

BAB II

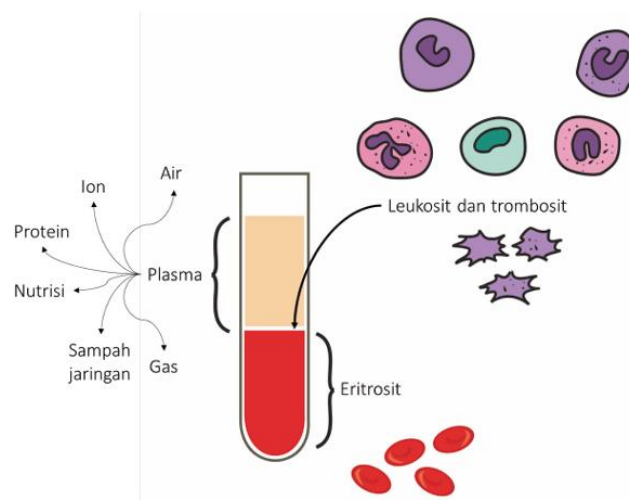
TINJAUAN PUSTAKA

A. Darah

1. Definisi darah

Darah adalah jaringan berbentuk cair yang mengalir di dalam tubuh manusia dan hewan vertebrata, serta memiliki peran vital dalam fungsi tubuh makhluk hidup. Sekitar 7-8% dari berat tubuh manusia terdiri atas volume darah yang dipompa oleh jantung dan dialirkan melalui pembuluh arteri dan vena (Aridya dkk., 2023). Darah terdiri atas dua komponen utama, yaitu komponen cair berupa plasma darah dan komponen padat (korpuskula). Keseluruhan komponen ini dikenal sebagai whole blood, yang terdiri dari sekitar 55% plasma dan 45% elemen seluler darah (Rosita, Cahya dan Arfira, 2019).

Komponen cair atau plasma pada darah manusia terdiri dari beberapa komponen seperti albumin, bahan pembeku darah, hormon, berbagai jenis protein dan garam. Sedangkan komponen padat (korpuskula) pada darah terdiri dari tiga komponen utama yaitu, eritrosit (Sel darah merah) sebesar 90%, trombosit (Keping – keping darah) sebesar 0,6% - 1,0% dan leukosit (Sel darah putih) sebesar 0,25% (Malo dkk., 2021). Darah yang berikatan dengan oksigen akan memiliki warna merah terang, warna merah ini disebabkan oleh keberadaan hemoglobin yang mengandung zat besi dalam bentuk heme, yang berfungsi sebagai tempat pengikatan molekul oksigen. Namun, ketika oksigen dilepaskan maka warna eritrosit (Sel darah merah) akan berwarna lebih gelap dan menimbulkan warna kebiruan pada pembuluh darah dan kulit (Rahmita dan Basri, 2023).



Gambar 1 Komponen Darah

(Sumber: Rosita, Cahya and Arfira (2019))

2. Fungsi darah

Menurut Kemenkes (2023) tiga jenis komponen darah yang terdapat dalam tubuh manusia yaitu eritrosit, leukosit, dan trombosit memiliki fungsinya masing-masing diantaranya:

a. Pertukaran O_2 dan CO_2

Darah memiliki peran penting pada sistem pernapasan (respirasi), dimana komponen darah yang memegang peranan penting adalah hemoglobin. Pada awalnya oksigen (O_2) yang masuk ke dalam tubuh akan larut terlebih dahulu dalam plasma, kemudian diikat oleh hemoglobin membentuk oksihemoglobin. Oksihemoglobin ini kemudian didistribusikan ke seluruh jaringan dan organ tubuh. Kemudian dengan adanya proses respirasi tersebut akan menghasilkan energi dalam bentuk ATP dan karbon dioksida (CO_2) sebagai produk limbah. Karbon dioksida yang terbentuk kemudian akan diangkut dalam darah melalui dua mekanisme utama yaitu, larut dalam plasma darah dan terikat pada hemoglobin

membentuk karbaminohemoglobin. Saat karbon dioksida berdifusi ke dalam eritrosit, enzim karbonat anhidrase, dengan ion seng sebagai kofaktor, mengkatalisis reaksinya dengan air untuk membentuk asam karbonat (H_2CO_3). Asam karbonat ini kemudian terdisosiasi menjadi ion hidrogen (H^+) dan ion bikarbonat (HCO_3^-). Ion bikarbonat berdifusi keluar dari eritrosit ke dalam plasma darah, sementara ion H^+ tetap berada di dalam eritrosit sehingga darah kembali memiliki kadar O_2 yang tinggi (Rosita, Cahya dan Arfira, 2019).

b. Membantu proses pembekuan darah

Pada keadaan tertentu tubuh dapat mengalami luka pada pembuluh darah dan menyebabkan pendarahan, pada kondisi tersebut tubuh akan melakukan suatu mekanisme yang disebut hemostasis untuk menghentikan perdarahan secara spontan agar tubuh tidak kehilangan darah terlalu banyak (Wulansari, Wahdaniah dan Suwono, 2019). Saat terjadi kerusakan pada pembuluh darah, respon hemostasis oleh tubuh yang normal akan segera teraktivasi pada daerah yang rusak atau daerah terjadinya perdarahan, dimana komponen darah yang bertugas dan memiliki peranan penting pada mekanisme ini adalah trombosit. Tubuh manusia dapat melakukan tiga mekanisme hemostasis yang terdiri dari, spasme vaskular (*vascular spasm*), pembentukan sumbatan trombosit (*platelet plug*) dan pembekuan darah (*blood clotting/blood coagulation*) (Umar dan Widiyanto, 2020).

c. Menjaga sistem kekebalan tubuh

Selain memiliki fungsi penting pada sistem respirasi dan hemostasis, komponen darah khususnya leukosit memiliki peran sebagai barrier untuk melindungi sel maupun jaringan tubuh dari infeksi luar seperti bakteri, virus, maupun gangguan lain yang dapat mengganggu kerja fisiologi tubuh (Setyarsih

dkk., 2020). Plasma darah mengandung antibodi, yaitu protein khusus yang berfungsi mengenali antigen dari virus atau bakteri yang masuk ke dalam tubuh. Produksi antibodi dimulai saat infeksi pertama kali terjadi, dan tubuh memiliki mekanisme untuk mengingat jenis infeksi tersebut melalui aktivasi sel B memori. Ketika patogen atau virus masuk ke dalam tubuh, sel darah putih yang terdiri dari makrofag, limfosit T, dan limfosit B akan berperan dalam melawan infeksi. Makrofag berfungsi sebagai sel penyaji antigen (antigen-presenting cell/APC) yang menyiapkan antigen agar dapat dikenali oleh sel T helper. Sel T helper akan merangsang respons imun melalui aktivasi jalur limfosit B untuk membentuk kekebalan humoral, serta limfosit T untuk membentuk kekebalan seluler (Rosita, Cahya dan Arfira, 2019).

B. Hemoglobin

1. Definisi hemoglobin

Hemoglobin berasal dari dua kata, yaitu *haem* dan *globin*. Hemoglobin tersusun dari molekul feroproteporfirin dan protein (globin) yang terdapat dalam sel darah merah (eritrosit) yang didalamnya mengandung zat besi (Fe) yang bertugas untuk mengangkut O₂ dari paru-paru ke seluruh jaringan tubuh dan pertukaran O₂ dan CO₂ (Rosita, Cahya dan Arfira, 2019). Hemoglobin merupakan komponen utama sel darah merah (eritrosit) yang tersusun dari empat rantai polipeptida, empat rantai polipeptida tersebut merupakan gabungan antara dua rantai alfa dan dua rantai beta globin yang bertugas untuk mengikat sebuah pigmen non protein yang disebut heme yang tersusun atas cincin porfirin dengan satu atom besi (ferro) (Firdayanti dkk., 2023). Sedangkan globin terdiri dari empat rantai polipeptida ($\alpha_2\beta_2$), yaitu dua rantai alfa (α_2) dan dua rantai beta (β_2). Rantai

polipeptida alfa mengandung 141 asam amino, sementara rantai beta memiliki 146 asam amino (Aliviameita dan Puspitasari, 2019).

Menurut KEMENKES (2018) kadar hemoglobin normal dengan nilai rujukan sebagai berikut:

Tabel 1
Kadar Normal Hemoglobin

Kriteria	Nilai Rujukan
Umur 5-11 tahun	< 11,5 g/dL
Umur 12-14 tahun	< 12,0 g/dL
Perempuan diatas 15 tahun	≥ 12,0 g/dL
Laki-laki diatas 15 tahun	≥ 13,0 g/dL

(Sumber: Kemenkes, 2018))

2. Fungsi hemoglobin

Hemoglobin dalam darah berperan sebagai penyangga asam-basa yang membantu kelancaran proses transportasi darah secara menyeluruh. Fungsi utama hemoglobin adalah membawa oksigen (O_2) dari paru-paru ke seluruh jaringan tubuh, serta mengangkut karbon dioksida (CO_2) dari jaringan tubuh ke organ pernapasan untuk dikeluarkan dari tubuh (Imas Saraswati, 2021).

Oksigen (O_2) diangkut dari paru-paru ke jaringan perifer melalui hemoglobin yang mengandung heme dengan ion besi (Fe^{2+}) yang mampu mengikat oksigen secara reversibel. Sekitar 98,5% oksigen dalam darah melekat pada hemoglobin, karena oksigen yang larut dalam plasma darah memiliki tingkat kelarutan yang rendah (Rosita, Cahya dan Arfira, 2019). Sedangkan pengangkutan karbon dioksida (CO_2) dari jaringan perifer ke organ respirasi untuk dikeluarkan bisa terjadi ketika hemoglobin berikatan dengan CO_2 ketika oksigen dilepaskan. Karbon dioksida (CO_2) akan bereaksi dengan gugus terminal α -amino dari hemoglobin, kemudian reaksi tersebut akan membentuk karbamat dan melepaskan proton. Proton yang

dilepaskan kemudian bergabung dengan bikarbonat, membentuk asam karbonat. Asam karbonat ini diubah menjadi gas CO₂ dengan bantuan enzim karbonik anhidrase, yang kemudian dikeluarkan melalui pernapasan (Aliviameita dan Puspitasari, 2019). Dimana pada umumnya sekitar 15% dari CO₂ yang diangkut dalam darah terikat langsung pada molekul hemoglobin (Anamisa, 2015).

3. Pembentukan hemoglobin

Proses pembentukan hemoglobin terjadi di sumsum tulang melalui tahap-tahap pematangan yang memerlukan waktu sekitar 7-10 hari hingga hemoglobin matang dan siap disalurkan ke seluruh tubuh melalui sel darah merah. Pembentukan hemoglobin terdiri dari beberapa tahapan yaitu, dimulai dari sintesis molekul pyrrole, pembentukan protoporphyrin IX, pembentukan heme, sintesis globin, penggabungan heme dan globin, dan berakhir dengan pembentukan molekul hemoglobin utuh (Yusrin, Ananti dan Merida, 2023).

Hemoglobin pertama kali disintesis pada tahap proerythroblast dan berlanjut hingga tahap retikulosit selama proses eritropoiesis. Ketika retikulosit meninggalkan sumsum tulang merah dan masuk ke sirkulasi, sintesis hemoglobin dalam jumlah kecil masih berlangsung hingga retikulosit matang menjadi eritrosit, di mana proses sintesis hemoglobin pun berakhir. Proses pembentukan eritrosit dimulai dengan penggabungan suksinil-KoA, yang merupakan salah satu senyawa intermediet dalam siklus krebs, dengan glisin untuk membentuk molekul pyrrole. Selanjutnya, empat molekul pyrrole kemudian bergabung membentuk protoporphyrin IX yang selanjutnya berikatan dengan ion besi untuk membentuk molekul heme. Pada tahap akhir sintesis hemoglobin, heme akan berikatan dengan polipeptida yang diproduksi oleh ribosom yaitu globin, sehingga membentuk rantai

hemoglobin. Empat rantai hemoglobin ini kemudian berikatan satu sama lain untuk membentuk satu molekul hemoglobin (Rosita, Cahya dan Arfira, 2019)

Eritrosit dapat mengandung sekitar 280 juta molekul hemoglobin dengan masa hidupnya sama dengan sel darah merah, yaitu sekitar 120 hari. Pada pembentukan hemoglobin membutuhkan beberapa elemen penting yaitu, zat besi (Fe), vitamin B12, dan asam folat, dimana setiap milliliter (ml) eritrosit yang diproduksi memerlukan 1 mg zat besi (Indricuan, Sincu Gunawan dan Prasetya, 2020). Tubuh dapat memperoleh Zat besi dari pemecahan sel darah merah dan sebagiannya lagi didapat dari makanan (Yusrin, Ananti dan Merida, 2023). Ketika tubuh kekurangan zat besi maka pembentukan hemoglobin akan terganggu, hal ini akan menyebabkan Anemia yang merupakan kondisi dimana terjadinya defisiensi eritrosit dengan penurunan hemoglobin yang mengakibatkan berkurangnya kapasitas pembawa oksigen darah ke seluruh tubuh (Citta dkk., 2024). Oleh sebab itu, dengan Surat Edaran Direktur Jenderal Kesehatan Masyarakat Kementerian Kesehatan Nomor HK.03.03/V/0595/2016 tentang Pemberian Tablet Tambah Darah pada Remaja Putri dan Wanita Usia Subur, dilakukan pemberian tablet tambah darah pada remaja putri dilakukan melalui UKS/M di institusi pendidikan (SMP dan SMA atau sederajat) dengan pemberian satu tablet setiap minggu selama sepanjang tahun (Kemenkes RI, 2020).

4. Faktor yang mempengaruhi kadar hemoglobin

Pada beberapa kondisi kadar hemoglobin di dalam tubuh manusia dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya yaitu:

a. Jenis kelamin

Jenis kelamin merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi kadar hemoglobin dimana terlihat pada usia enam bulan, anak perempuan mempunyai kadar hemoglobin lebih tinggi dibandingkan dengan laki-laki. Namun saat memasuki usia dewasa, perempuan cenderung lebih mudah mengalami penurunan kadar hemoglobin dibandingkan dengan laki-laki, terutama pada saat perempuan mengalami menstruasi (Fadlilah, 2018). Pada saat menstruasi, perempuan akan kehilangan darah yang menyebabkan berkurangnya simpanan zat besi secara cepat. Semakin panjang durasi menstruasi, semakin besar jumlah darah yang hilang, yang berdampak pada semakin banyaknya cadangan zat besi yang terkuras (Hadijah, Hasnawati dan Hafid, 2019).

b. Aktivitas fisik

Aktivitas fisik adalah gerakan yang melibatkan otot rangka dan memerlukan energi. Selama melakukan aktivitas fisik metabolisme tubuh akan meningkat sehingga menghasilkan lebih banyak ion hidrogen dan asam laktat yang dapat menurunkan pH tubuh. Penurunan pH ini mengurangi afinitas antara hemoglobin dan oksigen, sehingga hemoglobin melepaskan lebih banyak oksigen untuk memenuhi kebutuhan otot. Aktivitas fisik yang teratur dapat meningkatkan kadar hemoglobin, tetapi jika dilakukan secara berlebihan, dapat menyebabkan hemolisis dan penurunan kadar hemoglobin (Fadlilah, 2018).

c. Gaya hidup

Gaya hidup merupakan kebiasaan yang dilakukan sehari-hari, faktor gaya hidup yang dimaksud dapat mempengaruhi kadar hemoglobin pada tubuh antara lain perilaku merokok dan konsumsi zat yang dapat menghambat penyerapan zat

besi. Zat yang dapat menghambat penyerapan zat besi antara lain kafein, tanin, oksalat, fitat, yang terdapat dalam produk-produk kopi, teh, dan kacang kedelai (Fadlilah, 2018). Hal tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Purnadianti, Ermawati dan Berlian (2021) yang menyatakan bahwa kadar kadar hemoglobin yang rendah diakibatkan dari kebiasaan merokok, dan pola makanan serta frekuensi minum kopi yang melebihi batas normal yakni > 6 cangkir per hari.

d. Kehamilan

Selama masa kehamilan, sel darah merah pada tubuh wanita yang sedang mengandung digunakan untuk memenuhi kebutuhan ibu dan janin. Pada masa kehamilan, volume darah cenderung menurun dari awal kehamilan hingga trimester ketiga. Pada saat yang sama, tekanan darah menurun akibat peningkatan volume plasma darah, di mana penambahan cairan tubuh (volume plasma) tidak sebanding dengan peningkatan massa sel darah merah dimana dengan terjadinya kondisi ini akan menyebabkan kadar hemoglobin mengalami penurunan (Masthura, Desreza dan Nurhalita, 2021).

C. Metode Pemeriksaan Hemoglobin

Pemeriksaan hemoglobin merupakan salah satu pemeriksaan hematologi yang termasuk dalam kategori pemeriksaan darah rutin yang diperlukan untuk mendeteksi adanya gangguan kesehatan, seperti kekurangan hemoglobin yaitu anemia (Nidianti dkk., 2019). Adapun beberapa metode pemeriksaan hemoglobin yaitu:

1. Metode *point of care testing* (POCT)

Metode *Point of Care Testing* (POCT) merupakan metode pemeriksaan hemoglobin yang menggunakan sampel darah kapiler dalam pemeriksaanya.

Metode ini bekerja dengan prinsip mengukur kadar hemoglobin dalam sampel berdasarkan perubahan potensial listrik yang terjadi secara singkat akibat interaksi kimia antara sampel dan elektroda pada reagen strip (Laila, Zainar dan Fitri, 2021). Pada umumnya pemeriksaan hemoglobin metode *Point of Care Testing* (POCT) digunakan karena pemeriksaan ini dapat digunakan untuk skrining anemia dengan jumlah sampel darah kapiler yang sedikit, cepat, dan efektif untuk diterapkan di wilayah dengan fasilitas kesehatan yang terbatas seperti puskesmas dan rumah sakit, terutama di lokasi kegiatan pengabdian Masyarakat (Nidianti dkk., 2019). Namun, menurut penelitian yang dilaksanakan oleh Widiyanto, Purbayanti and Ardina (2021) Penggunaan darah kapiler sebagai sampel pemeriksaan memiliki kelemahan yakni tingginya risiko terjadinya pengenceran pada sampel. Hal ini bisa terjadi karena tusukan yang terlalu dangkal membuat darah tidak mengalir dengan lancar sehingga jari sering di palpasi, pada situasi tersebut darah dapat bercampur dengan cairan jaringan, yang menyebabkan hasil pemeriksaan hemoglobin cenderung lebih rendah dari pemeriksaan metode lainnya yang menggunakan darah vena.

2. Metode sahli

Pemeriksaan hemoglobin metode sahli atau haemoglobinometer merupakan salah satu pemeriksaan kadar hemoglobin yang dilakukan secara visual berdasarkan satuan warna (colorimetric) (Kusumawati dkk., 2018). Prinsip pemeriksaan hemoglobin dengan metode sahli adalah mengukur kadar hemoglobin dalam darah berdasarkan jumlah asam yang dibutuhkan untuk mengoksidasi hemoglobin menjadi hematin. Proses ini dilakukan dengan mengencerkan darah menggunakan larutan HCl, yang berfungsi menghidrolisis hemoglobin menjadi globin dan

ferroheme. Setelah itu, darah yang telah diencerkan dicampur dengan aquades hingga warnanya menyerupai standar warna pada tabung sahli (Riki Rinaldi, Silvia Indra dan Tasya Nadira Annisa, 2023).

Kelebihan pemeriksaan hemoglobin metode sahli dibandingkan dengan metode lain yaitu pemeriksaan ini lebih mudah, cepat, ekonomis dan dapat digunakan di daerah-daerah yang kurang memadai peralatannya (Kusumawati dkk., 2018). Namun selain memiliki kelebihan, metode sahli memiliki berbagai kelemahan diantaranya bersifat subjektif karena sangat bergantung pada pengamatan visual dalam membandingkan warna, memerlukan pemipetan dengan tingkat akurasi tinggi, menggunakan standar warna yang sering kali mengalami kerusakan seperti luntur atau buram, memiliki sensitivitas serta akurasi yang rendah, dan tidak diakui sebagai standar internasional (Ardina dan Putri, 2019). Selain itu menurut Tambunan dan Maritalia (2023), Kelemahan metode sahli yang menggunakan metode kolorimetri secara visual memiliki masalah dalam ketelitian, dimana hematin asam bukan merupakan larutan sejati dan tidak semua jenis hemoglobin, seperti carboxyhemoglobin, methemoglobin, dan sulphemoglobin, dapat diubah menjadi hematin asam sehingga pengukuran menggunakan metode ini kurang akurat.

3. Metode cyanmethemoglobin

Metode cyanmethemoglobin merupakan metode pemeriksaan hemoglobin yang direkomendasikan oleh *International Committee for Standardization in Hematology* (ICSH), dimana metode ini disarankan karena dianggap memiliki akurasi lebih tinggi dibandingkan metode lain dengan tingkat kesalahan yang lebih rendah hanya sekitar 2% (Siregar dkk., 2023). Prinsip pemeriksaan hemoglobin

metode cyanmethemoglobin yaitu reagen drabkin yang mengandung kalium sianida dan kalium ferrisianida dicampurkan dengan darah dengan antikoagulan EDTA, reaksi kimia yang terjadi mengubah ion Fe dalam hemoglobin dari ferro (Fe^{2+}) menjadi ferri (Fe^{3+}) melalui aksi ferrisianida, membentuk methemoglobin. Methemoglobin kemudian bereaksi dengan kalium sianida untuk membentuk cyanmethemoglobin, yang memiliki warna stabil. kemudian intensitas warna yang terbentuk akan sebanding dengan kadar hemoglobin dalam darah dan diukur menggunakan fotometer pada panjang gelombang 540 nm (Susanti, Hepiyansori dan Gustin, 2020).

D. Antikoagulan EDTA

Pemeriksaan hematologi merupakan pemeriksaan yang dilakukan dengan menggunakan sampel darah vena pasien, pada umumnya darah yang telah diambil harus ditambahkan bahan yang dapat mencegah bekunya darah diluar tubuh pada waktu pemeriksaan yang disebut dengan antikoagulan (Rahmawati, Aini dan Ramadanti, 2019). Antikoagulan adalah zat yang dapat mencegah penggumpalan darah dengan cara mengikat kalsium atau menghambat pembentukan trombin yang diperlukan untuk mengkonversi fibrinogen menjadi fibrin dalam proses pembekuan. Sampel darah dan antikoagulan harus dicampur segera setelah pengambilan sampel untuk mencegah pembentukan mikroklot (Mentari, Ariza dan Halid, 2020). Antikoagulan yang paling sering digunakan pada pemeriksaan hematologi adalah Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) ($\text{EDTA}=\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_8\cdot 2\text{H}_2\text{O}$). Pada pemeriksaan hematologi, antikoagulan Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) pada umumnya tersedia dalam bentuk vacutainer (*vacutainer tube*) dengan tutup lavender (*Purple*) atau pink. Vacutainer

adalah tabung reaksi hampa udara yang terbuat dari kaca atau plastik. Saat dipasang pada jarum, darah akan mengalir masuk ke dalam tabung secara otomatis dan berhenti setelah mencapai volume yang ditentukan (Hermawati dan Prastama, 2023).

Terdapat dua jenis antikoagulan dalam bentuk vacutainer yang biasanya digunakan dalam pemeriksaan di laboratorium hematologic, yaitu Dipotassium EDTA (K_2 EDTA) dalam bentuk bubuk dan Tripotassium EDTA (K_3 EDTA) dalam bentuk cair (Wahdaniah dan Tumpuk, 2018). Namun, jenis EDTA yang direkomendasikan oleh *World Health Organization* (WHO), *International Council for Standardization in Hematology* (ICSH) dan *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) untuk pemeriksaan hematologi adalah tabung vacutainer K_2 EDTA (Lestari, Hartini dan Prihandono, 2023). EDTA dalam bentuk kering lebih dianjurkan, dikarenakan penggunaan EDTA cair dapat menyebabkan penurunan nilai hemoglobin, jumlah trombosit, leukosit, serta hematokrit (Mentari, Ariza dan Halid, 2020). Pemakaian antikoagulan EDTA yaitu 1,5 mg/1 ml darah untuk EDTA kering dan 15 μ l/1 ml darah untuk EDTA cair (Hermawati dan Prastama, 2023). Penggunaan konsentrasi dan volume antikoagulan EDTA yang tidak tepat dapat menyebabkan penurunan kadar hemoglobin serta nilai hematokrit. Jika volume EDTA terlalu sedikit, darah dapat mengalami koagulasi. Sebaliknya, jika volumenya berlebihan, eritrosit dapat mengalami krenasi, sementara trombosit membesar dan mengalami disintegrasi (Rahmatullah dkk., 2023).

E. Hubungan Kadar Hemoglobin Dengan Penundaan Sampel

Pemeriksaan kadar hemoglobin dengan menggunakan antikoagulan EDTA hendaknya dilakukan segera tanpa penundaan karena dapat mempengaruhi kadar

hemoglobin, penundaan sampel darah dengan antikoagulan EDTA dapat menyebabkan perubahan pada komponen eritrosit yang dapat menyebabkan pecahnya membran eritrosit (hemolisis) sehingga hemoglobin bebas kedalam plasma darah (Gandasoebrata, 2021). Salah satu perubahan morfologi yang dapat terjadi adalah krenasi (*echinocyte*), yaitu kondisi di mana eritrosit mengalami pengerutan dan muncul tonjolan pada membran selnya. Perubahan ini mengganggu kestabilan membran eritrosit, sehingga semakin meningkatkan terjadinya pelepasan hemoglobin atau hemolisis pada sampel darah dengan antikoagulan EDTA. Seiring berjalannya waktu, eritrosit mengalami degradasi yang semakin tinggi, menyebabkan kadar hemoglobin yang terukur menurun karena sebagian telah mengalami denaturasi atau kerusakan yang tidak dapat terdeteksi oleh metode pemeriksaan (Indah Sari, Aisah Oktavia dan Aristoteles, 2024). KEMENKES (2015) menyatakan bahwa pemeriksaan kadar hemoglobin menggunakan darah EDTA dengan penundaan masih memiliki stabilitas sampel hingga dua jam. Namun, menurut Puspitasari dan Aliviameita (2024) menyatakan pemeriksaan hemoglobin dengan spesimen darah vena dengan antikoagulan EDTA memiliki stabilitas pada suhu kamar hingga enam jam.