

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Darah

Darah adalah cairan utama hewan maupun manusia. Saat kondisi normal, darah akan berada didalam pembuluh darah, sehingga darah bisa melakukan tugasnya yaitu mengangkut oksigen, pertahanan awal tubuh jika terserang infeksi dan mempertahankan hemostasis (Bakta, 2017). Setiap orang memiliki minimal sekitar 70 ml cairan tubuh untuk setiap kilogram berat badannya, atau sekitar 3,5 liter bagi mereka yang memiliki berat badan 50 kg atau lebih. Darah terdiri dari air dengan komposisi sekitar 50-60%, komponen lainnya merupakan komponen sel darah. Plasma adalah sebutan untuk komponen darah yang terdiri dari 90% air dan 10% ion, glukosa, amonia, hormon, serta berbagai protein. Dari segi struktur, serum mirip dengan plasma, namun tidak mengandung fibrinogen, yaitu sejenis faktor koagulasi dan agen hemostasis. Komponen lain dari sel darah yaitu Eritrosit (sel darah merah), leukosit (sel darah putih) dengan berbagai jenisnya, dan trombosit (trombosit) (Kiswari, 2014)

Jumlah komponen sel darah merah setiap individu berbeda-beda berdasarkan jenis kelaminnya. Jumlah komponen darah sebagaimana dikemukakan dibawah ini sebgai berikut:

Tabel 1
Nilai Normal Komponen Darah

Komponen	Laki laki	Perempuan
Hemoglobin (g/dL)	14-18	12-16
Hematokrit (%)	42-52	37-47
Jumlah Eritrosit (juta/mL)	4,7-6,1	4,2-5,4
Jumlah Leukosit (juta/mL)	4,0-10,0	4,0-10,0
Jumlah Trombosit (juta/mL)	150-400	150-400

Sumber: Kiswari, Hematologi & Transfusi, 2014

1. Fungsi darah

a. Fungsi Pernapasan

Dalam komponen darah terdapat eritrosit yang akan membantu dalam membawa oksigen dari paru paru menuju jaringan dan diedarkan ke seluruh bagian tubuh serta dari jaringan membawa karbondioksida menuju paru paru untuk dikeluarkan. Dalam tugasnya, eritrosit dibantu oleh hemoglobin dalam mengangkut oksigen dan karbon dioksida

b. Fungsi Nutrisi

Sistem pencernaan berfungsi mencerna makanan yang masuk kedalam tubuhan, makanan yang kita makan mengandung beberapa kandungan seperti karbohidrat, protein dan lemak sehingga nutrisi akan diabsorpsi pada lumen usus ke kapiler darah yang berada di dekat usus. Namun ada juga beberapa nutrisi yang disintesis pada organ hati. Semua nutrisi tersebut akan diangkut oleh darah, dengan bantuan sistem kardiovaskuler dan disalurkan keseluruh tubuh

c. Fungsi ekskresi

Sel yang berada didalam jaringan memiliki tugas untuk mengeluarkan sisa metabolisme yaitu sampah yang tidak diserap oleh tubuh untuk menghindari terjadinya kerusakan sel atau organ dan gangguan kesehatan bila terus tertimbun

didalam tubuh. Pengeluaran sisa metabolisme tersebut, melalui sistem kardiovaskuler akan dibawa melalui darah ke organ ekskresi.

d. Fungsi Penyeimbang Asam Basa

Keasaman dalam tubuh sangat penting dalam aktivitas fisiologis tubuh, dalam hal ini maka sangat diperlukan proses metabolisme yang akan membantu menyeimbangkan asam basa dalam tubuh. Kelebihan senyawa tersebut akan dibuang ke organ ginjal dan paru paru. Darah yang akan mengangkut senyawa yang mengganggu keseimbangan asam basa tubuh dari seluruh tubuh

e. Fungsi Penyeimbang Air Tubuh

Air adalah komponen dalam tubuh yang ada sekitar 60%-75% dari berat badan manusia yang terdiri dari cairan internal dan eksternal. Darah merupakan salah satu jenis cairan eksternal dalam tubuh yang terdapat dalam intravaskuler. Karena darah mengandung air maka darah dalam intravaskuler mudah berpindah mengelilingi seluruh tubuh dan bisa mengangkut komponen lain didalam tubuh. Air yang terdapat bersama protein plasma memiliki fungsi mengatur tekanan osmotik. Sehingga cairan dalam tubuh harus tetap seimbang agar tekanan osmotik tetap terjaga. Kekurangan cairan akan diperoleh kembali melalui makanan dan minuman sedangkan kelebihan cairan akan dibuang melewati organ ekskresi.

f. Fungsi Pengaturan Suhu Tubuh

Suhu tubuh yang normal berkisar antara 36,5⁰C sampai 37,5⁰C. Suhu dalam tubuh harus selalu dalam keadaan normal untuk mempertahankan keoptimalan dari organ dan aktivitas sel dalam tubuh. Jika suhu tubuh meningkat maka akan menyebabkan pembuluh darah melebar (vaso-dilatasi) sehingga menyebabkan mengalirnya darah di bawah kulit yang mengandung kelenjar keringat dan akan

memproduksi keringat lebih banyak untuk menurunkan suhu tubuh. Namun jika suhu tubuh menurun (vaso-kostriksi) menyebabkan pembuluh darah menyempit, sehingga aliran darah ke kelenjar keringat berkurang dan mempengaruhi produksi keringat.

g. Fungsi Pertahanan Terhadap Infeksi

Salah satu komponen darah yaitu leukosit. Leukosit mempunyai fungsi sebagai benteng dalam tubuh dari paparan benda asing ataupun agen penyakit seperti bakteri, virus, dan parasit yang ingin masuk ke dalam tubuh. Cara leukosit melakukan proteksi yaitu dengan penyisihan melalui proses fagositosis dan pembentukan antibodi

h. Fungsi Pembekuan Darah

Darah mengalir dalam tubuh dengan sistem peredaran darah tertutup, namun kadang kala darah bisa keluar akibat adanya luka sehingga perlu adanya pembekuan darah (hemostasis) untuk menutupi luka tersebut agar darah tidak terus menerus keluar. Trombosit adalah komponen darah yang bertugas sebagai faktor pembekuan darah (Nugraha, 2017)

B. Sel Darah Merah

Eritrosit merupakan bagian dari sel darah merah yang tidak memiliki inti sel, namun berisi berbagai organel dalam sitoplasma yaitu hemoglobin yang bertugas mengikat zat besi (Fe) dan mengikat oksigen. Eritrosit berupa bikonkaf, yang berukuran sekitar 7-8 mikrometer. Eritrosit dapat mengalami perubahan bentuk karena memiliki bentuk bikonkaf yang elastis sehingga disaat melakukan tugasnya melewati kapiler yang lebarnya hanya setengahnya dapat dilalui dengan baik. Jika

dilihat dengan mikroskop, eritrosit berbentuk bulat, berwarna merah, dan tengahnya terlihat pucat atau yang dinamai central pallor dengan diameter berkisaran satu pertiga dari ukuran eritrosit. Eritrosit merupakan komponen yang lebih banyak ditemukan di dalam darah dibanding dengan komponen darah lainnya. Terdapat 4,5-6 juta eritrosit dalam 1 mililiter darah (Kiswari, 2014). Eritrosit mengandung enzim pada sambungan Emden-Meyerhoff atau glikolitik yang menghasilkan energi untuk kebutuhan sel, serta enzim pada sambungan pentosa (hexosamonophosphate) yang menjaga sel dari kerusakan yang diakibatkan oleh oksidan. Sel-sel tua akan dihilangkan oleh makrofag sebagian besar di getah bening selama periode waktu eritrosit 120 hari (Bain, 2019)

1. Fungsi sel darah merah

Tugas utama eritrosit yaitu membawa oksigen dari paru paru menuju jaringan perifer, membawa Karbondioksida (CO_2) dari jaringan menuju paru-paru, dan membantu pembentukan NO dan vasodilatasi pada kondisi hipoksia karena darah mengangkut metabolisme Nitrit Oksida (NO). Dari semua tugas dari eritrosit tersebut dibantu oleh hemoglobin. (Bain, 2019)

2. Perkembangan dan pematangan sel darah merah

Perkembangan dan pematangan eritrosit berlangsung dengan cepat. Langkah sel paling muda untuk menjadi retikulosit muda berlangsung selama 4 hingga 5 hari dan butuh waktu 2,5 hari untuk retokulosit matang dalam sumsum tulang. Setelah peralihan dari retikulosit muda di sumsum tulang ke peredaran darah, kira-kira 0,5 hingga 1,5% dari jumlah awal dan menjadi eritrosit menggantikan eritrosit tua yang sudah lisis dalam 1 hari. Selanjutnya sumsum tulang akan memperkenalkan

retikulosit pada jumlah yang sama, sehingga eritrosit dalam darah tetap terjaga (Kiswari, 2014)

C. Hemoglobin

Hemoglobin, protein yang mengandung zat besi, terdiri dari empat rantai polipeptida, atau rantai globin, dengan kantong yang dalam di setiap rantai untuk menyimpan gugus heme yang mengandung zat besi. Hemoglobin berfungsi untuk mengangkut oksigen (O_2) dari paru-paru ke seluruh tubuh dan ditukar dengan karbondioksida (CO_2) dari jaringan dan dilepaskan melalui paru-paru (Bain, 2019). Butuh 640 juta hemoglobin dalam setiap eritrosit untuk menjalankan fungsinya dengan baik. Hemoglobin juga memiliki turunan diantaranya; methemoglobin (Hi), sulfemoglobin (SHb) dan karboksihemoglobin (HbCO). Pemeriksaan Hemoglobin ini sering digunakan untuk pemeriksaan anemia karena hemoglobin mengikat zat besi yang bertanggung jawab atas pembentukan sel darah merah. Pemeriksaan hemoglobin terdapat didalam darah mempunyai fungsi penting dalam mendiagnosa beberapa penyakit. Hemoglobin juga memiliki tugas penting sebagai pertahanan sel darah merah dalam bentuk bikonkaf, sehingga penurunan hemoglobin akan mengganggu bentuk sel darah merah, dan elastisitas sel darah merah melewati kapiler akan berkurang. Akibatnya kekurangan zat besi dapat mengakibatkan munculnya anemia (Kiswari, 2014). Nilai Rujukan yang digunakan untuk pemeriksaan hemoglobin sebagai berikut:

Tabel 2
Nilai Rujukan Pemeriksaan Hemoglobin

Kriteria	Nilai Rujukan
Bayi Baru Lahir	14-24 g/dL
Bayi	10-17 g/dL
Anak anak	11-16 g/dL
Laki laki Dewasa	14-18 g/dL
Wanita Dewasa	12-16 g/dL

Sumber: Nugraha, Panduan Pemeriksaan Laboratorium Hematologi Dasar, 2017

1. Fungsi hemoglobin

Fungsi utama hemoglobin (Hb) ditinjau dari segi kimia fisika adalah mengatur penggunaan oksigen dan karbondioksida dalam jaringan tubular. Mengambil oksigen dari paru-paru dan dibawa ke seluruh aliran darah untuk digunakan oleh seluruh tubuh sebagai penyebaran oksigen. Mengangkut karbindioksida dari metabolisme tubuh ke paru-paru untuk dibuang. (Agustiyawan *dkk*, 2022)

2. Sintesis hemoglobin

Sintesis heme dan sintesis rantai globin merupakan dua sintesis yang berperan dalam sintesis hemoglobin. Tahap normoblast polikromatik dalam eritropoiesis merupakan tahap awal sintesis hemoglobin yang menunjukkan perubahan warna sitoplasma dari biru tua menjadi ungu. Sebanyak 65% dari hemoglobin disintesis sebelum inti eritrosit menghilang, dan 35% disintesis pada tahap retikulosit. Eritrosit matang biasanya mengandung hemoglobin yang lengkap. (Kiswari, 2014)

Sintesis heme diawali dengan kondensasi glisin dan suksinil koenzim A untuk membentuk asam aminolevulinat (ALA) dengan bantuan enzim ALA sintase. Vitamin B6 membantu sebagai koenzim pada reaksi pembuatan ALA yang dirangsang oleh hormon eritropoetin. ALA akan dibawa dari mitokondria ke sitosol dengan reaksi biokimia yang akan menghasilkan ko-proporfirinogen. Molekul

tersebut akan kembali ke mitokondria dan menjadi protoporfirin. Dengan bantuan enzim, ferro (Fe^{2+}) di mitokondria akan mulai menyatu dengan protoporfirin untuk membentuk heme. Di lokasi lain dalam urutan yang sama terjadi sintesis globin, poliribosom merangsang sintesis dua jenis rantai globin yaitu α globin dan β globin. Globin yang terbentuk dari dua rantai α globin dan β globin akan bergabung dengan heme menjadi hemoglobin (Nugraha, 2017)

3. Pembentukan hemoglobin dalam sitoplasma

Pembentukan *Deoxyribonucleic Acid* (DNA) di inti sel dan sintesis hemoglobin terjadi bersamaan di sitoplasma sel darah merah.. Hemoglobin adalah bagian dari sitoplasma eritrosit. Globulin, zat besi (Fe), dan protoporphyrin merupakan komponen hemoglobin. Globin dan protoporfirin dibuat di sekitar ribosom dan mitokondria, sedangkan zat besi dibuat dari transferin. Reseptor transferin terletak di awal inti sel eritrosit. Jika pengangkutan zat besi untuk membentuk hemoglobin terganggu, maka dapat menyebabkan terjadinya pembentukan eritrosit yang memiliki sedikit hemoglobin di dalamnya (hipokrom) dengan sitoplasma yang kecil (mikrosit) dan mengandung) (Kiswari, 2014)

4. Struktur hemoglobin

- a. Heme merupakan struktur yang mengimplikasikan empat atom besi berbentuk Fe^{2+} yang dikelilingi oleh cincin protoporfirin IX, penyebabnya yaitu zat besi dalam bentuk Fe^{2+} tidak dapat membawa oksigen. Produk akhir dalam sintesis molekul heme yaitu berbentuk Protoporfirin IX yang merupakan hasil dari interaksi suksinil koenzim A dan asam delta-aminolevulinat di dalam mitokondria pada eritrosit berinti, sehingga membentuk beberapa produk, yaitu porfobilinogen, uroporfirinogen, dan coproporfirin. Zat besi menyatu dengan

protoporfrin agar membentuk heme molekul lengkap. Adanya gangguan pada salah satu dari kedua produk tersebut maka akan mengganggu fungsi hemoglobin.

- b. Globin memiliki tersusun dari asam amino yang bertugas untuk membentuk rantai polipeptida. Hemoglobin dewasa tersusun atas rantai alfa dan rantai beta. Rantai alfa mempunyai 141 asam amino, namun rantai beta mempunyai 146 asam amino. Ikatan kimia menghubungkan 2 molekul hemoglobin yaitu heme dan globin
- c. Struktur tambahan. Struktur tambahan yang dimaksud yaitu 2,3-difosfoglisarat (2,3-DPG) yang merupakan sebuah zat yang diperoleh selama proses glikolisis dari jalur Embden-Meyerhof yang sifatnya anaerob. Struktur ini beriringan dengan afinitas oksigen dari hemoglobin. (Kiswari, 2014)

5. Jenis metode pemeriksaan hemoglobin

Dalam mendiagnosa kadar hemoglobin, terdapat banyak metode yang bisa digunakan yaitu :

- a. Tallquist merupakan metode pemeriksaan hemoglobin dengan mengukur warna merah pada darah karena hemoglobin berfungsi untuk memberikan warna merah pada eritrosit sehingga metode ini melakukan perbandingan warna darah dengan warna standar yang telah diketahui konsentrasi hemoglobinnnya (%). Namun metode ini sudah ditinggalkan karena memiliki kesalahan 30%-50% (Nugraha, 2017)
- b. Tembaga Sulfat (CuSO_4) merupakan metode pemeriksaan kadar hemoglobin dengan menggunakan larutan CuCO_4 BJ 1,053. Metode ini termasuk kualitatif

sehingga hanya digunakan pada saat sebelum pendonoran darah ataupun pemeriksaan hemoglobin masal. (Nugraha, 2017)

- c. Sahli merupakan metode pemeriksaan hemoglobin yang dibantu dengan standar warna. Darah akan ditambahkan HCL, membentuk berwarna coklat yang menandakan terbentuknya asam hematin dan dinilai secara objektif dengan standar warna, namun kesalahan dari metode ini mencapai 15%-30% Menurut Gandasoebrata (2017), bahwa metode sahli ini tidak bisa distandarkan dan tidak semua jenis hemoglobin bisa diubah menjadi asam hematin, seperti jenis karboxyhemoglobin, methemoglobin dan sulfhemoglobin. Dari hasil penelitian Purba dan Nurazizah (2019) didapatkan hasil pengujian sensitivitas metode sahli 61,53%, spesifisitas 75,0 sehingga metode ini tidak direkomendasikan dalam pemeriksaan anemia.
- d. *Cyanmethemoglobin* termasuk kedalam metode Fotoelektrik karena mengubah hemoglobin menjadi sianmethemoglobin (hemoglobin sianida) dengan bantuan dari larutan Drabkin dan Spektrofotometer pada panjang gelombang 540nm. Dalam larutan Drabkin memuat 1 g natrium bikarbonat, 50 mg kaliumsianida, 200 mg kaliesferrisianida, 1000 ml aquadest dan sedikit penambahan detergen untuk mempercepat proses larutan Drabkin menjadi sianmethemoglobin. Karena larutan Drabkin mengandung sianida, maka disimpan pada botol coklat yang harus diperbarui setiap tahun. Walaupun mengandung sianida, larutan Drabkin termasuk aman digunakan karena kandungan sianida yang terdapat dalam larutan Drabkin sangat kecil. Semua jenis. Dalam larutan yang bersifat kaliumferrisianida dan kalium sianida, hemoglobin diubah menjadi sianmethemoglobin (hemoglobin sianida) kecuali

kecuali jenis Sullhemeglobin. Absorbansi larutan diukur dengan panjang gelombang 540 nm atau filter hijau. Larutan drabkin inilah yang membantu perubahan Hemoglobin menjadi Sianmethemoglobin. Jenis Hemoglobin yang berubah menjadi Sianmethemoglobin yaitu oksihemoglobin, methemoglobin dan karboksihemoglobin (Gandasoebrata, 2017)

- e. POCT adalah metode pemeriksaan tanpa keahlian khusus yang membutuhkan spesimen yang sedikit, proses singkat, dan efektif digunakan di wilayah jauh dari fasilitas kesehatan (Faatih, 2018). Prinsip POCT yaitu memakai teknologi biosensor bermuatan listrik yang diperoleh dalam hasil interaksi kimia antar zat tertentu dalam darah dengan elektroda strip. Perubahan muatan listrik yang terjadi karena reaksi kedua zat tersebut diukur dan menghasilkan angka yang sesuai dengan jumlah muatan listrik yang dihasilkan. Angka yang keluar pada alat dianggap sesuai dengan jumlah kadar yang diukur dalam spesimen darah (Akhzami, Rizki and Setyorini, 2017)
- f. Hematology Analyzer yang menggunakan cara otomatis, tidak memerlukan keterampilan khusus dan cepat. Namun metode ini cukup mahal dan tidak semua fasilitas kesehatan mempunyai metode ini, selain itu metode ini disarankan untuk pemeriksaan darah lengkap (Kumar Jain, 2020)

6. Faktor pemeriksaan hemoglobin

Dalam pemeriksaan Laboratorium, petugas laboratorium harus memperhatikan beberapa hal terkait pasiennya, karena ada beberapa kondisi atau faktor internal dan eksternal dari pasien yang bisa mempengaruhi hasil pemeriksaan. Untuk itu hal yang mempengaruhi pemeriksaan Hemoglobin yaitu:

a. Ketinggian daerah tempat tinggal

Hasil pengujian analit darah menunjukkan bahwa orang yang tinggal pada ketinggian yang lebih tinggi kadar hemoglobinnnya dibandingkan dengan laut. Untuk memenuhi kebutuhan oksigen tubuh, tubuh menghasilkan lebih banyak sel darah merah saat kadar oksigen lebih rendah. Jumlah eritrosit meningkat seiring dengan tingginya kadar oksigen. Sehingga jumlah eritrosit juga terkait dengan penentuan kadar hemoglobin (Kiswari, 2014)

b. Usia

Nilai normal komponen darah tergantung pada beberapa factor, salah satunya yaitu umur pasien. Dengan menurunnya kesehatan karna faktor umur seseorang, maka beberapa fungsi fisiologis organ tubuh akan hilang, terutama sumsum tulang yang berperan sebagai tempat pembentukan sel darah merah sehingga menyebabkan hemoglobin menurun (Syuhada dkk., 2022)

c. Jenis kelamin

Jenis kelamin mempengaruhi suatu hasil pemeriksaan. Diantara perempuan dan laki laki, sebagian banyak pemeriksaan dengan hasil tinggi pada laki laki. Salah satu contohnya yitu kadar hemoglobin. Hemoglobin seorang wanita lebih mudah berubah karena memiliki siklus menstruasi yang teratur setiap bulannya. Sehingga wanita lebih banyak membutuhkan zat besi terutama pada saat menstruasi dibandingkan dengan pria (Syuhada dkk., 2022)

d. Kehamilan dan menyusui

Kehamilan menyebabkan perubahan fisiologis dalam banyak system tubuh. Pada saat ini sistem peredaran darah mengalami perubahan konsentrasi hemoglobin (Hb) akibat naiknya volume plasma dibandingkan naiknya sel darah merah.

Akibatnya kebutuhan oksigen meningkat lebih dari biasanya dan produksi protein sel darah merah meningkat sehingga mengakibatkan anemia defisiensi pada stadium akut (Hidayati dan Andyarini, 2018)

e. Pertumbuhan

Kebutuhan zat besi meningkat pada usia 1 tahun pertama dan awal remaja, sehingga internal Anemia Defisiensi Besi akan meningkat pada fase pertumbuhan saat ini. Berbeda dengan saat pasien lahir, massa hemoglobin dalam darah saat sirkulasi meningkat dua kali lipat pada bayi berusia 1 tahun. Bayi prematur memiliki tingkat pertumbuhan yang sangat pesat dalam satu tahun, kadar gula darah bisa mencapai 6 kali lipat normal dan kadar hemoglobin bisa mencapai 3 kali lipat normal dibandingkan saat dilahirkan (Ozdemir, 2015).

f. Bergadang

Bergada yaitu salah satu penyebab terganggunya kadar hemoglobin didalam darah. Bergadang menyebabkan terjadinya gangguan tidur yang mengakibatkan terjadinya kondisi stres oksidatif, jika hal ini berlangsung selama lebih dari 12 jam akan menyebabkan eritrosit hancur lebih cepat dari biasanya. Hancurnya eritrosit mengakibatkan rendahnya kadar hemoglobin. (Mawo, dkk 2022)

g. Aktivitas fisik

Hemoglobin dan aktivitas fisik merupakan 2 faktor yang saling berhubungan sangat erat . Penelitian yang menghubungkan antara aktivitas fisik dengan kadar hemoglobin menyatakan jika manusia beraktivitas maka terjadi peningkatan pergerakan metabolisme, asam yang dihasilkan lebih banyak (ion hidrogen, asam laktat), mengakibatkan penurunan Pangkat Hidrogen (pH). pH yang tidak seimbang mempengaruhi interaksi harian antara oksigen dan hemoglobin. Sehingga oksigen

yang diikat oleh hemoglobin meningkat, menyebabkan laju pengangkutan oksigen ke organ (Kosasi, L., Oenzil, F. dan Yanis, A. 2016)

h. Merokok

Komponen karbon monoksida, merupakan salah satu dari sekitar 4000 senyawa yang terdapat pada rokok. Karbon monoksida merupakan zat yang tanpa warna, tidak memiliki bau dan tidak memiliki rasa. Komponen ini memiliki afinitas yang erat pada hemoglobin, kira-kira 210–300 kali lebih tinggi daripada afinitasnya pada oksigen. Afinitas hemoglobin terhadap monokarbonat dalam jumlah besar menyebabkan kedua senyawa tersebut berikatan dengan mudah, mengakibatkan berkurangnya jumlah oksigen dalam hemoglobin selama pengangkutan. Akibatnya, hipoksia jaringan lebih mungkin terjadi sehingga menyebabkan peningkatan kadar hemoglobin. (Amalia dan Tjiptaningrum, 2016)

i. Pendarahan

Pendarahan salah satu faktor dari Anemia Defisiensi Besi. Pendarahan memperburuk situasi kondisi zat besi. Pendarahan sekitar 3-4 ml/hari (1,5 - 2 mg) mengakibatkan terganggunya kestabilan zat besi. Pendarahan sebanyak 1 ml akan menyebabkan hilangnya zat besi sebesar 0,5 mg. Akibat obat-obatan (asam asetilsalisilat, kortikosteroid, indometasin, obat antiinflamasi nonsteroid) dan infeksi cacing (*Ancylostoma duodenale* dan *Necator americanus*), perdarahan dapat berupa perdarahan saluran pencernaan, enteropati akibat susu, dan tukak lambung (Ozdemir, 2015)

j. Hematoma

Hematoma merupakan pembengkakan atau masa darah yang dapat disebabkan oleh kebocoran pembuluh darah selama atau setelah pungsi vena.

Pungsi vena melalui hematoma akan menyakitkan dan dapat mengakibatkan specimen terkontaminasi dengan darah dari hemolysis diluar vena yang menyebabkan sampel tidak dapat digunakan untuk pengujian. Pungsi vena di daerah sekitar hematoma juga mungkin menyakitkan. Selain itu, hematoma dan efek dari proses pembekuan darah dapat mengakibatkan terjadinya hasil tes tidak akurat (Kiswari, 2014)

k. Penyakit tertentu

Menurut Ozdemir (2015), adapun beberapa penyakit yang berhubungan dengan kadar hemoglobin, diantaranya seperti:

1) Hemoglobinuria

Peristiwa ini biasanya dikaitkan dengan anak-anak yang memiliki katup jantung buatan. Untuk hemoglobinuria nokturnal paroksismal, pengeluaran zat besi dalam urin berkisar antara 1,8 dan 7,8 mg per hari.

2) Idiopathic pulmonary hemosiderosis

Penyakit ini termasuk langka Gejalanya berupa perdarahan berulang yang parah pada paru paru dan infiltrasi paru paru yang kadang muncul kadang menghilang. Kondisi tersebut mengakibatkan kadar Hemoglobin turun hingga 1,5-3 g/dl dalam 24 jam

D. Zat adiktif

Setiap tabung antikoagulan mengandung berbagai bahan tambahan. Zat tambahan merupakan zat yang dimasukkan ke dalam tabung. Aditif mempunyai satu atau lebih fungsi unik, termasuk menghentikan pembekuan atau menembus komponen target darah. Sesuai dengan jenis bahan tambahannya, darah dimasukkan ke dalam tabung yang memiliki bahan tambahan antikoagulan agar tidak

menggumpal. Misalnya jika zatnya bersifat aditif, maka hasilnya adalah spesimen darah yang tidak sempurna. Spesimen darah dapat digunakan tanpa batas waktu untuk pengujian atau dapat diproses untuk mendapatkan plasma. Jika zat yang ditunjukkan pada hasil tes merupakan aktivator bekuan, maka darah akan diproses lebih cepat, dan spesimen akan disentrifugasi untuk mendapatkan serum. Jumlah bahan tambahan yang ada di dalam tabung telah dikalibrasi oleh produsennya sehingga dapat berfungsi secara maksimal sehingga diperoleh hasil yang tepat sesuai dengan jumlah darah yang dibutuhkan sesuai dengan kapasitas atau volume tabung (Kiswari, 2014).

E. Antikoagulan EDTA

EDTA (*Ethylene Diamine Tetraacetic Acid*), juga dikenal sebagai garam natrium atau potasium. Ini mengubah ion kalsium dari darah menjadi bentuk non-ionik. Besar kecil dan bentuk eritrosit tidak dipengaruhi oleh EDTA, begitu pula bentuk leukosit. Selain mencegah trombosit bergumpal, EDTA juga cukup efektif bila digunakan sebagai antikoagulan untuk menghitung trombosit. Tiap 1 mg EDTA bisa untuk 1 ml darah. Pertimbangkan untuk menggunakan EDTA dalam jumlah yang lebih besar. Jika menggunakan lebih dari 2 mg EDTA per ml larutan, tingkat hematokrit akan lebih tinggi dari biasanya. Terdapat beberapa macam jenis EDTA meliputi: Dinatrium EDTA (Na_2EDTA), Dipotassium EDTA (K_2EDTA), dan Tripotassium EDTA (K_3EDTA). Na_2EDTA dan K_2EDTA sering digunakan dalam bentuk kering, namun untuk K_3EDTA sering digunakan dalam bentuk cair. Dari beberapa jenis EDTA ini, K_2EDTA merupakan jenis EDTA yang sangat baik dan memang disarankan oleh ICSH dan *Clinical and Laboratory Standards Institute*

(CLSI). Namun menurut penelitian yang dilakukan oleh Utami (2019) terkait perbedaan hasil pemeriksaan darah dengan K2EDTA dan K3EDTA tidak memiliki perbedaan sehingga dari kedua jenis tersebut masih sama sama baik digunakan. EDTA banyak digunakan dalam keadaan larutan dengan konsentrasi 10%. Darah EDTA dapat digunakan untuk berbagai prosedur hematologi, seperti hitung jumlah leukosit atau hitung kadar hemoglobin. Eritrosit, trombosit, retikulosit, hematokrit, penetapan laju endap darah dengan Wstergren dan Wintrobe, namun tidak digunakan dalam perdarahan hemoragik serta pengukuran faal trombosit (Gandasoebrata, 2017)

Kinerja EDTA untuk menghambat proses hemostasis melalui pengikatan ion kalsium maka terbentuklah garam kalsium yang tidak larut. Ukuran pemakaiannya berkisar antara 1-1,5 mg EDTA dalam setiap ml darah. Spesimen darah dengan antikoagulan EDTA wajib dihomogenkan segera setelah pengambilan spesimen, guna menghindari terjadinya penggumpalan trombosit dan pembekuan mikro. Cara melakukan homogenisasi dengan membolak balikkan tabung sebanyak 8-10x (Kiswari, 2014)

1. Batas waktu penggunaan EDTA

Pemeriksaan untuk darah EDTA harus dikerjakan sesegera mungkin, namun saat keadaan mendesak bisa diletakan di lemari es dengan suhu 4⁰C selama 24 jam. Untuk pembuatan sediaan apusan darah tepi, sebaiknya dilakukan selambat lambatnya penundaan yaitu 2 jam, karena perubahan morfologi sel di dalam spesimen darah antikoagulasi mulai dari 30 menit setelah penampungan, pengujian harus dilakukan dalam waktu maksimal 4 jam, jika darah dibiarkan pada suhu

kamar (18–25 °C), dan untuk penyimpanan 6 jam dilakukan pada suhu 4 °C (Vives-Corróns *et al.*, 2014)