

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

Penelitian dengan judul “Perbedaan Hasil Pemeriksaan Hemoglobin Dengan Teknik Homogenisasi Sekunder 8 kali dan Tidak Dihomogenisasi Sekunder” telah dilakukan pada hari Jumat, 14 Agustus 2020 di Laboratorium Hematologi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Katolik Musi Charitas Palembang. Subjek penelitian yang digunakan adalah mahasiswa/i Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Katolik Musi Charitas. Subjek dipilih dengan teknik pengambilan sampel secara *Acidental sampling*. Populasi dalam penelitian ini berjumlah 30 orang yang terdiri dari 6 orang laki-laki dan 24 orang perempuan dengan rentang umur 19-23 tahun.

1. Karakteristik Subjek Penelitian

Karakteristik subjek penelitian berdasarkan jenis kelamin yaitu 6 orang laki-laki dan 24 orang perempuan, sedangkan karakteristik berdasarkan umur yaitu yang berumur 19 tahun adalah 2 orang, 20 tahun adalah 1 orang, 21 tahun adalah 10 orang, 22 tahun adalah 15 orang, 23 tahun adalah 2 orang.

Tabel 4.1 Distribusi subjek penelitian berdasarkan jenis kelamin

Jenis Kelamin	Frekuensi (n= 30)	Presentase (%)
Laki-laki	6	20 %
Perempuan	24	80 %

Berdasarkan tabel 4.1 diketahui bahwa kebanyakan yang menjadi subjek penelitian adalah perempuan yaitu 24 orang dengan presentase sebesar 80 %.

Tabel 4.2 Distribusi subjek penelitian berdasarkan umur

Umur	Frekuensi (n=30)	Presentase (%)
19 tahun	2	6,7 %
20 tahun	1	3,3 %
21 tahun	10	33,3 %
22 tahun	15	50 %
23 tahun	2	6,7 %

Berdasarkan tabel 4.2 diketahui bahwa kebanyakan usia yang menjadi subjek penelitian adalah 22 tahun dengan jumlah 15 orang dengan presentase sebesar 50 %.

2. Verifikasi Metode Pemeriksaan Hemoglobin

Pada penelitian ini uji verifikasi dilakukan dengan memeriksa bahan kontrol *low* (no.batch : 01440821, exp.date : 25 agustus 2020), normal (no.batch : 01440822, exp.date : 25 agustus 2020), dan *high* (no.batch : 01440823, exp.date : 25 agustus 2020). Verifikasi metode *impedance* dilakukan dengan mengukur 3 level bahan kontrol yaitu *low*, normal, dan *high*. Hasil dari pemeriksaan bahan kontrol dihitung CV, bias, dan TEa. Berikut ini hasil verifikasi metode *impedance*.

Tabel 4.3 Hasil Uji Verifikasi Metode *Sysmex XP-100*

Hasil uji	Hasil perhitungan			Batas keberterimaan	Keterangan
	Low	Normal	High		
CV	0,9%	0,3%	0,4%	1,43 %	Diterima
Bias	-0,8%	-2,2%	-2,4%	1,84 %	Diterima
Tea	1%	-1,52%	-1,5%	7 %	Diterima

Berdasarkan tabel 4.4 hasil uji verifikasi metode *impedance* pada pemeriksaan hemoglobin, didapatkan hasil masih dalam batas diperbolehkan yang artinya uji verifikasi dapat diterima.

3. Pemantapan Mutu Internal

Pemantapan mutu internal (PMI) dilakukan dengan memeriksa bahan kontrol. Bahan kontrol yang dilakukan pada tanggal 14 Agustus 2020 untuk pemeriksaan hemoglobin dengan mengukur bahan kontrol *high* (no. batch 01440823, exp. date : 25 Agustus 2020). Hasil pemeriksaan bahan kontrol *high* diperoleh 16,3 g/dL dan dihitung dalam satuan standar deviasi (Sd_i), kemudian diplotkan pada grafik *Levey Jenning Chart* dan diinterpretasikan menggunakan aturan *Westgard Multirules*. Hasil bahan kontrol yang diplotkan pada grafik *Levey Jenning Chart* tidak melewati aturan *Westgard Multirules*.

4. Data Hasil Penelitian

Penelitian hasil pemeriksaan hemoglobin dengan teknik homogenisasi sekunder 8 kali dan tidak dihomogenisasi sekunder, disajikan dalam bentuk tabel sebagai berikut.

Tabel 4.4 Hasil Pemeriksaan Hemoglobin

Kode A (Tidak dihomogenisasi sekunder)	Hasil hemoglobin kode A (dalam g/dL)	Kode B (Dihomogenisasi sekunder 8 kali)	Hasil hemoglobin kode B (dalam g/dL)	Nilai Rujukan	
				Laki-laki	Perempuan
A1	19,3	B1	13,1		
A2	22,9	B2	13,3		
A3	20,3	B3	12,4		
A4	23,8	B4	13,5		
A5	24,1	B5	12,0		
A6	22,9	B6	14,5		
A7	17,4	B7	10,6		
A8	23,7	B8	11,7		
A9	24,2	B9	12,4		
A10	24,7	B10	13,7		
A11	23,9	B11	15,9		
A12	20,8	B12	13,0		
A13	22,4	B13	15,2		
A14	23,7	B14	13,3		
A15	20,8	B15	12,7		
A16	21,1	B16	12,3		
A17	24,5	B17	11,9	13-18g/dL	12-16 g/dL
A18	21,2	B18	12,9		
A19	20,3	B19	12,6		
A20	24,1	B20	12,5		
A21	24,5	B21	15,3		
A22	21,8	B22	12,6		
A23	20,1	B23	13,8		
A24	13,6	B24	13,6		
A25	23,9	B25	11,0		
A26	18,3	B26	15,3		
A27	18,5	B27	15,8		
A28	20,0	B28	13,4		
A29	19,4	B29	13,3		
A30	17,8	B30	11,0		
Mean	21,5	Mean	13,1		
SD	2,6	SD	3,6		

Berdasarkan tabel 4.4 hasil pemeriksaan kadar hemoglobin dengan tidak dihomogenisasi sekunder memiliki rata-rata 21,5 g/dL dan standar deviasi 2,6 g/dL.

Kadar hemoglobin dengan teknik homogenisasi sekunder 8 kali memiliki rata-rata 13,1 g/dL dan standar deviasi 3,6 g/dL. Hasil pemeriksaan hemoglobin yang tidak dihomogenisasi sekunder menghasilkan hasil yang tinggi, hanya 5 sampel yang hasilnya masih dalam batas normal. Sedangkan pada hasil pemeriksaan yang dihomogenisasi sekunder 8 kali 5 sampel yang hasilnya tidak normal dan yang lainnya dalam batas normal.

5. Analisis Data

1.1 Uji Normalitas

Uji normalitas dilakukan untuk mengetahui apakah data terdistribusi normal atau tidak. Berikut ini hasil uji normalitas data kadar hemoglobin.

Tabel 4.5 Uji Normalitas Data

Perbedaan kadar hemoglobin	N	<i>p</i> -value	Taraf signifikan	Keterangan
Kadar hemoglobin tidak dihomogenisasi sekunder	30	0,016	0,05	Tidak normal
Kadar hemoglobin dihomogenisasi sekunder 8 kali	30	0,271	0,05	Normal

Berdasarkan tabel 4.5 dapat diketahui bahwa hasil uji normalitas pada hasil kadar hemoglobin yang tidak dihomogenisasi sekunder diperoleh nilai $p = 0,016$ ($p < 0,05$), hal ini menunjukkan bahwa data tidak terdistribusi normal.

Sedangkan uji normalitas pada kadar hemoglobin yang dihomogenisasi sekunder 8 kali diperoleh nilai $p= 0,271$ ($p>0,05$), hal ini menunjukkan bahwa data terdistribusi normal. Oleh karena salah satu data hasil uji normalitas tidak normal, maka dilakukan uji transform. Hasil uji transform seperti pada tabel 4.6

Tabel 4.6 Hasil Uji Transform Data Kadar Hemoglobin

Perbedaan kadar Hb	N	p-value	Taraf Signifikan ($\alpha = 0,05$)	Distribusi Data
Tidak dihomogenisasi sekunder (hasil transform)	30	0,002	0,05	Tidak Normal

Berdasarkan tabel 4.6 dapat diketahui bahwa hasil uji transform data kadar hemoglobin yang tidak dihomogenisasi sekunder diperoleh nilai $p=0,002$ ($p<0,05$), menunjukkan bahwa data tidak berdistribusi normal.

1.2 Analisis Deskriptif

Pada penelitian ini data hasil pemeriksaan hemoglobin dengan teknik homogenisasi sekunder 8 kali dan tidak dihomogenisasi sekunder distribusi data yang diperoleh adalah tidak normal, sehingga ukuran pemusatan data yang digunakan adalah median, sedangkan ukuran penyebaran data menggunakan nilai minimum dan maksimum. Hasil yang diperoleh dalam penelitian sebagai berikut

Tabel 4.7 Hasil Uji Deskriptif Pemeriksaan Hemoglobin Dengan Teknik Homogenisasi Sekunder 8 Kali dan Tidak Dihomogenisasi Sekunder

	Median	Minimum	Maksimum
Homogenisasi sekunder 8 kali	13,050	10,6	15,9
Tidak dihomogenisasi sekunder	21,500	13,6	24,7

Berdasarkan tabel 4.7 diketahui bahwa hasil pemeriksaan hemoglobin dengan teknik homogenisasi sekunder 8 kali nilai median 13,050 g/dL, nilai minimum 10,6 g/dL dan nilai maksimum 15,9 g/dL. Sedangkan hasil pemeriksaan hemoglobin tidak dihomogenisasi sekunder nilai median 21,500 g/dL, nilai minimum 13,6 g/dL dan nilai maksimum 24,7 g/dL.

1.3 Analisis Hipotesis

Analisis hipotesis digunakan untuk mengetahui data terdapat perbedaan atau tidak. Pada penelitian ini distribusi data hasil pemeriksaan hemoglobin yang diperoleh adalah tidak normal sehingga uji yang digunakan yaitu *Wilcoxon*. Hasil uji *Wilcoxon* pada penelitian ini disajikan pada tabel berikut.

Tabel 4.9 Hasil Uji *Wilcoxon* Pada Kadar Hemoglobin

	<i>p</i> -value	Taraf Signifikan	Keterangan
Homogenisasi sekunder 8 kali dan tidak dihomogenisasi sekunder	0,000	0,05	Terdapat Perbedaan

Berdasarkan tabel 4.9 diperoleh hasil p -value sebesar 0,000 dengan taraf signifikan 0,05, maka dapat diketahui $p < \alpha$ yang artinya terdapat perbedaan pada kadar hemoglobin dengan teknik homogenisasi sekunder 8 kali dan tidak dihomogenisasi sekunder.

B. Pembahasan

Pemeriksaan hemoglobin digunakan untuk mengetahui apakah seseorang menderita anemia. Seseorang disebut anemia bila kadar Hb kurang dari nilai rujukan normal. Sebelum melakukan pemeriksaan sampel, maka terlebih dahulu melakukan verifikasi dan pemantapan mutu internal untuk memastikan bahwa metode dan prosedur yang digunakan benar.

Verifikasi metode *impedance* pada alat *Sysmex XP-100* dilakukan untuk memastikan metode tersebut bisa kita gunakan sesuai dengan persyaratan yang kita gunakan. Syarat tersebut yaitu hasil presisi tidak boleh lebih dari 1,43 % (Ricos, 2014), hasil akurasi tidak boleh lebih dari 1,83 % (Ricos, 2014), dan hasil dari TEa yaitu kurang dari 7 %. Pada penelitian ini uji verifikasi telah dilakukan pemeriksaan terhadap bahan kontrol E-check (*Eight Check*) dengan 3 level (*low*, *normal*, dan *high*).

Hasil uji presisi didapatkan nilai CV *low* sebesar 0,9 %, *normal* sebesar 0,3 %, dan *high* sebesar 0,4 %. Menurut Ricos (2014), batas maksimum yang diperbolehkan untuk presisi adalah sebesar 1,43 %,

artinya uji presisi masih dalam batas yang diperbolehkan atau lebih kecil dari batas maksimum 1,43 %. Dari hasil presisi tersebut metode pemeriksaan hemoglobin pada penelitian dapat digunakan dan dipercaya.

Pada hasil uji akurasi didapatkan nilai bias *low* sebesar -0,8 %, nilai normal -2,2 %, dan nilai *high* sebesar -2,4 %. Menurut Ricos (2014), batas maksimum yang diperbolehkan untuk akurasi adalah sebesar 1,84 %, yang artinya bahwa hasil akurasi pada penelitian ini masih dalam batas yang diperbolehkan atau lebih kecil dari batas maksimum 1,83 %. Sehingga metode yang digunakan memiliki akurasi atau ketepatan yang baik.

Pada hasil uji TEa didapatkan nilai TEa *low* sebesar 1 %, nilai normal sebesar -1,52 %, dan nilai *high* sebesar -1,5 %. Menurut CLIA (2016), batas maksimum yang diperbolehkan untuk TEa adalah sebesar 7 %, yang artinya bahwa hasil akurasi pada penelitian ini masih dalam batas yang diperbolehkan, sehingga batas ketidaktepatan dan keakuratan masih dapat ditoleransi dalam pengukuran.

Pemantapan mutu internal dilakukan untuk mendeteksi tidak adanya kesalahan (random dan sistematis) pada saat melakukan pemeriksaan. Pada penelitian ini pemantapan mutu internal dilakukan dengan memeriksa bahan kontrol *level high* (no.batch : 01440823), didapatkan hasil sebesar 16,3 g/dL dan dalam satuan SD yaitu 0,39 kemudian diplotkan pada grafik *Levey Jennings Chart* dan hasil yang diperoleh masuk dalam batas ± 1 SD.

Berdasarkan aturan *Westgard Multi-rule* hasil pemantapan mutu internal yang dilakukan pada tanggal 14 Agustus 2020 memenuhi aturan, sehingga pemeriksaan hemoglobin dapat dilakukan.

Hasil uji statistik menggunakan *Wilcoxon*, diperoleh nilai $p = 0,000 < 0,05$ yang berarti terdapat perbedaan terhadap hasil pemeriksaan hemoglobin dengan teknik homogenisasi sekunder 8 kali dan tidak dihomogenisasi sekunder.

Perbedaan hasil tersebut dipengaruhi oleh pengendapan sel-sel darah. Darah yang ditampung dalam tabung yang berisi antikoagulan harus segera dicampur agar tidak terjadi pembekuan. Pencampuran sampel pada pengumpulan diperlukan untuk memastikan bahwa antikoagulan dalam tabung larut dengan baik dalam darah dan untuk mencegah terjadinya pembekuan. Faktor penundaan mengakibatkan darah dengan antikoagulan akan mengalami pemisahan menjadi dua lapisan. Lapisan atas berupa plasma, sedangkan lapisan bawah berupa eritrosit (Nugraha, 2017).

Darah yang didiamkan mengakibatkan sel-sel darah akan mengalami pengendapan. Pada proses pengendapan tersebut terjadi dalam tiga fase. Fase pertama yaitu fase *rouleaux*, pada fase ini eritrosit mulai menyatu atau bergerombol, fase ini berlangsung dalam waktu 10 menit. Fase kedua yaitu fase pengendapan, pada fase ini eritrosit mengalami pengendapan lebih cepat. Fase ketiga yaitu fase pemadatan, pada fase ini kecepatan mengendapnya eritrosit mulai berkurang seiring dengan pemadatan pengendapan eritrosit (Kiswari, 2014).

Jika darah dengan antikoagulan didiamkan, sel-sel darah mulai mengendap pada waktu 10 menit (Kiswari, 2014). Setelah 30 menit otomatis sel telah mengendap secara keseluruhan, sedangkan trombosit mengapung. Bila dilakukan pemeriksaan tanpa dilakukan homogenisasi sekunder pada bagian bawah hemoglobin akan meningkat palsu dan trombosit akan rendah palsu. Sedangkan, pada bagian atas hemoglobin akan rendah palsu dan trombosit akan meningkat palsu. Darah yang tidak dilakukan homogenisasi sekunder akan menyebabkan kesalahan pada hasil pemeriksaan. Oleh karena itu homogenisasi sekunder penting dilakukan supaya darah terdistribusi normal.

Faktor lain yang dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan yaitu persiapan subjek. Pada penelitian ini persiapan subjek telah dilakukan pemastian dengan mengisi kuesioner dan *informed consent*. Salah satu persiapan subjek yang perlu dilakukan adalah tidak mengkonsumsi obat-obatan seperti golongan diuretik karena obat diuretik dapat meningkatkan jumlah air dan garam yang dikeluarkan dari tubuh melalui urin (Katzung, G, B.2002), sehingga jumlah cairan di pembuluh darah menurun yang mengakibatkan hemokonsentrasi yang dapat meningkatkan hemoglobin.

Pengambilan sampel juga dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan. Pengambilan sampel harus dilakukan oleh orang berpengalaman untuk mengurangi kesalahan pada pemeriksaan.

Teknik pengambilan darah yang perlu diperhatikan seperti pemasangan *tourniquet* tidak boleh lebih dari 1 menit, karena akan mengakibatkan terjadinya hemokonsentrasi yang menyebabkan hemoglobin meningkat. Penusukan yang tidak sekali kena menyebabkan masuknya cairan jaringan dan menyebabkan hematoma yang dapat menurunkan hemoglobin (Riswanto, 2013). Pada penelitian ini pengambilan sampel dilakukan oleh orang yang sudah terampil dan terlatih.

Setelah persiapan subjek dan pengambilan sampel maka dilanjutkan dengan pengolahan sampel salah satunya yaitu homogenisasi sampel. Homogenisasi terbagi menjadi 2 yaitu homogenisasi primer dan homogenisasi sekunder. Homogenisasi primer merupakan homogenisasi yang dilakukan setelah pengambilan darah yang ditampung dalam tabung antikoagulan, sedangkan homogenisasi sekunder merupakan homogenisasi yang dilakukan sesaat sebelum darah diperiksa terhadap darah yang telah dilakukan homogenisasi primer dan didiamkan. Homogenisasi primer dilakukan sebanyak 8-10 kali menurut CLSI (2017) dan BD Vacutainer (2019), dan 10-12 kali menurut Permenkes No.43 (2013). Sedangkan untuk homogenisasi sekunder belum ada standar yang menyatakan berapa kali darah harus dibolak-balik sebelum pemeriksaan.

Pada penelitian ini homogenisasi sekunder dilakukan dengan teknik bolak-balik sebanyak 8 kali. Selain teknik bolak-balik terdapat teknik homogenisasi menggunakan alat seperti *mixer tipe rotary*.

Sehubungan dengan hal tersebut, pada penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Yucel *et al* (2016), didapatkan hasil tidak ada perbedaan pada pemeriksaan hemoglobin, karena pemeriksaan langsung diperiksa dan dilakukan pencampuran menggunakan *mixer* tipe *rotary*, sehingga sel darah tidak mengalami pengendapan dan hasil pada pemeriksaan hemoglobin tidak terdapat perbedaan.

Penelitian Lima-Oliveira *et al* (2014), menyatakan bahwa darah yang didiamkan selama 5 menit dalam posisi tegak dan tanpa dilakukan pencampuran sesudahnya tidak terdapat perbedaan pada pemeriksaan hemoglobin. Hal ini karena menurut Kiswari (2014), darah mulai mengendap pada waktu 10 menit. Maka didapatkan hasil pemeriksaan hemoglobin pada waktu 5 menit tidak terdapat perbedaan. Dari hal tersebut terbukti bahwa darah yang didiamkan selama 30 menit dan tidak dihomogenisasi sekunder dapat menghasilkan pemeriksaan hemoglobin yang berbeda dibandingkan dengan darah yang dihomogenisasi sekunder.

Pada penelitian ini darah yang didiamkan selama 30 menit paska dilakukan homogenisasi primer didapatkan hasil pemeriksaan hemoglobin yang tidak dihomogenisasi sekunder mengalami peningkatan dibandingkan yang dihomogenisasi sekunder. Penelitian ini sejalan dengan penelitian Lippi *et al* (2007), menyatakan bahwa darah yang dilakukan pencampuran primer sebanyak 6 dan 12 kali secara bolak-balik dan didiamkan selama 30-60 menit mengalami peningkatan pada pemeriksaan hemoglobin dibandingkan dengan darah yang tidak dilakukan

pencampuran primer dan didiamkan selama 30-60 menit. Hal ini terjadi karena sel darah mulai mengendap dan jika dilakukan pemeriksaan tanpa dilakukan homogenisasi sekunder, maka hemoglobin akan meningkat.

Berdasarkan hasil yang didapat pada penelitian ini, bahwa hasil pada pemeriksaan hemoglobin yang tidak dihomogenisasi sekunder lebih tinggi dibandingkan dengan hasil pemeriksaan hemoglobin yang dihomogenisasi sekunder 8 kali. Hal tersebut dapat terjadi bahwa pada tabung yang tidak dihomogenisasi sekunder sel-sel darah mengalami pengendapan setelah didiamkan, dimana hemoglobin ada dalam sel darah merah dan berada di bagian lapisan bawah. Jika dilakukan pemeriksaan tanpa dilakukan homogenisasi sekunder, maka hemoglobin akan meningkat. Maka dari itu darah harus segera dilakukan pemeriksaan atau jika darah didiamkan lakukan homogenisasi sekunder supaya darah terdistribusi normal.