

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Hemoglobin

1. Definisi hemoglobin

Hemoglobin merupakan protein yang terdapat pada sel darah merah (eritrosit) dan berperan penting dalam proses transportasi, yaitu mengangkut oksigen, karbon dioksida, serta ion hidrogen (proton) di dalam tubuh (Atik dkk., 2022). Hemoglobin mengandung zat besi yang mampu mengikat oksigen. Molekul ini mengambil oksigen dari paru-paru dan melepaskannya ketika eritrosit melewati pembuluh darah kapiler, sehingga mendukung proses distribusi oksigen ke jaringan tubuh (Arnanda dkk., 2019). Hemoglobin merupakan pigmen yang memberi warna merah pada darah karena menyusun sekitar 30% dari komponen sel darah. Pada eritrosit, hemoglobin dapat berikatan dengan karbon dioksida membentuk karboksihemoglobin, yang menyebabkan darah tampak berwarna merah tua. Hemoglobin digunakan secara luas sebagai indikator untuk menentukan prevalensi anemia (Ratna dkk., 2023).

2. Struktur hemoglobin

Hemoglobin merupakan pigmen alami yang memberikan warna pada darah karena kandungan besinya. Saat berikatan dengan oksigen, hemoglobin tampak berwarna merah cerah, sedangkan ketika mengalami deoksigenasi menjadi tampak keunguan. Hal ini menjelaskan mengapa darah arteri yang kaya oksigen berwarna merah terang, sementara darah vena yang telah kehilangan sebagian oksigen di jaringan tampak kebiruan. Hemoglobin tersusun atas empat rantai protein globulin yang saling terhubung. Pada hemoglobin normal orang dewasa (HbA), strukturnya

terdiri dari dua rantai alfa dan dua rantai beta, sedangkan pada janin atau bayi baru lahir (HbF) terdiri dari dua rantai alfa dan dua rantai gamma. Hemoglobin berbentuk tetramer dengan empat subunit protein yang terikat nonkovalen, di mana masing-masing subunit memiliki ukuran dan struktur yang hampir sama. Beberapa bentuk tetramer hemoglobin yang umum ditemukan antara lain HbA (hemoglobin dewasa normal, $\alpha_2\beta_2$), HbF (hemoglobin janin, $\alpha_2\gamma_2$), HbS (hemoglobin sel sabit, α_2S_2), dan HbA₂ (hemoglobin dewasa minor, $\alpha_2\delta_2$) (Budi Sungkawa & Wahdaniah, 2020).

Selain berperan dalam mengangkut oksigen dari paru-paru ke jaringan perifer, hemoglobin juga memfasilitasi transportasi karbon dioksida (CO₂) dari jaringan menuju paru-paru untuk dikeluarkan. Hemoglobin dapat mengikat CO₂ secara langsung ketika oksigen telah dilepaskan, dengan sekitar 15% CO₂ dalam darah diangkut melalui ikatan dengan molekul hemoglobin. Karbon dioksida bereaksi dengan gugus terminal α -amino pada hemoglobin membentuk karbamat dan melepaskan proton yang berkontribusi terhadap terjadinya efek Bohr. Setiap kehilangan empat molekul oksigen, hemoglobin mengikat dua proton, sehingga memengaruhi kapasitas penyangga darah. Di paru-paru, proses ini berlangsung sebaliknya, di mana oksigen berikatan kembali dengan hemoglobin yang sebelumnya terdeoksigenasi, proton dilepaskan, dan kemudian bergabung dengan bikarbonat membentuk asam karbonat. Dengan bantuan enzim karbonat anhidrase, asam karbonat diubah menjadi gas CO₂ yang selanjutnya dikeluarkan melalui pernapasan (Anamisa, 2015).

3. Fungsi hemoglobin

Hemoglobin merupakan protein yang terdapat pada eritrosit dengan fungsi utama sebagai pengangkut oksigen dan karbon dioksida antara paru-paru dan jaringan tubuh. Dua peran transportasi penting hemoglobin adalah membawa oksigen dari paru-paru ke jaringan-jaringan perifer serta mengangkut karbon dioksida dan proton dari jaringan tersebut kembali ke organ pernapasan (Atik dkk., 2022).

4. Kadar hemoglobin

Kadar hemoglobin merupakan penentu keadaan anemia. Anemia adalah kondisi ketika kadar hemoglobin berada di bawah batas normal. Anemia dapat disebabkan oleh berbagai faktor, antara lain perdarahan, asupan nutrisi yang rendah, serta kekurangan zat besi, asam folat, dan vitamin B12. Gejala yang umum muncul meliputi badan terasa lemah, mudah lesu, pandangan berkunang-kunang, dan pucat terutama pada konjungtiva. Sebaliknya, peningkatan kadar hemoglobin dalam darah disebut polisitemia. Kondisi hemoglobin tinggi umumnya tidak menimbulkan gejala yang jelas dan sering kali hanya terdeteksi melalui pemeriksaan kadar hemoglobin (Tutik, 2019). Penentuan kadar hemoglobin normal dapat sulit dilakukan karena adanya variasi pada tiap kelompok etnis. Namun, WHO telah menetapkan standar kadar hemoglobin normal berdasarkan usia dan jenis kelamin (Budi Sungkawa & Wahdaniah, 2020).

Pemeriksaan kadar hemoglobin berfungsi untuk menilai derajat anemia, mengevaluasi respons terhadap terapi anemia, serta memantau perkembangan penyakit yang berhubungan dengan anemia maupun polisitemia. Anemia ditetapkan apabila kadar hemoglobin darah menurun di bawah nilai normal (10–14

g/dL). Klasifikasi anemia yang umum digunakan meliputi: anemia sangat ringan (Hb 10 g/dL hingga kurang dari nilai normal), anemia ringan (Hb 8–9,9 g/dL), anemia sedang (Hb 6–7,9 g/dL), dan anemia berat (Hb < 6 g/dL). Sementara itu, polisitemia adalah kondisi peningkatan kadar hemoglobin melebihi batas normal, yakni pada laki-laki Hb > 18,5 g/dL dan pada perempuan Hb > 16,5 g/dL (Lailla dkk., 2021).

Tabel 1 Kadar Hemoglobin Normal

	Laki-laki	Perempuan
Kadar Hemoglobin	13,5-18 g/dL	12-15 g/dL
(g/dL)		

Sumber : (Kemenkes RI, 2022)

5. Pembentukan hemoglobin

Bagian dalam eritrosit mengandung hemoglobin, yaitu biomolekul yang berfungsi mengikat oksigen. Pada manusia, sel darah merah diproduksi di sumsum tulang belakang dengan bentuk khas bikonkaf. Sintesis heme, atau tahap awal pembentukan hemoglobin, terutama berlangsung di mitokondria melalui serangkaian reaksi biokimia yang dimulai dari kondensasi glisin dan suksinil koenzim A dengan bantuan enzim pengatur kecepatan reaksi. Piridoksal fosfat (vitamin B6) berperan sebagai koenzim dalam proses ini, yang dirangsang oleh eritropoietin. Selanjutnya, protoporfirin bergabung dengan rantai globin yang disintesis pada poliribosom. Hemoglobin terdiri atas empat rantai globin dalam satu tetramer, masing-masing dengan gugus heme sendiri yang terletak dalam kantung protein membentuk satu molekul hemoglobin. Sintesis hemoglobin dimulai pada tahap eritroblas, kemudian pada fase retikulosit sel-sel tersebut meninggalkan

sumsum tulang dan masuk ke peredaran darah. Proses pembentukan heme terjadi bertahap, dan ketika cadangan besi (Fe) berkurang, tubuh akan melepaskannya. Kekurangan hemoglobin atau penurunan kadarnya dalam darah dapat menyebabkan terjadinya anemia (Nisa dkk., 2017).

Pembentukan hemoglobin dalam darah sangat dipengaruhi oleh ketersediaan zat besi. Dalam pangan, zat besi terdapat dalam dua bentuk, yaitu besi heme dan besi non-heme. Besi heme merupakan senyawa besi yang berikatan dengan protein dan terutama diperoleh dari sumber pangan hewani, sedangkan besi non-heme berasal dari bahan pangan nabati. Individu yang sehat dengan status gizi baik umumnya memiliki cadangan zat besi yang memadai di dalam tubuh. Namun, apabila cadangan besi terus menurun dan keseimbangannya terganggu, persediaan zat besi akan semakin berkurang. Kondisi ini dapat menghambat proses pembentukan hemoglobin, dan jika berlanjut, akan meningkatkan risiko terjadinya anemia akibat sintesis hemoglobin yang tidak optimal (Ayuningtyas dkk., 2022).

6. Faktor yang memengaruhi kadar hemoglobin

Menurut Fadlilah (2018) kadar hemoglobin dalam tubuh dipengaruhi oleh berbagai faktor, seperti usia, jenis kelamin, tingkat aktivitas fisik, status gizi, serta pola dan gaya hidup.

a. Usia

Anak-anak, lansia, dan ibu hamil cenderung lebih rentan mengalami penurunan kadar hemoglobin. Seiring dengan bertambahnya usia, kemampuan tubuh dalam memproduksi sel darah merah akan menurun karena adanya penurunan fungsi fisiologis pada berbagai organ tubuh, terutama sumsum tulang yang berperan penting dalam proses pembentukan dan pematangan sel darah merah. Kondisi ini

menyebabkan kebutuhan oksigen jaringan tidak selalu terpenuhi secara optimal, sehingga risiko terjadinya anemia meningkat, khususnya pada kelompok rentan tersebut.

b. Jenis kelamin

Selain faktor usia, jenis kelamin juga berperan penting dalam memengaruhi kadar hemoglobin seseorang. Perbedaan kadar hemoglobin antara laki-laki dan perempuan sudah dapat terlihat sejak usia sekitar enam bulan. Pada masa tersebut, anak perempuan cenderung memiliki kadar hemoglobin sedikit lebih tinggi dibandingkan anak laki-laki. Namun demikian, secara umum perempuan lebih rentan mengalami penurunan kadar hemoglobin dibandingkan laki-laki, terutama saat mengalami menstruasi yang menyebabkan kehilangan darah setiap bulannya. Kondisi ini dapat diperburuk apabila asupan gizi, khususnya zat besi, tidak mencukupi sehingga risiko terjadinya anemia pada perempuan menjadi lebih tinggi.

c. Tingkat aktivitas fisik

Aktivitas fisik juga menjadi faktor penting yang memengaruhi kadar hemoglobin dalam tubuh. Aktivitas fisik didefinisikan sebagai setiap gerakan tubuh yang melibatkan otot rangka dan memerlukan pengeluaran energi. Melakukan aktivitas fisik secara teratur memberikan banyak manfaat, seperti membantu menjaga dan meningkatkan kesehatan otot serta tulang, mengurangi risiko terjadinya obesitas maupun penyakit kronis, serta menunjang kondisi psikologis agar lebih baik dan stabil. Pentingnya fungsi hemoglobin dalam tubuh manusia sangat erat kaitannya dengan kebutuhan akan aktivitas fisik. Saat seseorang berolahraga, metabolisme tubuh meningkat sehingga terjadi akumulasi ion hidrogen dan asam laktat yang menyebabkan penurunan pH darah. Kondisi pH

yang lebih rendah ini akan mengurangi daya ikat oksigen pada hemoglobin, sehingga hemoglobin melepaskan lebih banyak oksigen untuk memenuhi kebutuhan otot. Aktivitas fisik yang dilakukan secara teratur dapat meningkatkan kadar hemoglobin, tetapi aktivitas yang terlalu berat atau berlebihan justru dapat menimbulkan hemolisis dan menurunkan jumlah hemoglobin.

d. Status gizi

Untuk mempertahankan kadar hemoglobin agar tetap berada pada kisaran normal, diperlukan asupan nutrisi yang mampu mencukupi kebutuhan zat besi. Kecukupan zat besi dalam tubuh sangat penting untuk mendukung proses pembentukan hemoglobin. Kekurangan zat besi yang berkaitan dengan gizi dapat memicu terjadinya anemia, sehingga sel darah merah yang dihasilkan berukuran lebih kecil dan memiliki kadar hemoglobin yang rendah. Selain itu, vitamin B12 juga berperan penting sebagai komponen esensial dalam proses pembentukan hemoglobin.

e. Pola dan gaya hidup

Selain faktor usia, jenis kelamin, dan aktivitas fisik, gaya hidup juga berperan penting dalam memengaruhi kadar hemoglobin seseorang. Gaya hidup yang dimaksud mencakup berbagai kebiasaan, seperti perilaku merokok serta konsumsi zat-zat yang dapat menghambat penyerapan zat besi. Beberapa senyawa yang dikenal sebagai inhibitor penyerapan besi antara lain kafein, tanin, oksalat, dan fitat, yang banyak ditemukan pada produk-produk seperti kopi, teh, maupun olahan kacang kedelai. Apabila kebiasaan tersebut dilakukan secara berlebihan, penyerapan zat besi menjadi kurang optimal, sehingga dapat mengganggu proses pembentukan hemoglobin dan berpotensi menurunkan kadarnya dalam darah.

f. Ketinggian tempat tinggal

Tantangan utama yang dihadapi manusia di dataran tinggi adalah berkurangnya tekanan parsial oksigen (PO_2) akibat menurunnya tekanan barometrik. Tubuh merespons kondisi ini melalui berbagai mekanisme fisiologis, seperti aklimatisasi (adaptasi tubuh dalam jangka pendek terhadap lingkungan baru), sedangkan perubahan fisiologis yang berlangsung selama beberapa generasi disebut adaptasi. Salah satu bentuk aklimatisasi tersebut adalah peningkatan kadar hemoglobin di dalam tubuh yang terjadi bersamaan dengan bertambahnya jumlah sel darah merah. Mekanisme ini berfungsi untuk mengimbangi rendahnya kadar oksigen di lingkungan pegunungan sehingga pasokan oksigen ke jaringan tetap optimal (Bahri dkk., 2022).

g. Paparan asap rokok

Asap rokok yang terhirup, baik oleh perokok aktif maupun perokok pasif, dapat meningkatkan kadar karbon monoksida (CO) di dalam tubuh. Peningkatan kadar CO ini memengaruhi kemampuan hemoglobin dalam mengikat oksigen, karena CO memiliki afinitas ikatan dengan hemoglobin yang jauh lebih kuat dibandingkan oksigen. Akibatnya, pasokan oksigen ke jaringan menjadi terganggu dan dapat menyebabkan kadar hemoglobin dalam darah tidak berada pada kondisi normal, yang berpotensi menimbulkan berbagai gangguan kesehatan (Sayekti, 2020).

B. Pemeriksaan Kadar Hemoglobin

1. Metode pemeriksaan

Pemeriksaan hemoglobin merupakan salah satu jenis pemeriksaan darah rutin yang paling umum dilakukan di laboratorium. Penentuan kadar hemoglobin dapat

dilakukan dengan menggunakan beberapa metode pemeriksaan (Norsiah, 2015).

Adapun metode yang digunakan untuk pemeriksaan kadar hemoglobin, antara lain:

a. Metode sahli

Metode Sahli merupakan salah satu pemeriksaan hemoglobin yang didasarkan pada prinsip pembentukan warna (kolorimetri). Darah yang direaksikan dengan larutan HCl akan menghasilkan asam hematin berwarna coklat, kemudian warna tersebut dibandingkan dengan standar melalui proses pengenceran menggunakan akuades (Tambunan & Maritalia, 2023).

Metode ini memiliki kelemahan karena tidak semua jenis hemoglobin dapat diubah menjadi asam hematin, misalnya karboksihemoglobin, methemoglobin, dan sulfhemoglobin. Selain itu, hasil pemeriksaan juga dapat dipengaruhi oleh faktor subjektivitas, memudarnya warna standar, serta kondisi pencahayaan saat pemeriksaan. Metode Sahli masih sering digunakan di beberapa laboratorium sederhana. Namun, pemeriksaan dengan metode ini memiliki tingkat kesalahan sekitar 10%–15% (Norsiah, 2015).

b. Metode *cyanmethemoglobin*

Metode *cyanmethemoglobin* merupakan metode yang direkomendasikan oleh *International Committee for Standardization in Haematology* (ICSH) sebagai gold standard dalam pemeriksaan hemoglobin. Kelebihan metode ini adalah penggunaannya yang relatif mudah, memiliki standar yang stabil, serta mampu mengukur hampir seluruh jenis hemoglobin, kecuali sulfhemoglobin (Widianto dkk., 2021).

Prinsip pemeriksaan sianmethemoglobin adalah heme (ferro) yang mengalami oksidasi oleh kalium ferisianida sehingga terbentuk methemoglobin (ferri).

Selanjutnya, methemoglobin bereaksi dengan ion sianida dan menghasilkan sianmethemoglobin yang berwarna cokelat. Warna tersebut kemudian diukur serapannya dengan menggunakan kolorimeter atau spektrofotometer pada panjang gelombang 546 nm dan faktor 36,77. (Norsiah, 2015).

c. Metode POCT (*Point of Care Testing*)

Metode digital (POCT) dengan alat Easy Touch GCHb bekerja berdasarkan prinsip penghitungan kadar hemoglobin pada sampel darah melalui perubahan potensial listrik yang terjadi secara singkat akibat interaksi kimia antara sampel darah dengan elektroda pada strip. Metode ini relatif mudah digunakan, serta mampu memberikan hasil yang mendekati nilai sebenarnya apabila dibandingkan dengan metode lain, seperti metode Sahli (Lailla dkk., 2021).

Adapun kelebihan penggunaan metode ini adalah hasil pemeriksaan dapat diperoleh dengan lebih cepat dan biaya yang relatif lebih rendah. Namun, kekurangan dari metode ini yaitu hasil yang diperoleh terkadang masih memerlukan verifikasi ulang, sehingga dapat menambah biaya pemeriksaan (Rahmatullah dkk., 2023).

d. Metode otomatis

Hematology analyzer merupakan alat yang digunakan secara in vitro untuk melakukan pemeriksaan hematologi secara otomatis dengan bantuan reagen maupun cairan pembersih sesuai petunjuk penggunaan. Pada prosesnya, alat ini memecah hemoglobin menjadi larutan, kemudian memisahkannya dari zat lain menggunakan sianida. Selanjutnya, kadar hemoglobin diukur melalui penyinaran khusus berdasarkan intensitas sinar yang diserap oleh hemoglobin, dan hasil pengukuran ditampilkan langsung pada layar (Rahmatullah dkk., 2023).

Metode ini banyak digunakan karena pemeriksaannya relatif cepat dan hasil yang diperoleh umumnya telah melalui quality control yang dilaksanakan oleh antar laboratorium (Aini dkk., 2019). Namun, metode ini memiliki kelemahan, yaitu memerlukan perawatan khusus dengan syarat suhu ruangan $23 \pm 3^{\circ}\text{C}$, kelembaban 20–80%, serta harus dilakukan kontrol secara berkala (Nur'aini dkk., 2018).

2. Faktor yang memengaruhi hasil pemeriksaan hemoglobin

a. Hemolisis

Darah lisis atau hemolisis merupakan peristiwa hancurnya sel darah yang umumnya disebabkan oleh kesalahan dalam preparasi sampel. Kondisi ini sebagian besar terjadi akibat pecahnya sel darah merah pada serum atau plasma. Hemolisis dapat menimbulkan gangguan dalam pengukuran laboratorium karena adanya pelepasan berbagai komponen sel (Ramdhani dkk., 2024).

Hemolisis merupakan salah satu kesalahan pra-analitik yang paling sering terjadi. Hemolisis dapat terjadi baik secara in vitro maupun in vivo. Hemolisis in vitro biasanya disebabkan oleh faktor teknis, seperti penggunaan jarum dengan ukuran terlalu kecil, pengambilan darah pada area dengan hematoma, atau pengocokan sampel darah yang terlalu kuat. Sementara itu, hemolisis in vivo umumnya dipicu oleh kondisi patologis, misalnya infeksi, anemia hemolitik autoimun, penggunaan obat-obatan tertentu, maupun faktor keturunan. Pada kasus-kasus tersebut, hemolisis sulit dihindari karena kerusakan sel eritrosit yang terjadi akan menghasilkan serum yang mengalami hemolisis.

b. Volume darah

Perbandingan jumlah darah dengan antikoagulan yang digunakan dalam pemeriksaan laboratorium harus diperhatikan dengan sangat cermat agar tidak

menimbulkan kesalahan hasil analisis. Apabila volume darah yang dimasukkan ke dalam tabung lebih banyak dari seharusnya, maka darah dapat membeku karena masih terdapat fibrin, sehingga berpotensi menimbulkan agregasi trombosit (platelet clump) di dalam penampung. Kondisi ini akan menyebabkan hasil hitung trombosit menjadi lebih rendah dari nilai yang sebenarnya. Sebaliknya, apabila jumlah darah yang dimasukkan terlalu sedikit sehingga konsentrasi antikoagulan (misalnya EDTA) menjadi berlebihan, maka eritrosit dapat mengalami pengerutan. Keadaan ini akan berdampak pada penurunan nilai hematokrit, penurunan nilai MCV (*Mean Corpuscular Volume*), serta peningkatan nilai MCHC (*Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration*), sementara trombosit cenderung membesar dan mengalami desintegrasi. Dengan demikian, ketepatan dalam menakar volume darah yang digunakan harus benar-benar diperhatikan agar kualitas dan akurasi hasil pemeriksaan laboratorium tetap terjamin (Atna Permana, Zuraida, 2020).

3. Faktor yang memengaruhi stabilitas spesimen

a. Suhu penyimpanan

Sampel darah yang tidak langsung diperiksa perlu disimpan pada suhu 4–8°C untuk mencegah kerusakan. Penyimpanan pada suhu tersebut dapat mempertahankan bentuk dan viskositas darah, sehingga kadar hemoglobin tetap stabil. Faktor penyimpanan sampel serta jenis antikoagulan yang digunakan sangat memengaruhi reliabilitas dan stabilitas hasil uji hematologi. Penundaan pemeriksaan berisiko menimbulkan perubahan hasil, sebab darah mudah mengalami kerusakan bila dibiarkan pada suhu kamar (Istiqomaria & Bastian, 2021).

b. Waktu penyimpanan

Penyimpanan sampel darah pada suhu kamar selama beberapa jam dapat memicu perubahan biokimia, biomekanis, serta reaksi imunologis yang berujung pada kerusakan struktur atau morfologi sel darah (storage lesion). Kondisi ini menyebabkan eritrosit rentan mengalami kerusakan, termasuk pecahnya membran sel (lisis) sehingga hemoglobin keluar ke dalam plasma. Eritrosit yang disimpan pada suhu kamar mudah mengalami gangguan keseimbangan tonisitas, yang mengakibatkan pembengkakan, hemolisis, maupun krenasi. Kerusakan tersebut juga dipengaruhi oleh sifat antikoagulan EDTA yang bersifat hipertonik terhadap sel darah (Wijaya dkk., 2024).

c. Kontaminasi

Kontaminasi bakteri dapat terjadi apabila proses pengambilan darah tidak dilakukan secara aseptis. Kontak dengan kulit yang kurang steril saat penusukan berpotensi menimbulkan kontaminasi. Selain itu, penggunaan alat yang tidak steril maupun penanganan sampel darah yang tidak tepat oleh petugas juga dapat menyebabkan masuknya bakteri. Kontaminasi tersebut dapat merusak kualitas darah.

C. Antikoagulan EDTA

Dalam pemeriksaan hematologi, diperlukan penambahan antikoagulan pada sampel darah. Antikoagulan adalah zat yang berfungsi mencegah terjadinya pembekuan darah dengan cara mengikat kalsium, karena kalsium berperan sebagai salah satu faktor dalam proses koagulasi. Beberapa jenis antikoagulan yang umum digunakan pada pemeriksaan hematologi antara lain Ethylene Diamine Tetraacetic Acid (EDTA), natrium sitrat, dan heparin (Primastuti & Aliviameita, 2025).

Antikoagulan Ethylene Diamine Tetraacetic Acid (EDTA) tersedia dalam dua bentuk, yaitu konvensional dan vacutainer. Pada bentuk konvensional, dosis penggunaannya adalah 1 mg EDTA untuk setiap 1 mL darah. Sementara itu, pada bentuk vacutainer jumlah EDTA yang digunakan adalah 10 µL per 1 mL darah, sehingga 1 mg EDTA dapat mencegah pembekuan pada 1 mL darah. Umumnya, EDTA digunakan dalam bentuk larutan dengan konsentrasi 10% (Hariyanto dkk., 2024). Antikoagulan EDTA ada tiga jenis, yaitu dinatrium EDTA (Na_2EDTA), dipotassium EDTA (K_2EDTA), dan tripotassium EDTA (K_3EDTA) (Anisa, 2020).

1. Antikoagulan Na_2EDTA

Na_2EDTA dalam bentuk serbuk (EDTA konvensional) telah lama dipakai di laboratorium. Untuk mempermudah proses penakaran, biasanya dibuat dalam larutan dengan konsentrasi 10%. Pemakaian Na_2EDTA menuntut keterampilan dalam pemipetan, karena pipet harus digunakan secara tegak lurus serta dalam kondisi kering dan kosong. Apabila dosis EDTA tidak sesuai dengan ketentuan, darah dapat membeku atau hasil pemeriksaan menjadi tidak akurat (Faizzah, 2018). Kelemahan dari penggunaan Na_2EDTA adalah kurang efisien, stabilitasnya relatif rendah, dan memerlukan ketelitian tinggi dalam penggunaannya. Na_2EDTA sendiri merupakan salah satu jenis garam EDTA yang bekerja dengan cara mengikat ion kalsium (Ca^{2+}), sehingga proses pembekuan darah dapat dicegah. Namun, karena sifatnya yang berbentuk serbuk, penggunaannya sering kali kurang praktis dibandingkan bentuk EDTA lain seperti K_2EDTA atau K_3EDTA yang lebih stabil dalam bentuk vacutainer (Lestari dkk., 2023).

2. Antikoagulan K₂EDTA

K₂EDTA (Dipotassium Ethylene Diamine Tetraacetic Acid) adalah salah satu jenis antikoagulan yang banyak digunakan dalam pemeriksaan hematologi. Senyawa ini bekerja dengan cara mengikat ion kalsium (Ca²⁺) yang berperan penting dalam proses pembekuan darah. Dengan terikatnya kalsium, proses koagulasi dapat dicegah sehingga sampel darah tetap dalam kondisi cair. K₂EDTA merupakan antikoagulan yang dinilai paling ideal untuk pemeriksaan hematologi karena dalam tabung vacutainer disediakan dalam bentuk dry spray. Bentuk ini tidak menyebabkan pengenceran sehingga tidak memengaruhi morfologi sel darah. Jenis EDTA yang direkomendasikan oleh *World Health Organization* (WHO), *International Council for Standardization in Hematology* (ICSH), serta *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) adalah tabung vacutainer K₂EDTA. Penggunaan K₂EDTA dinilai mampu menjaga mutu hasil pemeriksaan dengan tingkat presisi dan akurasi yang tinggi. Namun, keunggulan tersebut juga diikuti dengan biaya yang relatif lebih besar dibandingkan jenis antikoagulan lain. Oleh karena itu, pemilihan K₂EDTA umumnya dilakukan di laboratorium yang mengutamakan kualitas hasil uji (Lestari dkk., 2023).

3. Antikoagulan K₃EDTA

Tabung vacutainer yang berisi antikoagulan K₃EDTA direkomendasikan oleh *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS) untuk digunakan dalam pemeriksaan hematologi, khususnya dalam analisis kadar dan komponen darah (Primastuti & Aliviameita, 2025). K₃EDTA umumnya berbentuk garam yang memiliki stabilitas lebih baik dibandingkan jenis garam EDTA lainnya, karena nilai pH-nya mendekati pH darah, yakni sekitar 6,4.

Antikoagulan EDTA umumnya tersedia dalam dua bentuk, yaitu serbuk/kering dan larutan/cair. Jika digunakan EDTA dalam bentuk serbuk, seperti Na_2EDTA atau K_2EDTA , maka tabung yang berisi darah harus diguncang sedikit lebih lama (sekitar 1–2 menit) karena serbuk EDTA larut lebih lambat. Pelarutan yang lambat ini dapat memengaruhi hasil pemeriksaan, terutama pada uji darah rutin. Oleh sebab itu, penggunaan EDTA dalam bentuk larutan, seperti K_3EDTA , lebih disarankan karena lebih cepat tercampur dengan darah dan dapat menghasilkan hasil pemeriksaan yang lebih stabil (Wahdaniah & Tumpuk, 2018).