



JURNAL LABORATORIUM KHATULISTIWA

e-ISSN : 2597-9531
p-ISSN : 2597-9523



PERBEDAAN PRESISI PEMIPETAN SAMPEL MENGGUNAKAN PIPET SAHLI DAN MIKROPIPET PADA PEMERIKSAAN HEMOGLOBIN METODE CYANMETHEMOGLOBIN

✉ **Hidayatussalihin, Etiek Nurhayati, Edy Suwandi**
Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Pontianak

E-mail : uwee1995@gmail.com

Submitted : 5 Agustus 2018; **Revised** : 8 September 2018; **Accepted** : 9 Oktober 2018
Published : 30 November 2018

Abstract

International Commite for Standarization in Hematology (ICSH) recommends hemoglobin examination using Cyanmethemoglobin method. Examination of Hb Cyanmethemoglobin using sahli pipette in sampling. The Sampling method flow through the hose. The use of glass pipets do not have high accuracy and precission for less than volumes 1 ml, so in small fluid displacement less than 1000 (microliter) using micropipet or commonly known as automatic pipette. The aim of this research was to know the precision value between sampling using the sahli pipette and mikropipet on examination of hemoglobin value of Cyanmethemoglobin method accepted or not on standard Clinical Laboratoty Improvement Amendments (CLIA) and to analyze the difference of precision between sampling using pipette sahli and micropipette on examination of hemoglobin Cyanmethemoglobin method. The design of this study was descriptive anlytic. This research using EDTA blood examination with the number of 36 test samples. Preliminary period expression used 60 test samples. The hemoglobin examination using Cyanmethemoglobin method by spectrophotometry. Based on the results of the research, the value of % CV of sahli's pipet is 4.60% and the value % CV of micropipet is 2.02%. and the value %CV The maximum recommended by the CLIA can be received from the sahli and mikropipet pipette that is <7%. he data obtained were statistically analyze by using Willcoxon Test and the result P 0.000 <0.05. The conclusion of this research was found a significant difference between Sahli pipette and micropipette.

Keywords : *Precision, Sahli Pipette, Micropipette, Hemoglobin*

International Commette for Standarization in Hematology (ICSH) merekomendasikan pemeriksaan hemoglobin dengan menggunakan metode Cyanmethemoglobin. Pemeriksaan Hb Cyanmethemoglobin menggunakan pipet sahli dalam pengambilan sampel. Pengambilan sampel dengan cara dihisap melalui selang. Penggunaan pipet gelas tidak mempunyai akurasi dan presisi yang tinggi untuk volume kurang dari 1 ml, sehingga pemindahan cairan dengan volume kecil kurang dari 1000 (microliter) orang cenderung menggunakan mikropipet atau biasa juga dikenal dengan pipet otomatis. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui nilai presisi antara pemipetan sampel menggunakan pipet sahli dan mikropipet pada pemeriksaan kadar hemoglobin metode Cyanmethemoglobin diterima atau tidak pada standar Standar Clinical Laboratoty Improvement Amendments (CLIA) dan menganalisis perbedaan presisi antara pemipetan sampel menggunakan pipet sahli dengan pemipetan sampel menggunakan mikropipet pada pemeriksaan kadar hemoglobin metode Cyanmethemoglobin. Desain penelitian ini adalah deskriptif analitik. Penelitian ini menggunakan bahan pemeriksaan berupa darah EDTA dengan jumlah 36 sampel uji. Ditahapan periode pendahuluan digunakan sebanyak 60 sampel uji. Metode pemeriksaan hemoglobin menggunakan metode Cyanmethemoglobin secara fotometri. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan diperoleh nilai %CV pipet sahli sebesar 4,60% dan nilai %CV mikropipet sebesar 2,02%. Nilai %CV-maksimum yang di rekomendasikan oleh CLIA dapat diterima dari pipet sahli dan mikropipet yaitu <7%. Data yang diperoleh diolah secara statistik menggunakan uji Willcoxon didapatkan hasil P 0.000<0.05. Sehingga dapat disimpulkan ada perbedaan signifikan antara pipet sahli dan mikropipet.

Kata Kunci : *Presisi, Pipet Sahli, Mikropipet, Hemoglobin*

PENDAHULUAN

Semakin pesatnya kemajuan teknologi serta pengetahuan masyarakat yang semakin meningkat tentang kesehatan akan mendorong tuntutan masyarakat terhadap mutu pelayanan di laboratorium. Mutu pelayanan berdasarkan penelitian hasil pelayanan laboratorium secara keseluruhan dan salah satu titik penting terletak pada mutu pemeriksaan (A, 2000).

Jaminan mutu pemeriksaan laboratorium diperlukan untuk menegakkan diagnosa yang tepat. Terdapat dua hal penting yang menjadi perhatian dalam jaminan mutu hasil pemeriksaan laboratorium yaitu akurasi dan presisi (Dhyanaputri, I. S., Agustini, & Puryana, 2013). Akurasi menunjukkan kedekatan nilai hasil pengukuran dengan nilai sebenarnya, sedangkan presisi merupakan ketelitian atau derajat seberapa jauh pengulangan analisis memberikan data yang sama. (Karkalousos & Evangelopoulos, 2011). Secara singkat akurasi dapat diartikan ketepatan dan presisi dapat diartikan ketelitian atau *repeatability* (pengulangan).

Presisi atau *Repeatability* adalah derajat konsensus antara pengukuran berturut-turut yang telah dilakukan pada sampel yang sama dengan kondisi yang sangat mirip, alat yang sama, pengguna yang sama, laboratorium yang sama, metode yang sama dan banyak reagen yang sama dalam waktu yang sangat singkat misalnya dalam jangka waktu sehari percobaan (Karkalousos & Evangelopoulos, 2011).

Banyak jenis pemeriksaan laboratorium yang dilakukan untuk pemeriksaan penyaring terhadap kelainan dalam tubuh manusia. Kelainan dapat berasal dari penyakit darah atau penyakit yang mengenai bagian lain dari tubuh (W & Herniah, 2001). Pemeriksaan hemoglobin merupakan salah satu pemeriksaan darah rutin yang paling sering dilakukan oleh setiap laboratorium (Norsiah, 2015).

Hemoglobin merupakan komponen yang berfungsi sebagai alat transportasi oksigen (O_2) dan karbon dioksida (CO_2). Hb tersusun dari globin (empat rantai protein yang terdiri dari dua unit alfa dan dua unit beta) dan heme (mengandung atom besi dan porphyrin: suatu pigmen merah). Pigmen besi hemoglobin bergabung dengan oksigen. Hemoglobin yang mengangkut oksigen darah (dalam arteri) berwarna merah terang sedangkan hemoglobin yang kehilangan oksigen (dalam vena) berwarna merah tua. Satu gram hemoglobin mengangkut 1,34 mL oksigen. Kapasitas angkut ini berhubungan dengan kadar Hb bukan jumlah sel darah merah (Kementrian Kesehatan Republik Indonesia, 2011).

Banyak metode yang digunakan untuk pemeriksaan kadar hemoglobin, diantaranya metode Tallquist, Sahli, Cuppersulfat dan *Cyanmethemoglobine. Gold*

standard dari beberapa metode tersebut yang digunakan untuk pemeriksaan kadar hemoglobin adalah metode *Cyanmethemoglobine* (Hidayat & Sunarti, 2015). *International Commette for Standarization in Hematology* (ICSH) merekomendasikan pemeriksaan hemoglobin dengan menggunakan metode *Cyanmethemoglobin* (Heryanti, Octaviana, & Sumirah, 2013).

Metode *Cyanmethemoglobin* dianjurkan karena larutan standarnya yang stabil, mudah diperoleh dan hampir semua hemoglobin terukur kecuali sulf hemoglobin (Sacher, R & McPherson, R, 2004). Pada metode *Cyanmethemoglobin* sampel yang digunakan sebesar 20 ul maka dari itu ketelitian untuk pipet dengan volume yang kecil sangat penting.

Pemeriksaan Hb *Cyanmethemoglobin* menggunakan pipet sahli dalam pengambilan sampel. Pengambilan sampel dengan cara dihisap melalui selang (World Health Organization, 2003). Penggunaan pipet gelas dan pipet gondok tidak mempunyai akurasi yang tinggi untuk volume kurang dari 1 ml, sehingga pada pemindahan cairan dengan volume kecil kurang dari 1000 (*microliter*) orang cenderung menggunakan mikropipet atau biasa juga dikenal dengan pipet otomatis (Anonym (1), 2016).

Pipet otomatis ini memiliki akurasi dan presisi yang lebih baik dibanding dengan pipet gelas. Disamping itu dapat diatur berapapun volumenya dalam range volume pipet tersebut. (Anonym (2), 2016). Pipet jenis ini juga tersedia dalam berbagai kapasitas volume, mulai dari 5 μ l sampai 1000 μ l (World Health Organization, 2003).

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan Desain Deskriptif Analitik dengan menggunakan bahan pemeriksaan berupa darah EDTA dengan 6 kali pengulangan. Metode pemeriksaan yang digunakan yaitu *Cyanmethemoglobin*. Pemeriksaan hemoglobin menggunakan pipet sahli dilakukan dengan cara dipipet 5ml larutan pengencer Drabkin dan 0,02ml darah vena atau kapiler. Sebelum dipipet darah vena atau kapiler botol berisi darah dengan antikoagulan dibolak-balikkan berulang kali selama kurang lebih 1 menit. Kemudian dimasukkan darah kedalam larutan pengencer Drabkin dan bilas pipet dengan menghisap larutan dan menyemprotkannya kembali sebanyak tiga kali. Larutan dikocok hingga homogen dan didiamkan selama 5 menit. Dengan larutan pengencer Drabkin, diposisikan jarum penunjuk spektrofotometer pada angka nol. kemudian dimasukkan larutan darah pasien yang sudah diencerkan ke dalam tabung reaksi atau kuvet spektrofotometer dan ukur absorbansinya (World Health Organization, 2003).

Pemeriksaan hemoglobin menggunakan mikropipet dilakukan dengan pipet volum, dimasukkan 5 ml larutan pengencer Drabkin ke dalam tabung. Dengan mikropipet dipipet sampel sebanyak 0,02 ml lalu dicampurkan ke larutan Drabkin di dalam Tabung. Pipet dengan mikropipet digunakan dengan menggunakan metode *Reverse*. Kemudian dikocok larutan hingga homogen dan didiamkan selama 5 menit. Dengan larutan pengencer Drabkin, diposisikan jarum penunjuk spektrofotometer pada angka nol. Masukkan larutan darah pasien yang sudah diencerkan ke dalam tabung reaksi atau kuvet spektrofotometer, ukur absorbansinya (World Health Organization, 2003).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan pipet sahli dan mikropipet masing-masing satu buah dimana *tips* dari mikropipet selalu di ganti saat penggunaannya dimana dalam penelitian ini menggunakan 30 responden yang diambil darahnya kemudian dibagi menjadi dua. Tahapan periode pendahuluan dalam penelitian ini di ukur sebanyak 60 bahan pemeriksaan dengan masing-masing pengambilan bahan pemeriksaan menggunakan Pipet Sahli 30 bahan pemeriksaan dan Mikropipet 30 bahan pemeriksaan yang kemudian diukur dengan spektrofotometer metode *Cyanmethemoglobin*. Hasil pemeriksaan ini digunakan sebagai kartu kontrol dalam uji presisi pemipetan sampel menggunakan pipet sahli dan mikropipet. Kemudian dihari terakhir dilakukan pemeriksaan kadar hemoglobin untuk hasil uji presisi yang nantinya akan di *plotting* di peta kontrol yang didapat.

Tabel 1. Hasil Pemeriksaan Hemoglobin Menggunakan Pipet Sahli dan Mikropipet Metode *Cyanmethemoglobin*.

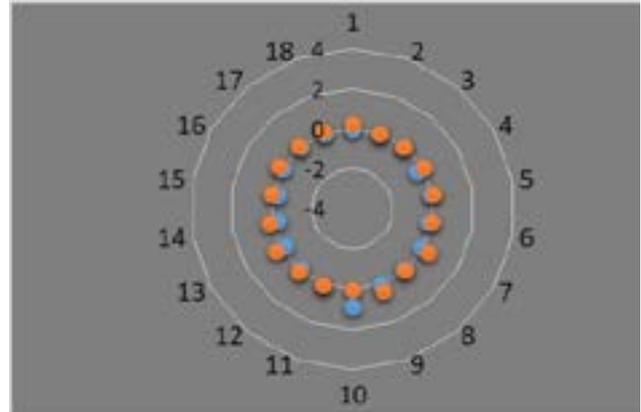
PENGULANGAN	PIPET SAHLI (S)			MICROPIPET (M)		
	a	b	c	A	B	C
1	13,90	13,90	13,94	14,41	13,97	13,97
2	13,38	13,83	13,60	14,12	14,12	14,05
3	13,90	14,01	14,08	14,82	14,19	14,97
4	16,24	14,23	13,80	14,19	14,23	14,23
5	13,49	13,27	13,27	14,71	14,38	14,01
6	13,90	13,90	13,86	14,45	14,16	14,23

Tabel 2. Hasil Statistik Deskriptif Uji Presisi Pemeriksaan Hemoglobin menggunakan Pipet Sahli dan Mikropipet Metode *Cyanmethemoglobin*.

	N	Minimum	Maksimum	Mean	Std. Deviation	CV (%)
SAHLI	18	13.27	16.24	13.9167	.64006	4.60
	18	13.97	14.97	14.2894	.28841	2.02

Berdasarkan tabel di atas menunjukkan bahwa nilai rata-rata dan SD pemipetan sampel menggu-

nakan pipet sahli sebesar 13.9167g/ul dan 0.64006 sedangkan nilai rata-rata dan SD mikropipet sebesar 14.2894 dan 0.2894. Tingkat ketelitian atau presisi dinyatakan dalam (%CV) didapatkan pemipetan sampel menggunakan pipet sahli sebesar 4,60% dan Mikropipet 2,02%. Setelah dilakukan pemeriksaan di periode pendahuluan dan pengujian pemipetan bahan pemeriksaan menggunakan pipet sahli dan mikropipet



Gambar 1. Grafik Lingkaran *Plotting* uji Presisi

Berdasarkan grafik di atas menunjukkan bahwa hasil yang didapat memiliki tingkat kedekatan hasil atau derajat konsistensi yang baik dimana hasil tidak ada yang keluar dari batas $\pm 1SD$.

Uji presisi dilakukan dengan mengukur 1 bahan pemeriksaan yang sama, dalam rentang waktu yang relatif sama, alat yang sama, ditempat yang sama dan dilakukan oleh orang yang sama. Dalam uji presisi dilakukan pengulangan pemeriksaan pada sampel uji paling sedikit 6 kali pengulangan (Riyanto, 2014). Pada penelitian ini bahan dilakukan pemeriksaan secara *Triplo* pada setiap pengulangan.

Tabel 3. Hasil Uji Perbedaan Presisi Pemipetan Sampel Menggunakan Pipet Sahli Dan Mikropipet

Mikropipet – Pipet Sahli	
Z	-2.817 ^b
Asymp. Sig. (2-tailed)	0.000

Dari tabel 3 di atas dapat dinyatakan bahwa H_0 diterima yang berarti ada perbedaan signifikan antara pipet Sahli dan mikropipet. Uji presisi pemipetan sampel menggunakan pipet sahli dan mikropipet pada pemeriksaan kadar hemoglobin metode *Cyanmethemoglobin* dilakukan setelah tahapan periode pendahuluan selesai. Dari hasil pemeriksaan kadar hemoglobin pada periode pendahuluan didapatkan hasil pipet sahli rata-rata 13.8517 dan nilai SD 2.31177 sedangkan mikropipet rata-rata 14.0400 dan SD 2.31444.

Gold standard pada penelitian ini adalah pemipetan sampel menggunakan pipet sahli. Dari analisis data yang dilakukan pada pemeriksaan dengan pipet sahli didapatkan rata-rata sebesar 13,9167 g/ul, dan mikropipet rata-rata sebesar 14.2894 g/ul. Tingkat

ketelitian atau presisi dinyatakan dalam %CV dimana semakin kecil nilainya maka semakin tinggi tingkat ketelitiannya. Berdasarkan hasil penelitian didapatkan %CV pipet sahli sebesar 4.60% sedangkan Mikropipet sebesar 2.20%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa tingkat ketelitian Mikropipet lebih tinggi dibanding pipet sahli. Namun demikian kedua hasil tersebut masih dapat diterima karena masih di bawah nilai standar %CV maksimum yang direkomendasikan oleh *Clinical Laboratory Improvement Amendments* (CLIA) yaitu 7%.

Pemeriksaan Hemoglobin metode *Cyanmethemoglobin* menggunakan pipet sahli dalam pemipetan sampel. Pemipetan dilakukan dengan cara dihisap melalui selang (World Health Organization, 2003). Pada metode *Cyanmethemoglobin* sampel yang digunakan sebesar 20 ul maka dari itu ketelitian untuk pemipetan dengan volume yang kecil sangat penting. Perbedaan hasil dapat dilihat dari nilai rata-rata kadar hemoglobin pemipetan sampel menggunakan mikropipet yang lebih tinggi dari pipet sahli. Tingginya kadar hemoglobin dapat disebabkan oleh banyaknya volume yang dipipet dari suatu alat. Dari hasil uji kelayakan penggunaan pipet juga menunjukkan volume yang dipipet oleh mikropipet lebih banyak dari pipet sahli yaitu pipet sahli 0.0198 gram dan mikropipet 0.0201 dengan batas toleransi 1% dimana faktor konversi disuhu 27°C sebesar 0.9965 untuk berat jenis aquades. Namun demikian hasil tersebut dapat diterima karena tidak melebihi batas toleransi yang telah ditentukan. Suhu juga dapat berpengaruh terhadap alat-alat gelas yang dapat menyebabkan pemuaian. Pontianak memiliki suhu yang tinggi mencapai 30°C dalam penelitian ini proses pengerjaan dilakukan dalam ruangan dengan suhu kurang lebih 27°C.

Penggunaan pipet gelas dan pipet gondok tidak mempunyai akurasi dan presisi yang tinggi untuk volume kurang dari 1 ml, sehingga pada pemindahan cairan dengan volume kecil kurang dari 1000 (*microliter*) orang cenderung menggunakan mikropipet atau biasa juga dikenal dengan pipet otomatis (Anonym (1), 2016).

Metode yang baik adalah yang mempunyai akurasi dan presisi yang baik. Untuk tujuan penanganan penyakit dan pemantauannya, pemilihan metode dengan presisi yang baik lebih dianggap penting dari pada akurasi yang baik (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2013). Hasil penelitian menunjukkan tingkat presisi mikropipet lebih tinggi dibanding pipet sahli. Dalam arti klinis pada penelitian ini tidak ada perbedaan yang signifikan antara pemipetan sampel menggunakan pipet sahli dan mikropipet namun demikian dalam pemantauan hasil di *quality control* hasil tersebut terdapat perbedaan yang signifikan meskipun keduanya masih dalam batas yang

ditentukan.

Tingkat ketelitian atau presisi dinyatakan dalam impresisi %CV menunjukkan nilai mikropipet lebih kecil dibanding pipet sahli yang berarti tingkat ketelitian mikropipet lebih tinggi. Hal ini disebabkan komponen yang dimiliki mikropipet telah dirancang untuk meminimalisir kesalahan dari proses pemipetan. Sedangkan komponen pipet sahli yang sederhana memiliki faktor kesalahan sistematis yang lebih banyak. Nilai tersebut ditunjukkan pada hasil pemeriksaan kadar hemoglobin menggunakan pipet sahli dipengulangan keempat terdapat nilai yang lebih tinggi dari beberapa pemeriksaan sebeum dan sesudahnya. Dari nilai tersebut juga terjadi penurunan hasil yang signifikan dapat pula disebabkan oleh kesalahan yang dipengaruhi oleh stabilitas listrik dan instrumentasi yang digunakan. Kesalahan sistematis merupakan kesalahan yang dapat diketahui secara pasti atau ditimbulkan oleh adanya faktor tetap yang mengakibatkan hasil pengujian yang cenderung lebih rendah atau lebih tinggi dari yang seharusnya. Faktor yang juga mempengaruhi kesalahan sistematis yaitu ketrampilan tenaga laboratorium dalam penggunaan alat serta penggunaan bahan standar atau kontrol yang tidak mampu telusur (A, 2000).

PENUTUP

Hasil pemeriksaan kadar hemoglobin dengan pemipetan sampel menggunakan pipet sahli memiliki nilai (%CV) sebesar 4,60% sedangkan hasil pemeriksaan kadar hemoglobin dengan pemipetan sampel menggunakan mikropipet memiliki nilai (%CV) sebesar 2,02%. Dari batas nilai (%CV) maksimum yang direkomendasikan oleh *Clinical Laboratory Improvement Amendments* (CLIA) yaitu 7% maka nilai (%CV) dari pipet sahli dan mikropipet dapat diterima, tetapi dari hasil tersebut dapat ditarik kesimpulan bahwa penggunaan mikropipet lebih presisi daripada pipet sahli dalam pemeriksaan hemoglobin.

DAFTAR PUSTAKA

- A, H. (2000). System Manajemen Mutu Laboratorium Sesuai ISO/IEC 17025: 2000 "general Requirement For The Competence of Testing And Calibration Laboratories."
- Anonym (1). (2016). Jenis-jenis Pipet dan Fungsinya. Retrieved from <http://www.alatlabor.com/article/detail/54/pipet-pipet-ukur-pipet-tetes>
- Anonym (2). (2016). Spesifikasi Micropipet. Retrieved from <http://www.pt-abs.com/product/macropipette-socorex-p335592>.

aspx

- Dhyanaputri, I. S., Agustini, N. P. ., & Puryana, I. S. (2013). *Akurasi Dan Presisi Hasil Analisis Kadar Protein Terlarut Ikan Tuna*. Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Denpasar.
- Heryanti, D., Octaviana, E., & Sumirah, M. (2013). Perbedaan Kadar Hemoglobin Metode Sianmethemoglobin Dengan Waktu Inkubasi 3 Menit dan 5 Menit.
- Hidayat, N., & Sunarti, S. (2015). Validitas Pemeriksaan Kadar Hemoglobin Menggunakan Metode Hb Meter Pada Remaja Putri di MAN Wonosari. *Kesehatan Masyarakat*, 9(1).
- Karkalousos, P., & Evangelopoulos, A. (2011). *Quality Control in Clinical Laboratories*.
- Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. (2011). Pedoman Interpretasi Data Klinik. Jakarta.
- Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. (2013). Peraturan Menteri Kesehatan RI Nomor 43. Jakarta.
- Norsiah, W. (2015). Perbedaan Kadar Hemoglobin Metode Sianmethemoglobin dengan dan tanpa Sentrifugasi Pada Sampel Leukositosis. *Medical Laboratory Technology Journal*, 1(2).
- Riyanto. (2014). *Validasi dan Verifikasi Metode Uji : Sesuai dengan ISO/IEC17025 Laboratorium Pengujian dan Kalibrasi* (1st ed.). Yogyakarta: Deepublish.
- Sacher, R, A. &, & McPherson, R, A. (2004). *Tinjauan Klinis Hasil Pemeriksaan Laboratorium*. Jakarta: Buku Kedokteran ECG.
- W, A., & Herniah. (2001). *Perbedaan Kadar Hemoglobin Sampel Bercak Darah Kertas S&S903 dan Kertas Whatman-1 Dengan Sampel Darah Langsung*.
- World Health Organization. (2003). *Manual of Basic Techniques for a Health Laboratory*. Geneva.