



# Penggunaan Reagen Modifikasi pada Pemeriksaan Hemoglobin Metode Sianmethemoglobin

Muhammad Ahyat Ridhoni<sup>1</sup>, Rusmini<sup>2</sup>, Linda Yuliana<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Banjarmasin

Email : [ridhonianalis@gmail.com](mailto:ridhonianalis@gmail.com)

## Article Info

### Article history:

Received June 14, 2026

Revised June 27, 2026

Accepted July 10, 2026

### Keywords:

hemoglobin,  
cyanmethemoglobin,  
modified reagent,  
Drabkin reagent

## ABSTRACT

*The cyanmethemoglobin method is highly accurate for hemoglobin determination, but commercial Drabkin reagents are costly. This study evaluated the analytical performance of a surfactant-based modified reagent (a mixture of 5 mL dishwashing liquid, 10 mL Coco Glucoside, and distilled water to 1000 mL) compared to standard Drabkin reagent. A laboratory experimental study (Post-test Only Control Group Design) was conducted using commercial control blood at low, normal, and high levels (16 replicates each). Data were analyzed using paired sample t-tests and bias calculations. Results showed normal data distribution ( $p > 0.05$ ). No statistically significant differences were found between the modified and Drabkin reagents at low ( $p = 0.719$ ), normal ( $p = 0.084$ ), and high ( $p = 0.632$ ) levels, with percentage bias ranging from  $-0.06\%$  to  $-0.47\%$ . In conclusion, the surfactant-based modified reagent demonstrates analytical performance comparable to the Drabkin reagent, serving as a promising cost-effective alternative.*

This is an open access article under the [CC BY-SA](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/) license.



## Article Info

### Article history:

Received June 14, 2026

Revised June 27, 2026

Accepted July 10, 2026

### Keywords:

hemoglobin,  
sianmethemoglobin,  
reagen modifikasi,  
Drabkin

## ABSTRAK

Pemeriksaan hemoglobin metode sianmethemoglobin memiliki akurasi tinggi, namun reagen komersial seperti Drabkin relatif mahal. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi performa analitik reagen modifikasi berbasis surfaktan (campuran sabun cuci piring komersial 5 mL, *Coco Glucoside* 10 mL, dan akuades hingga 1000 mL) dibandingkan dengan reagen Drabkin komersial. Penelitian eksperimen laboratorium (*Post-test Only Control Group Design*) ini menggunakan darah kontrol komersial level rendah, normal, dan tinggi dengan 16 kali pengulangan tiap level. Data dianalisis menggunakan uji *paired sample t-test* dan perhitungan bias. Hasil menunjukkan seluruh data berdistribusi normal ( $p > 0,05$ ). Tidak terdapat perbedaan bermakna antara reagen modifikasi dan Drabkin pada level rendah ( $p = 0,719$ ), normal ( $p = 0,084$ ), maupun tinggi ( $p = 0,632$ ), dengan persentase bias berkisar  $-0,06\%$  hingga  $-0,47\%$ . Disimpulkan bahwa reagen modifikasi berbasis surfaktan memiliki performa analitik yang sebanding dengan reagen Drabkin dan berpotensi sebagai alternatif yang lebih ekonomis.

This is an open access article under the [CC BY-SA](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/) license.



**Corresponding Author:**

Muhammad Ahyat Ridhoni

**Poltekkes Kemenkes Banjarmasin**E-mail: [ridhonianalis@gmail.com](mailto:ridhonianalis@gmail.com)

---

**Pendahuluan**

Hemoglobin merupakan protein utama di dalam eritrosit yang berfungsi mengikat dan mengangkut oksigen dari paru-paru ke seluruh jaringan tubuh serta membawa karbon dioksida kembali ke paru-paru untuk dikeluarkan (Karakochuk et al., 2019). Penurunan kadar hemoglobin dalam darah disebut anemia. Anemia disebabkan oleh banyak faktor diantaranya perdarahan, nutrisi rendah, kekurangan zat besi, asam folat dan vitamin B12, sedangkan peningkatan kadar hemoglobin dalam darah disebut polisitemia (Tutik, 2019). Pemeriksaan hemoglobin merupakan salah satu pemeriksaan laboratorium yang paling sering dilakukan dalam bidang hematologi sebagai dasar penegakan diagnosis anemia, polisitemia, perdarahan maupun pemantauan terapi (World Health Organization, 2024). Oleh karena itu, hasil pemeriksaan hemoglobin harus memenuhi aspek akurasi, presisi, dan ketertelusuran agar dapat digunakan sebagai dasar pengambilan keputusan klinis.

Pemeriksaan hemoglobin dapat dilakukan menggunakan metode manual, semiautomatis, maupun otomatis. Ketepatan hasil pemeriksaan dipengaruhi oleh berbagai faktor, antara lain kualitas reagen, kalibrasi instrumen, serta penerapan prosedur pengendalian mutu laboratorium yang baik (Clark & Whitfield, 2020). Berbagai metode telah dikembangkan untuk menentukan kadar hemoglobin, di antaranya metode Sahli, metode sianmethemoglobin (*cyanmethemoglobin*), metode *Sodium Lauryl Sulfate-Hemoglobin* (SLS-Hb), serta pemeriksaan menggunakan *hematology analyzer*. Di antara metode tersebut, metode sianmethemoglobin masih diakui sebagai metode rujukan (*reference method*) karena mampu mengukur hampir seluruh fraksi hemoglobin, kecuali sulfhemoglobin, dengan tingkat akurasi, presisi, dan reproduksibilitas yang tinggi (Bansal et al., 2016). Selain itu, metode ini masih banyak digunakan di laboratorium klinik karena memberikan hasil pengukuran yang andal dengan tingkat kesalahan analitik yang rendah serta relatif lebih ekonomis untuk pemeriksaan hemoglobin dibandingkan metode otomatis pada kondisi tertentu (Ellies et al., 2024; Jain, 2020). Prinsip metode sianmethemoglobin diawali dengan oksidasi hemoglobin menjadi methemoglobin oleh kalium ferisianida (*potassium ferricyanide*), kemudian methemoglobin bereaksi dengan kalium sianida (*potassium cyanide*) membentuk senyawa sianmethemoglobin yang stabil. Konsentrasi hemoglobin selanjutnya ditentukan secara spektrofotometri berdasarkan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 540 nm, di mana nilai absorbansi berbanding lurus dengan konsentrasi sianmethemoglobin yang terbentuk (Sari et al., 2017).

Meskipun memiliki performa analitik yang baik, penggunaan reagen standar pada pemeriksaan hemoglobin masih memiliki beberapa keterbatasan. Penggunaan reagen komersial memerlukan biaya yang relatif tinggi untuk pemeriksaan rutin, terutama pada laboratorium dengan keterbatasan sumber daya, sehingga pemilihan metode pemeriksaan perlu mempertimbangkan aspek akurasi, efisiensi, dan biaya operasional (Jain, 2020). Selain itu, beberapa metode pemeriksaan masih menggunakan bahan kimia yang memerlukan penanganan serta pengelolaan limbah sesuai prosedur keselamatan laboratorium karena mengandung senyawa yang bersifat toksik (World Health Organization, 2024; López-Martínez et al., 2024). Kondisi tersebut mendorong berbagai penelitian untuk mengembangkan reagen alternatif yang



lebih ekonomis, mudah diperoleh, dan tetap memiliki performa analitik yang baik (Arnaud et al., 2017; López-Martínez et al., 2024).

Salah satu pendekatan yang banyak dikembangkan adalah pemanfaatan surfaktan sebagai agen pelisis eritrosit. Surfaktan mampu menurunkan tegangan permukaan membran sel sehingga mempercepat proses hemolisis dan pelepasan hemoglobin ke dalam larutan (Myung et al., 2019). Sodium Lauryl Sulfate (SLS) merupakan salah satu surfaktan yang telah digunakan pada metode *SLS-Hemoglobin* karena mampu membentuk kompleks yang stabil dengan hemoglobin sehingga menghasilkan pengukuran fotometrik yang akurat dan aman tanpa menggunakan sianida (Bansal et al., 2016; World Health Organization, 2024). Selain itu, surfaktan nonionik diketahui mampu meningkatkan homogenitas larutan, memperbaiki proses pembasahan (*wetting*), serta meningkatkan kestabilan sistem reaksi, sehingga berpotensi memperbaiki performa analitik suatu reagen (Rosen & Kunjappu, 2016).

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Ridhoni et al. (2025) mengevaluasi penggunaan beberapa larutan sabun cuci piring komersial yang mengandung Sodium Lauryl Sulfate sebagai reagen alternatif pada metode SLS-Hemoglobin. Hasil penelitian menunjukkan bahwa seluruh larutan sabun yang diuji mampu mengukur kadar hemoglobin, namun menghasilkan nilai yang lebih rendah dibandingkan reagen Sulfolyser sebagai standar. Salah satu formulasi memberikan hasil yang paling mendekati nilai acuan, tetapi analisis statistik masih menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna. Temuan tersebut menunjukkan bahwa surfaktan dalam produk komersial memiliki potensi sebagai bahan dasar reagen alternatif, namun komposisi dan konsentrasi surfaktan yang belum terstandar menyebabkan performa analitiknya belum dapat menyamai reagen standar.

Hasil penelitian tersebut menunjukkan adanya *research gap*, yaitu belum tersedianya formulasi reagen berbasis surfaktan yang memiliki komposisi terstandar sehingga mampu menghasilkan pemeriksaan hemoglobin dengan akurasi dan presisi yang setara dengan reagen standar. Oleh karena itu, diperlukan penelitian lanjutan untuk menyempurnakan formulasi reagen melalui penambahan surfaktan nonionik Coco Glucoside analytical grade guna meningkatkan homogenitas larutan, memperbaiki proses hemolisis eritrosit, dan meningkatkan kestabilan reagen (López-Martínez et al., 2024), (Arnaud et al., 2017). Selain penyempurnaan formulasi, penelitian ini juga menerapkan kalibrasi internal fotometer sebelum pemeriksaan untuk meminimalkan variasi akibat instrumen dan meningkatkan keandalan hasil pengukuran.

Kebaruan (*novelty*) penelitian ini terletak pada pengembangan formulasi reagen alternatif berbasis surfaktan melalui kombinasi surfaktan anionik dari sabun cuci piring komersial dengan surfaktan nonionik Coco Glucoside analytical grade, kemudian mengevaluasi performa analitiknya terhadap reagen Drabkin komersial pada metode sianmethemoglobin. Pendekatan ini diharapkan menghasilkan reagen alternatif yang lebih ekonomis, mudah dipersiapkan, dan memiliki hasil pemeriksaan yang sebanding dengan reagen standar sehingga berpotensi mendukung pemerataan layanan laboratorium klinik, khususnya pada fasilitas dengan keterbatasan sumber daya.

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis perbedaan hasil pemeriksaan kadar hemoglobin menggunakan reagen modifikasi berbasis surfaktan dan reagen Drabkin komersial pada metode sianmethemoglobin. Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan dasar ilmiah bagi pengembangan reagen alternatif yang memiliki performa analitik baik serta dapat menjadi salah satu pilihan dalam mendukung pemeriksaan hemoglobin yang berkualitas di laboratorium klinik.



## Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen laboratorium (*true experimental*) dengan rancangan Post-test Only Control Group Design. Penelitian bertujuan mengevaluasi performa reagen modifikasi berbasis surfaktan melalui perbandingan hasil pemeriksaan kadar hemoglobin menggunakan reagen modifikasi dengan reagen Drabkin komersial pada metode sianmethemoglobin (Clinical and Laboratory Standards Institute [CLSI], 2022; CLSI, 2023). Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Hematologi dan Kimia Klinik Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Banjarmasin pada bulan Juli tahun 2026.

Bahan yang digunakan dalam penelitian meliputi darah kontrol komersial level low, normal, dan high, reagen Drabkin komersial, sabun cuci piring komersial sebagai sumber surfaktan anionik, Coco Glucoside analytical grade sebagai surfaktan nonionik, serta akuades. Reagen modifikasi disusun menggunakan komposisi sebagai berikut :

Tabel 1. Komposisi Reagen Modifikasi

| No | Bahan                                      | Komposisi   | Fungsi                                                                                                                                                                                           |
|----|--------------------------------------------|-------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1  | Sabun cuci piring komersial                | 5 ml        | Sumber surfaktan anionik yang membantu proses lisis eritrosit sehingga hemoglobin dilepaskan ke dalam larutan.                                                                                   |
| 2  | Coco Glucoside ( <i>analytical grade</i> ) | 10 ml       | Surfaktan nonionik yang berfungsi meningkatkan homogenitas larutan, memperbaiki proses pembasahan ( <i>wetting</i> ), meningkatkan kestabilan reagen, serta membantu proses hemolisis eritrosit. |
| 3  | Akuades                                    | add 1000 ml | Pelarut untuk memperoleh volume akhir reagen dan menjaga homogenitas larutan.                                                                                                                    |

Reagen modifikasi dibuat dengan memipet 5 ml sabun cuci piring komersial dicampurkan dengan 10 ml Coco Glucoside (*analytical grade*). Campuran dihomogenkan, kemudian ditambahkan akuades hingga mencapai volume akhir 1000 ml. Larutan dihomogen dan disimpan pada suhu ruang.

Peralatan yang digunakan meliputi fotometer Rayto RT-1904C, mikropipet, tabung reaksi, rak tabung, vortex mixer, labu ukur, gelas beker, batang pengaduk, timer, dan alat gelas laboratorium lainnya. Sebelum pemeriksaan dilakukan, fotometer dikalibrasi menggunakan prosedur kalibrasi internal sesuai standar operasional laboratorium. Kalibrasi dilakukan untuk memastikan ketepatan pembacaan absorbansi serta meminimalkan kesalahan sistematik akibat instrumen.

Pemeriksaan kadar hemoglobin dilakukan menggunakan metode sianmethemoglobin. Darah kontrol komersial level low, normal, dan high diperiksa menggunakan dua jenis reagen, yaitu reagen Drabkin komersial sebagai kontrol dan reagen modifikasi sebagai kelompok perlakuan. Sebanyak 10  $\mu$ l darah kontrol ditambahkan ke dalam 2500  $\mu$ l reagen, kemudian dihomogenkan menggunakan vortex dan diinkubasi selama 5 menit sesuai prosedur metode sianmethemoglobin hingga reaksi berlangsung sempurna. Selanjutnya absorbansi diukur menggunakan fotometer pada panjang gelombang 540 nm. Pemeriksaan dilakukan sebanyak 16 kali pengulangan pada masing-masing level kontrol untuk setiap jenis reagen.

Variabel bebas pada penelitian ini adalah jenis reagen yang digunakan, yaitu reagen Drabkin komersial dan reagen modifikasi berbasis surfaktan. Variabel terikat adalah hasil pemeriksaan kadar hemoglobin (g/dl) yang diperoleh menggunakan metode sianmethemoglobin.



Variabel yang dikendalikan meliputi volume reagen, volume sampel, panjang gelombang pembacaan (540 nm), waktu inkubasi, suhu pemeriksaan, jenis darah kontrol, serta prosedur pemeriksaan.

Data hasil pemeriksaan dianalisis menggunakan program IBM SPSS Statistics. Analisis deskriptif dilakukan untuk memperoleh nilai rerata, simpangan baku, nilai minimum, dan maksimum. Uji normalitas data menggunakan Shapiro–Wilk. Data yang berdistribusi normal dianalisis menggunakan paired sample t-test, sedangkan data yang tidak berdistribusi normal dianalisis menggunakan Wilcoxon signed-rank test. Seluruh pengujian dilakukan pada tingkat kepercayaan 95% dengan nilai signifikansi  $\alpha = 0,05$ .

Penelitian menggunakan darah kontrol komersial sebagai bahan pemeriksaan sehingga tidak melibatkan spesimen biologis yang berasal langsung dari manusia. Penelitian tetap dilaksanakan sesuai prinsip integritas ilmiah, keselamatan kerja laboratorium, dan standar operasional prosedur yang berlaku di Laboratorium Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Banjarmasin.

## Hasail dan Pembahasan

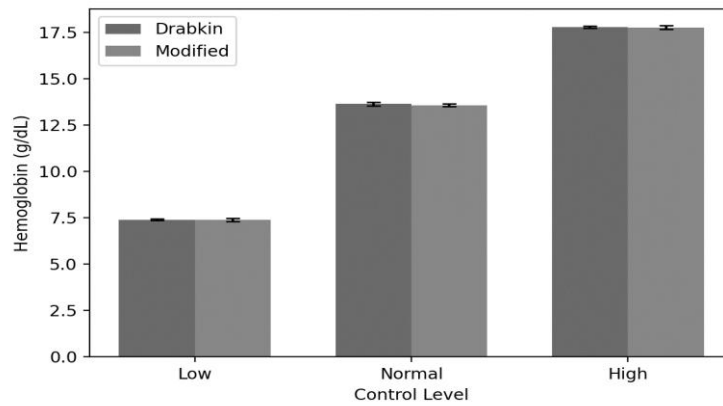
Penelitian ini bertujuan mengevaluasi performa reagen modifikasi berbasis surfaktan pada pemeriksaan kadar hemoglobin metode sianmethemoglobin dengan membandingkannya terhadap reagen Drabkin komersial. Pengujian dilakukan menggunakan darah kontrol komersial level rendah, normal, dan tinggi. Masing-masing level diperiksa sebanyak 16 kali pengulangan menggunakan kedua jenis reagen.

Hasil pemeriksaan menunjukkan bahwa nilai kadar hemoglobin yang diperoleh menggunakan reagen modifikasi memiliki rerata dan rentang hasil yang sangat mendekati hasil pemeriksaan menggunakan reagen Drabkin komersial pada seluruh level kontrol. Hasil analisis deskriptif disajikan pada Tabel 1.

Tabel 2. Hasil Pemeriksaan Kadar Hemoglobin Menggunakan Reagen Drabkin dan Reagen Modifikasi

| Level Kontrol | Reagen     | Mean $\pm$ SD (g/dl) | Rentang (g/dl) |
|---------------|------------|----------------------|----------------|
| <b>Rendah</b> | Drabkin    | 7,40 $\pm$ 0,05      | 7,31–7,52      |
|               | Modifikasi | 7,39 $\pm$ 0,08      | 7,24–7,56      |
| <b>Normal</b> | Drabkin    | 13,64 $\pm$ 0,11     | 13,40–13,79    |
|               | Modifikasi | 13,57 $\pm$ 0,07     | 13,45–13,70    |
| <b>Tinggi</b> | Drabkin    | 17,78 $\pm$ 0,06     | 17,67–17,91    |
|               | Modifikasi | 17,77 $\pm$ 0,10     | 17,58–17,88    |

Gambar 1. Grafik rerata kadar hemoglobin menggunakan reagen Drabkin dan reagen modifikasi pada tiga level kontrol (mean  $\pm$  SD)



Gambar 1 menunjukkan bahwa rerata kadar hemoglobin yang diperoleh menggunakan reagen modifikasi hampir sama dengan reagen Drabkin pada seluruh level kontrol. Perbedaan rerata antar reagen tampak sangat kecil, sedangkan nilai simpangan baku pada kedua kelompok relatif serupa. Temuan ini menunjukkan bahwa reagen modifikasi memiliki konsistensi hasil yang baik dan memberikan performa analitik yang sebanding dengan reagen Drabkin.

Uji normalitas dilakukan menggunakan metode Shapiro–Wilk karena jumlah data pada masing-masing kelompok kurang dari 50. Hasil pengujian menunjukkan bahwa seluruh data berdistribusi normal sehingga memenuhi syarat untuk dilakukan analisis parametrik menggunakan uji *paired sample t-test*.

Tabel 3. Hasil Uji Normalitas Shapiro–Wilk

| Perlakuan                | Shapiro-Wilk |    |      |
|--------------------------|--------------|----|------|
|                          | Statistic    | df | Sig. |
| Reagen Drabkin Low       | .969         | 16 | .825 |
| Reaen Drabkin Normal     | .940         | 16 | .346 |
| Reagen Drabkin High      | .976         | 16 | .918 |
| Reagen modifikasi Low    | .987         | 16 | .995 |
| Reagen modifikasi Normal | .982         | 16 | .977 |
| Reagen modifikasi High   | .921         | 16 | .178 |

Hasil uji normalitas menunjukkan bahwa seluruh kelompok memiliki nilai signifikansi lebih besar dari 0,05 ( $p > 0,05$ ), sehingga data dinyatakan berdistribusi normal dan analisis dilanjutkan menggunakan uji *paired sample t-test*.

Tabel 4. Hasil Uji Paired Sample t-test

| Pair                               | Paired Differences |                |                 |                                           |        | t     | df | Sig. (2-tailed) |
|------------------------------------|--------------------|----------------|-----------------|-------------------------------------------|--------|-------|----|-----------------|
|                                    | Mean               | Std. Deviation | Std. Error Mean | 95% Confidence Interval of the Difference |        |       |    |                 |
|                                    |                    |                |                 | Lower                                     | Upper  |       |    |                 |
| Hb Drabkin Low - Hb Modifikasi Low | .01000             | .10924         | .02731          | -.04821                                   | .06821 | .366  | 15 | .719            |
| Hb Drabkin Normal - Hb             | .06438             | .13914         | .03478          | -.00977                                   | .13852 | 1.851 | 15 | .084            |



|                                      |        |        |        |         |        |      |    |      |
|--------------------------------------|--------|--------|--------|---------|--------|------|----|------|
| Modifikasi Normal                    |        |        |        |         |        |      |    |      |
| Hb Drabkin High - Hb Modifikasi High | .01125 | .09208 | .02302 | -.03781 | .06031 | .489 | 15 | .632 |

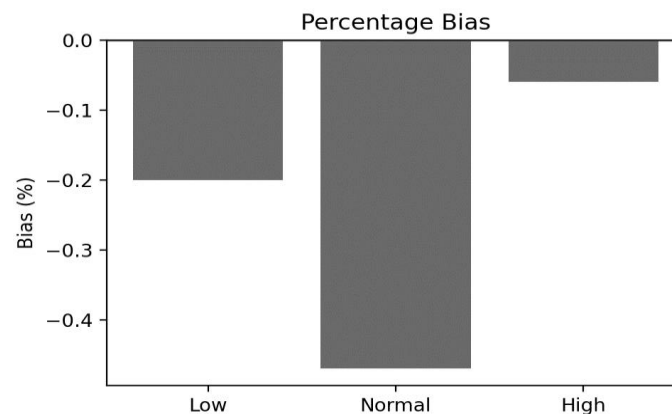
Hasil uji paired sample t-test menunjukkan bahwa nilai signifikansi pada level kontrol rendah sebesar 0,719, level normal sebesar 0,084, dan level tinggi sebesar 0,632. Seluruh nilai signifikansi lebih besar dari 0,05 ( $p > 0,05$ ), sehingga tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara hasil pemeriksaan kadar hemoglobin menggunakan reagen modifikasi dan reagen Drabkin komersial.

Selain dilakukan uji statistik, performa reagen modifikasi juga dievaluasi menggunakan persentase bias terhadap reagen Drabkin sebagai metode pembandingan. Penilaian bias dilakukan sesuai pedoman CLSI EP09-A3 (2023). Hasil perhitungan bias disajikan pada Tabel 5.

Tabel 5. Persentase Bias Reagen Modifikasi terhadap Reagen Drabkin

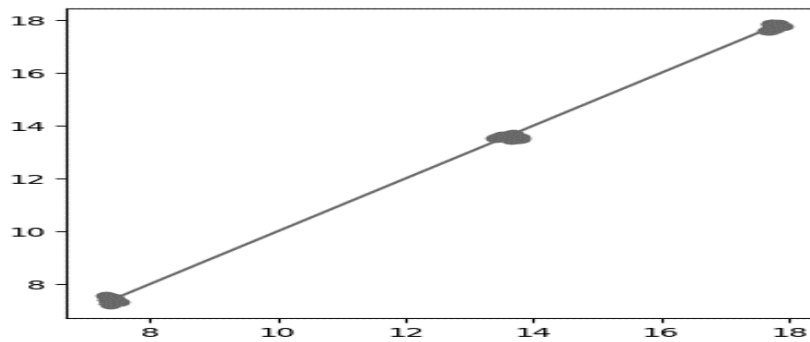
| Level Kontrol | Mean Drabkin (g/dl) | Mean Reagen Modifikasi (g/dl) | Bias (%) |
|---------------|---------------------|-------------------------------|----------|
| Rendah        | 7,401               | 7,387                         | -0,20    |
| Normal        | 13,636              | 13,571                        | -0,47    |
| Tinggi        | 17,776              | 17,765                        | -0,06    |

Gambar 2. Grafik Persentase Bias



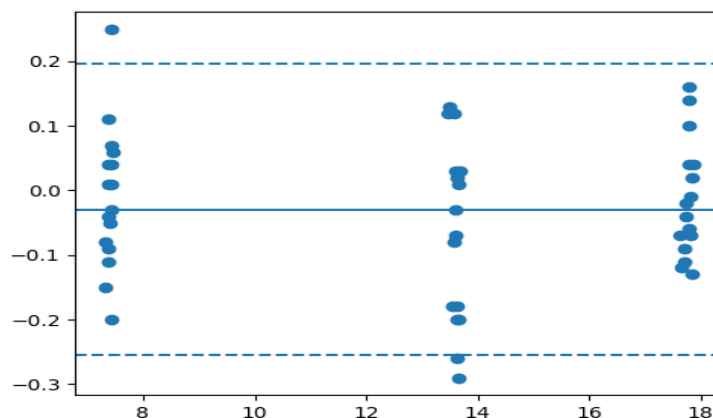
Hasil analisis menunjukkan bahwa persentase bias reagen modifikasi terhadap reagen Drabkin pada level kontrol rendah, normal, dan tinggi berturut-turut sebesar -0,20%, -0,47%, dan -0,06%. Seluruh nilai bias berada di bawah 1%, menunjukkan bahwa rerata hasil pemeriksaan menggunakan reagen modifikasi sangat mendekati rerata hasil pemeriksaan menggunakan reagen Drabkin.

Gambar 3. Scatter plot



Gambar 3 menunjukkan hubungan yang sangat kuat antara hasil pemeriksaan hemoglobin menggunakan reagen Drabkin dan reagen modifikasi. Titik-titik pengamatan berada di sekitar garis identitas ( $y = x$ ), yang menunjukkan bahwa hasil pemeriksaan menggunakan kedua reagen memiliki kesesuaian yang baik pada seluruh level kontrol.

Gambar 4. Bland–Altman plot



Gambar 4 menunjukkan bahwa sebagian besar selisih hasil pemeriksaan antara reagen modifikasi dan reagen Drabkin berada di dalam batas kesepakatan (*limits of agreement*). Tidak tampak pola sistematis yang menunjukkan peningkatan atau penurunan selisih seiring meningkatnya kadar hemoglobin, sehingga reagen modifikasi memiliki tingkat kesesuaian yang baik dengan reagen Drabkin pada rentang konsentrasi yang diuji.

Secara keseluruhan, hasil penelitian menunjukkan bahwa reagen modifikasi berbasis surfaktan menghasilkan nilai pemeriksaan kadar hemoglobin yang sebanding dengan reagen Drabkin komersial pada seluruh level kontrol. Kesamaan nilai rerata, rentang hasil pemeriksaan, tidak adanya perbedaan yang bermakna secara statistik, serta nilai bias yang sangat kecil menunjukkan bahwa reagen modifikasi memiliki performa analitik yang baik pada pemeriksaan hemoglobin metode sianmethemoglobin.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemeriksaan kadar hemoglobin menggunakan reagen modifikasi berbasis surfaktan menghasilkan nilai yang sangat mendekati hasil pemeriksaan menggunakan reagen Drabkin komersial pada seluruh level kontrol (Bansal et al., 2016). Hal ini terlihat dari kesamaan rentang hasil pemeriksaan, rerata kadar hemoglobin, serta hasil uji *paired sample t-test* yang menunjukkan tidak terdapat perbedaan bermakna pada level kontrol rendah ( $p = 0,719$ ), normal ( $p = 0,084$ ), maupun tinggi ( $p = 0,632$ ). Selain itu, persentase



bias antara reagen modifikasi dan reagen Drabkin berada pada kisaran  $-0,06\%$  hingga  $-0,47\%$ , yang menunjukkan penyimpangan rerata hasil pengukuran sangat kecil.

Kesesuaian hasil pemeriksaan tersebut menunjukkan bahwa reagen modifikasi mampu menghasilkan respons analitik yang sebanding dengan reagen Drabkin dalam mengukur kadar hemoglobin metode sianmethemoglobin. Variasi hasil antar pengulangan yang relatif kecil pada seluruh level kontrol juga menunjukkan bahwa formulasi reagen memiliki konsistensi yang baik selama proses pengujian. Konsistensi hasil ini merupakan salah satu karakteristik penting dalam evaluasi performa suatu reagen karena berkaitan dengan kemampuan menghasilkan pengukuran yang berulang dan dapat dipercaya (CLSI, 2022).

Hasil penelitian ini diduga dipengaruhi oleh formulasi reagen yang mengombinasikan surfaktan anionik dari sabun cuci piring komersial dengan Coco Glucoside sebagai surfaktan nonionik. Surfaktan anionik berperan dalam melisiskan membran eritrosit sehingga hemoglobin dilepaskan ke dalam larutan (Arnaud et al., 2017), sedangkan Coco Glucoside berfungsi meningkatkan homogenitas larutan, memperbaiki proses pembasahan (*wetting*), dan membantu menjaga kestabilan sistem reaksi (López-Martínez et al., 2024). Kombinasi kedua jenis surfaktan tersebut diduga menghasilkan proses hemolisis yang lebih seragam sehingga pembentukan kompleks hemoglobin berlangsung lebih konsisten dan menghasilkan pembacaan absorbansi yang stabil.

Temuan penelitian ini merupakan pengembangan dari penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Ridhoni et al. (2025). Pada penelitian tersebut, beberapa larutan sabun komersial yang mengandung Sodium Lauryl Sulfate (SLS) dievaluasi sebagai reagen alternatif pada metode SLS-Hemoglobin. Hasil penelitian menunjukkan bahwa seluruh larutan sabun mampu mengukur kadar hemoglobin, namun menghasilkan nilai yang lebih rendah dibandingkan reagen Sulfolyser. Salah satu formulasi memberikan hasil yang paling mendekati nilai acuan, tetapi masih menunjukkan perbedaan yang bermakna secara statistik. Penelitian tersebut menyimpulkan bahwa konsentrasi dan komposisi surfaktan dalam produk komersial belum terstandar sehingga diperlukan penyempurnaan formulasi.

Berdasarkan temuan tersebut, penelitian ini melakukan modifikasi formulasi melalui penambahan Coco Glucoside analytical grade ke dalam reagen berbasis surfaktan. Penambahan surfaktan nonionik ini bertujuan meningkatkan homogenitas campuran dan memperbaiki karakteristik reagen tanpa mengubah prinsip dasar pemeriksaan hemoglobin. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penyempurnaan formulasi tersebut mampu menghasilkan performa analitik yang lebih baik dibandingkan formulasi pada penelitian sebelumnya, yang ditunjukkan oleh kesesuaian hasil dengan reagen Drabkin serta nilai bias yang sangat kecil pada seluruh level kontrol.

Selain modifikasi formulasi reagen, penelitian ini juga menerapkan kalibrasi internal fotometer sebelum pemeriksaan. Kalibrasi internal dilakukan untuk memastikan ketepatan pembacaan absorbansi dan mengurangi kesalahan sistematik yang berasal dari instrumen (ISO, 2022). Dengan demikian, perbedaan hasil pengukuran yang diperoleh lebih mencerminkan performa reagen daripada variasi alat ukur. Penerapan prosedur kalibrasi ini menjadi salah satu faktor yang mendukung keandalan hasil penelitian.

Secara praktis, hasil penelitian menunjukkan bahwa reagen modifikasi berbasis surfaktan memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai reagen alternatif pada pemeriksaan hemoglobin metode sianmethemoglobin. Formulasi reagen menggunakan bahan yang relatif mudah diperoleh dan sederhana untuk dipersiapkan, sehingga berpotensi menjadi pilihan yang



lebih ekonomis bagi laboratorium dengan keterbatasan sumber daya. Meskipun demikian, pemanfaatannya dalam pelayanan laboratorium masih memerlukan tahapan validasi yang lebih luas sebelum dapat diterapkan secara rutin.

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan. Evaluasi dilakukan menggunakan darah kontrol komersial sehingga belum menggambarkan variasi biologis yang terdapat pada spesimen pasien. Selain itu, parameter yang dievaluasi masih terbatas pada perbandingan hasil pemeriksaan, uji normalitas, uji t-berpasangan, dan persentase bias. Penelitian selanjutnya disarankan untuk melakukan validasi yang lebih komprehensif, meliputi uji presisi, akurasi, linearitas, batas deteksi, stabilitas reagen selama penyimpanan, serta pengujian menggunakan spesimen darah pasien dengan rentang kadar hemoglobin yang lebih beragam (CLSI, 2022; CLSI, 2023). Pengembangan tersebut diharapkan dapat memperkuat bukti ilmiah mengenai kelayakan reagen modifikasi sebagai alternatif reagen pemeriksaan hemoglobin.

### **Simpulan**

Reagen modifikasi berbasis surfaktan yang diformulasikan dari sabun cuci piring komersial, Coco Glucoside analytical grade, dan akuades mampu menghasilkan nilai pemeriksaan kadar hemoglobin yang sebanding dengan reagen Drabkin komersial pada metode sianmethemoglobin. Hasil pemeriksaan pada darah kontrol level rendah, normal, dan tinggi menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang bermakna secara statistik ( $p > 0,05$ ), dengan nilai persentase bias yang sangat kecil, yaitu berkisar antara  $-0,06\%$  hingga  $-0,47\%$ . Temuan ini menunjukkan bahwa reagen modifikasi memiliki performa analitik yang baik dalam pemeriksaan kadar hemoglobin.

Pengembangan formulasi reagen melalui penambahan Coco Glucoside sebagai surfaktan nonionik serta penerapan kalibrasi internal fotometer memberikan hasil pengukuran yang konsisten dan mendekati reagen standar. Oleh karena itu, reagen modifikasi berpotensi dikembangkan sebagai reagen alternatif yang lebih ekonomis pada pemeriksaan hemoglobin metode sianmethemoglobin, khususnya untuk laboratorium dengan keterbatasan sumber daya. Penelitian lanjutan masih diperlukan untuk mengevaluasi stabilitas reagen selama penyimpanan, presisi, akurasi, linearitas, batas deteksi, serta performa reagen pada spesimen darah pasien sebelum dapat direkomendasikan untuk penggunaan rutin di laboratorium klinik.

### **Saran**

Penelitian selanjutnya disarankan melakukan evaluasi stabilitas reagen dalam berbagai kondisi penyimpanan, menguji presisi antarhari dan antarinstrumen, serta membandingkan hasil pemeriksaan menggunakan spesimen darah pasien dengan berbagai rentang kadar hemoglobin. Selain itu, perlu dilakukan validasi metode secara lebih komprehensif sesuai pedoman laboratorium klinik agar reagen modifikasi dapat dipertimbangkan sebagai alternatif reagen pada pemeriksaan hemoglobin metode sianmethemoglobin.

### **Daftar Pustaka**

- Arnaud, F., Higgins, A., McCarron, R., & Moon-Massat, P. F. (2017). Determination of methemoglobin and hemoglobin levels in small volume samples. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 45(1), 58–62. <https://doi.org/10.3109/21691401.2016.1138490>



- Bansal, P. G., Toteja, G. S., Bhatia, N., Gupta, S., Kaur, M., Adhikari, T., & Garg, A. K. (2016). Comparison of haemoglobin estimates using direct and indirect cyanmethaemoglobin methods. *Indian Journal of Medical Research*, 144(4), 566–571. <https://doi.org/10.4103/0971-5916.200882>
- Clark, K. S., & Whitfield, D. B. (2020). Manual, semiautomated, and point-of-care testing in hematology. In *Rodak's Hematology: Clinical Principles and Applications* (6th ed.). Elsevier.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. (2022). *Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures (EP05-A3)*. CLSI.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. (2023). *Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (EP17)*. CLSI.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. (2023). *Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples (EP09-A3)*. CLSI.
- Ellies Tunjung Sari, Rahma Widiyastuti, Tri Ade Saputro. 2024. Hematologi Dasar. Kedung Kandang Malang : Rena Cipta Mandiri.
- International Organization for Standardization. (2022). *ISO 15189:2022 Medical laboratories—Requirements for quality and competence*. ISO.
- Jain, D. K. (2020). Comparison of automated method and photometric cyanmethemoglobin method for haemoglobin estimation. *IP Journal of Diagnostic Pathology and Oncology*, 5(3), 273–276. <https://doi.org/10.18231/j.jdpo.2020.053>
- Karakochuk, C. D., Whitfield, K. C., Barr, S. I., Lamers, Y., Devlin, A. M., & Green, T. J. (2019). Measurement and interpretation of hemoglobin concentration in clinical and field settings: A narrative review. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1450(1), 126–146.
- Lopez-Martinez, M., Garcia-Rubio, J., Perez-Garcia, M., et al. (2024). Comparative evaluation of UV–Vis spectroscopy-based approaches for hemoglobin quantification: Method selection and practical insights. *Biomolecules*, 14(9), 1046. <https://doi.org/10.3390/biom14091046>
- Ridhoni, M. A., Rachmah, S, Rusmini. (2025). Penggunaan larutan sabun komersial sebagai reagen alternatif pada pemeriksaan hemoglobin metode SLS-Hemoglobin. Jurnal Praba. Vol 3 No. 3. <https://doi.org/10.62027/praba.v3i3.519>
- Rosen, M. J., & Kunjappu, J. T. (2016). *Surfactants and interfacial phenomena* (4th ed.). John Wiley & Sons.
- Sari ER., Santosa B, Sukeksi A,. 2017. Perbandingan Hasil Pemeriksaan Hemoglobin Menggunakan Alat Automatik Hematology Analyzer dan Semi Automatik Photometer. Thesis. Universitas Muhammadiyah Semarang.
- Tutik, Susilowati Ningsih. 2019. Pemeriksaan Kesehatan Hemoglobin di Posyandu Lanjut Usia (Lansia) Pekon Tulung Agung Puskesmas GadingRejo Pringsewu. Jurnal Pengabdiaan Farmasi Malahayati. Vol 2 No.
- World Health Organization. (2024). *Diagnosing anemia: Challenges selecting methods, addressing underlying causes, and implementing actions at the public health level*. *Annals of the New York Academy of Sciences*.
- World Health Organization. (2024). *Diagnosing anemia: Challenges selecting methods, addressing underlying causes, and implementing actions at the public health level*. *Annals of the New York Academy of Sciences*.