

Hasil

Penelitian ini diikuti oleh 39 responden yang terdiri dari 18 laki-laki dan 21 wanita. Rata-rata usia responden adalah 20 tahun dengan rentang 17 sampai 27 tahun. Semua responden diperiksa haemoglobinnya dengan metode Sahli dan Talquist.

Tabel 2. Karakteristik Responden (Rerata ± SD)

Karakteristik	Laki-laki	Perempuan	Total
Umur	20,2 ± 2,4 ^ψ	19,8 ± 2,1	20 ± 2,2
Kadar Hb			
• Sahli	11,4 ± 4,2	10,8 ± 2,7	11,1 ± 3,4
• Talquist	11,9 ± 1,3 [#]	10,5 ± 1,4	11,1 ± 1,5
Selisih Hb Sahli dan Talquist	3,0 ± 2,6	2,2 ± 1,6	2,6 ± 2,1

^ψ mean ± Standar deviasi

[#] Terdapat perbedaan yang bermakna antara laki-laki dan perempuan; t-test, p=0,02

Pada Tabel 2. menunjukkan pada pemeriksaan dengan metode Talquist terdapat perbedaan yang bermakna secara statistik antara rata-rata kadar Hb laki-laki dan wanita (p=0,02). Pada pemeriksaan dengan metode Sahli ternyata tidak terdapat perbedaan yang bermakna. Rata-rata kadar Hb dengan metode Sahli dibandingkan dengan rata-rata kadar Hb dengan metode Talquist tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna.

Tabel 3. Kesepakatan antara Metode Sahli dan Talquist dengan *Cutt-off Point* 12 mg/dl

	Talquist	Sahli
< 12	29	21
≥12	10	18
Jumlah	39	39
K=0,24		

Pada Tabel 3. kesepakatan antara metode Sahli dan Talquist dihitung dengan menggunakan *cut-off point* kadar Hb=12 mg/dl. Hasil menunjukkan adanya kesepakatan yang sangat rendah antara metode Sahli dan Talquist ($k=0,24$).

Tabel 4. Kesepakatan antara Metode Sahli dan Talquist dengan *Cutt-off Point* 10 mg/dl

	Talquist	Sahli
< 10	8	12
≥10	31	27
Jumlah	39	39
K=0,20		

Pada Tabel 4. perhitungan koefisien kappa dilakukan dengan cara menurunkan *cut-off point* kadar Hb menjadi 10 mg/dl didapatkan harga koefisien kappa 0,20. Hal ini juga masih menunjukkan adanya kesepakatan yang sangat rendah antara metode Sahli dan Talquist.

Tabel 5. Kesepakatan antara metode Sahli dan Talquist dengan *cut-off point* 8 mg/dl

	Talquist	Sahli
< 8	1	7
≥8	38	32
Jumlah	39	39
K=0,22		

Dengan menurunkan *cut-off point* menjadi 8 mg/dl (Tabel 5) ternyata pada metode Talquist tidak ada yang mempunyai kadar Hb yang kurang dari 8 g/dl, sedangkan dengan metode Sahli terdapat satu orang dengan kadar Hb kurang dari 8 g/dl. Kesepakatannya juga rendah dengan koefisien kappa= 0,22.

Pembahasan

Komponen utama eritrosit adalah protein hemoglobin (Hb) yang mengangkut O₂ dan CO₂ dan mempertahankan pH normal melalui serangkaian dapar intraseluler. Fungsi primer Hb dalam tubuh tergantung pada kemampuannya untuk berikatan dengan oksigen dalam paru-paru dan kemudian melepaskan oksigen ini ke kapiler jaringan. Kemampuan Hb mengikat Oksigen dengan lemah dan secara reversibel (Guyton, 1991).

Dalam satu eritrosit berisi sekitar 280 juta molekul Hb. Masing-masing molekul Hb mempunyai berat molekul 60.000 dan disusun sekitar 10.000 atom hidrogen, karbon, nitrogen, oksigen dan sulfur, serta 4 atom besi. Molekul-molekul Hb terdiri dari 2 pasang rantai polipeptida (globin) yang tersusun dari 574 unit asam amino dan 4 gugus hem, masing-masing mengandung sebuah atom besi. Konfigurasi ini memungkinkan pertukaran gas yang sangat sempurna (Sylvia, dan Lorraine, 1995; Martin, dkk, 1992).

Kadar Hemoglobin biasanya ditentukan secara kolorimetris. Pada penelitian ini pemeriksaan kadar Hb secara kolorimetris dengan metode Sahli dan Talquist. Hasil yang diperoleh memperlihatkan bahwa antara kedua cara pemeriksaan tersebut didapatkan kesepakatan pengukuran yang rendah. Efek visual dapat menyebabkan ketidakakuratan hasil pemeriksaan, Terdapat sekitar 15-30% kesalahan dengan teknik visual ini. Sumber-sumber kesalahan teknik kolorimetris meliputi : perbedaan kemampuan membandingkan warna, cahaya kurang jelas, kelelahan mata, peralatan yang kurang bersih, Pipet yang tidak akurat, pengisian pipet yang tidak akurat, standar warna kotor atau memudar, penilaian hasil tes yang tidak akurat. Hal ini dapat dikurangi dengan pemeriksaan kadar Hb dengan menggunakan *photoelectric absorpsimeter* (Baker, dan Silverton, 1980; WHO, 1995).

Eritrosit mengangkut hemoglobin, sedangkan hemoglobin mengangkut oksigen. Banyaknya oksigen yang diterima oleh jaringan tergantung pada kadar dan fungsi hemoglobin yang tersedia, pola aliran darah yang efektif, dan keadaan jaringan serta cairan yang menerima oksigen. Sintesis hemoglobin dimulai dalam eritroblast dan terus berlangsung sampai tingkat normoblast. Meskipun sel darah merah muda meninggalkan sumsum tulang dan masuk aliran darah, mereka terus membentuk hemoglobin dalam jumlah kecil pada hari berikutnya (Frances, dan Widmann, 1992).

Penetapan kadar Hb yang dianjurkan oleh WHO adalah cara spektrofotometer, menggunakan metode Sianmethemoglobin. Untuk menentukan adanya anemia perlu diperiksa terlebih dahulu kadar Hb, kemudian mencari penyebab anemia sehingga pengobatan dapat dilaksanakan dengan tepat (Dacie dan Lewis, 1992).

Sebelum Repelita IV prevalensi anemia anak pra sekolah 40%, anak usia sekolah 31%, wanita dewasa 40 %, wanita hamil 70 % dan 35 % terjadi pada laki-laki yang berpenghasilan rendah. Menurut hasil Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) tahun 1992 memperlihatkan bahwa prevalensi anemia ibu hamil 55,1 % dan anak balita 46,5 %. Keadaan ini menunjukkan masalah anemia belum banyak berubah. Anemia bukan suatu diagnosis melainkan pencerminan dari dasar perubahan patofisiologis, yang diuraikan oleh anamnesis, pemeriksaan fisik yang teliti dan pemeriksaan laboratorium (Kodyat dkk, 1994; Isbister dan Pittiglio, 1990).

Penelitian ini menunjukkan bahwa uji kesepakatan antara pemeriksaan kadar Hb metode Sahli dan Talquist dengan *cut-off point* kadar Hb 12 mg/dl, 10 mg/dl dan 8 mg/dl adalah rendah. Walaupun terdapat perbedaan hasil pemeriksaan kadar Hb metode Sahli dan Talquist, tetapi penggunaan kedua metode ini masih banyak dipakai di lapangan karena murah dan mudah dilakukan.

Simpulan dan Saran

Terdapat perbedaan hasil pemeriksaan kadar Hb metode Sahli dan Talquist (uji kesepakatan dengan $K=0,24$, $K=0,22$ dan $K=0,20$ rendah). Untuk mendapatkan alat ukur yang paling akurat dengan harga yang murah dan mudah dilakukan di lapangan maka perlu dilakukan uji diagnostik metode Sahli dan Talquist dengan alat diagnostik yang sudah menjadi baku emas.

Ucapan Terimakasih

Peneliti mengucapkan terimakasih kepada dr. Tunjung Wibowo, MPH dan Prof. dr. Sri Kadarsih S., M.Sc., PhD yang telah memberikan dorongan, bimbingan dan bantuan pada penelitian ini.

Daftar Pustaka

- Baker, F.J., Silvertown, R.E., 1980, *Introduction to Medical Laboratory Technology*, Ed. 5, The English Language Book Society and Butterworths, London.
- Dacie, J.V., Lewis, S.M., 1992, *Practical Hematology*, Ed. 7, Longman, Singapore.
- Evatt, B.L., Lewis, S.M., Lothe, F., McArthur, JR., 1992, *Anemia-fundamental Diagnosis Hematology*, Ed. 2.
- Fleiss J.L., 1981. *Statistical Methods for Rates and Proportions*, Ed. 2, J. Wiley & sons, Inc, Toronto.
- Frances, K., Widmann, M.D., 1992, *Tinjauan Klinis atas Hasil Pemeriksaan Laboratorium*, Ed. 9, EGC, Jakarta.
- Guyton, A.C., 1991, *Fisiologi Kedokteran*, Ed. 8, EGC, Jakarta.
- Isbister, J.P., Pittiglio, D.H., 1999, *Hematologi klinik : Pendekatan Berorientasi Masalah*, Ed. 1, Penerbit Hipocrates, Jakarta.

- Kodyat, BA., Fallah, TS., Amarita, 1994, Pokok-pokok Kegiatan Program Perbaikan Gizi pada PJP II untuk Menanggulangi Masalah Gizi Salah dalam : Rifai, MA., *Risalah Widyakarya Pangan dan Gizi Menghadapi Masalah Gizi Ganda Pembangunan Jangka Panjang II*. Lembaga Ilmu pengetahuan Indonesia, Jakarta
- Martin, A.S., Steininger, C.A., Koepke, J.A., 1992, *Clinical Hematology, Ed. 2*, Lippincott, Philadelphia.
- Reich, PR., 1984, *Physiopathology Basic for Clinical Practice, Ed. 2*, Little Brown, Boston.
- WHO, 1995, *Haematology for Peripheral Laboratories, Geneva.*
- Sylvia, AP., Lorraine, MW., 1995, *Pathophysiology Clinical Concepts of Disease Processes, Ed. 4*, EGC, Jakarta.