

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Hemoglobin

1. Pengertian hemoglobin

Hemoglobin adalah protein kompleks yang mengandung zat besi dan berada di dalam eritrosit, berfungsi utama sebagai pembawa oksigen dari paru-paru ke jaringan serta mengangkut kembali karbon dioksida untuk dikeluarkan melalui proses respirasi. Hemoglobin tersusun atas empat rantai polipeptida (dua rantai alfa dan dua rantai beta) yang masing-masing berikatan dengan satu gugus heme yang mengandung atom besi (Fe^{2+}), sehingga memungkinkan proses ikatan reversibel antara hemoglobin dan oksigen. Struktur tersebut menjadikan hemoglobin berperan penting dalam transportasi gas respirasi dan regulasi keseimbangan asam-basa tubuh. Selain itu, hemoglobin juga berfungsi mempertahankan viskositas darah serta memberikan warna merah khas pada darah. Definisi hemoglobin secara umum diakui dalam literatur hematologi, termasuk pada buku ajar dan penelitian kesehatan di Indonesia, yang menekankan bahwa keberadaan dan jumlah hemoglobin sangat menentukan kapasitas pengangkutan oksigen serta status fisiologis seseorang (Sari dan Widodo, 2020).

2. Struktur dan komponen penyusun hemoglobin

Hemoglobin memiliki struktur tersier dan kuarterner yang sangat khas, terdiri atas empat rantai globin dan empat gugus heme yang bekerja secara sinergis dalam proses pengikatan oksigen. Setiap molekul hemoglobin tersusun dari dua rantai polipeptida tipe alfa dan dua rantai polipeptida tipe beta,

membentuk struktur tetramer yang stabil dan fleksibel untuk beradaptasi terhadap perubahan tekanan oksigen di dalam jaringan tubuh. Pada bagian pusat masing-masing rantai polipeptida terdapat gugus heme yang mengandung cincin porfirin dan atom besi (Fe^{2+}), yang berfungsi sebagai tempat terjadinya ikatan reversibel antara hemoglobin dan oksigen. Keempat gugus heme ini memungkinkan satu molekul hemoglobin mengikat hingga empat molekul oksigen, sehingga meningkatkan efisiensi transportasi oksigen dalam tubuh. Struktur hemoglobin yang kompleks ini juga berperan dalam mempertahankan bentuk eritrosit, menjaga tekanan osmotik, dan membantu proses buffering asam-basa melalui mekanisme pengikatan proton dan karbon dioksida. Literatur nasional menjelaskan bahwa komponen globin dan heme saling melengkapi, globin menjaga stabilitas protein, sedangkan heme menjadi pusat reaksi biokimia respiratorik, sehingga perubahan pada salah satu komponen dapat mempengaruhi fungsi keseluruhan hemoglobin (Nuryanto, 2021; Lestari, 2019).

3. Fungsi fisiologis hemoglobin

Hemoglobin memiliki peran fisiologis yang sangat penting dalam mempertahankan keberlangsungan proses metabolisme tubuh, terutama melalui fungsi transportasi oksigen dan karbon dioksida. Hemoglobin mengikat oksigen di paru-paru ketika berada pada tekanan parsial oksigen yang tinggi, kemudian melepaskannya ke jaringan perifer yang membutuhkan oksigen untuk proses respirasi seluler. Selain itu, hemoglobin berperan dalam membawa sebagian karbon dioksida (CO_2) kembali ke paru-paru melalui mekanisme pembentukan karbaminohemoglobin, serta berperan penting dalam menjaga keseimbangan

asam-basa tubuh dengan bertindak sebagai buffer melalui pengikatan ion hidrogen (H^+). Literatur hematologi Indonesia juga menjelaskan bahwa hemoglobin turut berkontribusi dalam mempertahankan bentuk eritrosit dan mendukung kelancaran sirkulasi darah dengan memastikan viskositas yang adekuat. Dengan mekanisme yang kompleks tersebut, hemoglobin tidak hanya berfungsi sebagai transporter gas, tetapi juga berperan dalam kestabilan fisiologis tubuh secara keseluruhan, sehingga perubahan kadar hemoglobin dapat berpengaruh langsung terhadap kapasitas fungsional dan status kesehatan individu (Sari dan Widodo, 2020; Yuliani, 2018).

4. Nilai normal hemoglobin

Nilai normal hemoglobin merupakan salah satu parameter penting dalam pemeriksaan hematologi yang digunakan untuk menilai kemampuan darah dalam mengangkut oksigen ke seluruh jaringan tubuh. Kadar hemoglobin yang berada dalam rentang normal menunjukkan bahwa fungsi eritrosit dalam sistem transportasi oksigen berlangsung dengan baik, sedangkan kadar yang berada di luar rentang tersebut dapat mengindikasikan adanya gangguan kesehatan, seperti anemia atau polisitemia.

Berdasarkan Kementerian Kesehatan Republik Indonesia (2018), nilai rujukan hemoglobin pada orang dewasa dibedakan berdasarkan jenis kelamin. Kadar hemoglobin normal pada laki-laki dewasa berkisar antara 13–17 g/dL, sedangkan pada perempuan dewasa berkisar antara 12–15 g/dL. Rentang nilai ini digunakan sebagai acuan dalam interpretasi hasil pemeriksaan laboratorium untuk menentukan kondisi fisiologis individu. Apabila kadar hemoglobin berada di bawah rentang tersebut, maka dapat dikategorikan sebagai anemia,

sedangkan kadar yang melebihi rentang normal dapat mengarah pada kondisi peningkatan jumlah eritrosit atau gangguan lain yang berkaitan dengan sistem peredaran darah.

Tabel 1
Kadar Hemoglobin

Kriteria	Nilai Rujukan
Laki-Laki	13-17 g/dL
Perempuan	12-15 g/dL

(Sumber: Kemenkes 2018)

Perbedaan nilai normal hemoglobin antara laki-laki dan perempuan dipengaruhi oleh faktor fisiologis, terutama perbedaan hormonal dan kebutuhan oksigen dalam tubuh. Laki-laki umumnya memiliki kadar hemoglobin yang lebih tinggi dibandingkan perempuan karena adanya pengaruh hormon testosteron yang berperan dalam merangsang proses eritropoiesis di sumsum tulang. Selain itu, massa otot yang lebih besar pada laki-laki juga menyebabkan kebutuhan oksigen meningkat, sehingga tubuh beradaptasi dengan meningkatkan produksi hemoglobin.

Sebaliknya, perempuan memiliki kadar hemoglobin yang relatif lebih rendah karena dipengaruhi oleh kehilangan darah secara fisiologis melalui menstruasi. Kondisi ini menyebabkan cadangan zat besi dalam tubuh perempuan cenderung lebih rendah dibandingkan laki-laki, sehingga berpengaruh terhadap proses pembentukan hemoglobin. Oleh karena itu, perbedaan nilai rujukan antara laki-laki dan perempuan perlu diperhatikan dalam interpretasi hasil pemeriksaan agar tidak terjadi kesalahan dalam penilaian kondisi kesehatan individu.

Selain faktor jenis kelamin, kadar hemoglobin juga dapat dipengaruhi oleh berbagai kondisi lain seperti status gizi, aktivitas fisik, serta kondisi lingkungan. Individu dengan asupan zat besi, vitamin B12, dan asam folat yang cukup cenderung memiliki kadar hemoglobin dalam batas normal, sedangkan kekurangan zat gizi tersebut dapat menyebabkan gangguan pembentukan hemoglobin. Aktivitas fisik yang tinggi dan kondisi lingkungan tertentu, seperti tinggal di dataran tinggi, juga dapat memicu peningkatan kadar hemoglobin sebagai bentuk adaptasi tubuh terhadap kebutuhan oksigen.

Dengan demikian, penggunaan nilai rujukan hemoglobin yang sesuai dengan jenis kelamin seperti yang tercantum dalam tabel sangat penting untuk memperoleh interpretasi hasil pemeriksaan yang akurat. Hal ini akan membantu tenaga kesehatan dalam menegakkan diagnosis serta menentukan penatalaksanaan yang tepat berdasarkan kondisi pasien.

5. Proses pembentukan hemoglobin (hemopoiesis)

Pembentukan hemoglobin terjadi bersamaan dengan proses eritropoiesis, yaitu proses pembentukan sel darah merah di sumsum tulang. Eritropoiesis dimulai dari sel punca hematopoietik yang berdiferensiasi menjadi proeritroblas, kemudian berkembang menjadi eritroblas basofilik, polikromatofilik, ortokromatik, hingga akhirnya menjadi retikulosit yang dilepaskan ke dalam sirkulasi dan matang menjadi eritrosit. Selama tahap eritroblas, sintesis hemoglobin berlangsung intensif melalui dua komponen utama: pembentukan globin pada ribosom serta sintesis gugus heme melalui jalur biokimia yang melibatkan enzim ALA-sintase, ferrokelatase, dan berbagai kofaktor. Atom besi (Fe^{2+}) yang berasal dari metabolisme tubuh atau asupan

makanan akan diantarkan oleh protein transferrin menuju sumsum tulang untuk kemudian dimasukkan ke dalam cincin porfirin membentuk heme. Proses eritropoiesis juga sangat dipengaruhi oleh hormon eritropoietin (EPO) yang diproduksi ginjal sebagai respon terhadap penurunan oksigen dalam jaringan. Literatur hematologi nasional menyebutkan bahwa gangguan pada ketersediaan zat besi, enzim pembentuk heme, maupun sekresi EPO dapat menghambat sintesis hemoglobin dan mengakibatkan anemia (Yuliani, 2018; Prasetyo, 2020).

6. Faktor-faktor yang mempengaruhi kadar hemoglobin

Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi kadar hemoglobin dalam darah diantaranya, yaitu:

a. Faktor Usia

Usia merupakan salah satu faktor biologis yang sangat mempengaruhi kadar hemoglobin seseorang. Pada bayi baru lahir, kadar hemoglobin biasanya lebih tinggi karena masih dipengaruhi hemoglobin fetal (HbF) yang memiliki afinitas tinggi terhadap oksigen, kemudian kadar ini menurun pada usia 2–3 bulan saat terjadi peralihan menuju hemoglobin dewasa (HbA). Pada anak-anak, kadar hemoglobin cenderung lebih rendah dibandingkan orang dewasa karena proses eritropoiesis belum sepenuhnya stabil. Memasuki usia dewasa, kadar hemoglobin mencapai rentang normal yang lebih tinggi dan stabil, kemudian mengalami penurunan kembali pada lansia akibat menurunnya kemampuan sumsum tulang dalam memproduksi eritrosit serta penyakit penyerta yang sering muncul pada usia lanjut. Penelitian nasional menunjukkan bahwa perubahan fisiologis terkait usia dapat mempengaruhi

densitas sumsum tulang dan kapasitas pembentukan hemoglobin sehingga perlu diperhitungkan dalam interpretasi nilai laboratorium (Lestari, 2019; Pertiwi dan Nursalam, 2021).

b. Jenis Kelamin

Jenis kelamin turut berperan dalam menentukan kadar hemoglobin, di mana laki-laki umumnya memiliki nilai hemoglobin lebih tinggi dibandingkan perempuan. Hal ini dikaitkan dengan massa otot yang lebih besar pada laki-laki sehingga kebutuhan oksigen juga meningkat, sehingga tubuh merespons dengan produksi eritrosit yang lebih tinggi. Selain itu, hormon testosteron terbukti merangsang eritropoiesis sehingga meningkatkan kadar hemoglobin. Sebaliknya, perempuan cenderung memiliki kadar hemoglobin lebih rendah akibat kehilangan darah secara rutin melalui menstruasi dan pengaruh hormon estrogen yang tidak memiliki efek stimulasi langsung terhadap pembentukan eritrosit. Literatur Indonesia menegaskan bahwa perbedaan fisiologis dan hormonal antara laki-laki dan perempuan merupakan dasar utama variasi nilai hemoglobin normal dalam populasi (Rahayu dan Suryani, 2020).

c. Status Gizi dan Asupan Zat Besi

Kecukupan nutrisi, khususnya zat besi, folat, dan vitamin B12, sangat menentukan keberhasilan sintesis hemoglobin. Zat besi merupakan komponen inti gugus heme, sehingga defisiensi besi akan langsung menghambat pembentukan hemoglobin dan menyebabkan anemia defisiensi besi. Folat dan vitamin B12 berperan dalam pembentukan DNA pada eritroblas sehingga kekurangannya dapat menyebabkan gangguan pematangan sel darah merah. Penelitian kesehatan di Indonesia menunjukkan bahwa kelompok dengan pola

makan rendah zat besi, terutama remaja dan perempuan usia subur, memiliki risiko lebih tinggi mengalami penurunan kadar hemoglobin. Asupan makanan hewani mengandung zat besi dengan bioavailabilitas lebih tinggi, sedangkan makanan nabati perlu dukungan vitamin C agar penyerapan besinya optimal (Nuryanto, 2021; Yuliani, 2018).

d. Aktivitas Fisik dan Kondisi Lingkungan

Aktivitas fisik yang tinggi dapat meningkatkan kadar hemoglobin karena tubuh membutuhkan pasokan oksigen lebih besar sehingga merangsang eritropoiesis. Atlet biasanya memiliki kadar hemoglobin dan hematokrit yang lebih tinggi sebagai adaptasi fisiologis. Sebaliknya, gaya hidup sedentari berkontribusi pada rendahnya kadar hemoglobin karena stimulasi produksi eritrosit juga rendah. Selain itu, lingkungan tempat tinggal seperti daerah dataran tinggi mendorong peningkatan hemoglobin sebagai kompensasi terhadap tekanan oksigen rendah. Adaptasi ini dikenal sebagai hipoksia fisiologis, yang memicu peningkatan produksi eritropoietin dan pembentukan eritrosit. Literatur Indonesia menjelaskan bahwa faktor lingkungan juga berperan besar dalam variasi kadar hemoglobin antarwilayah (Prasetyo, 2020).

e. Penyakit dan Kondisi Medis

Beberapa kondisi kesehatan dapat mempengaruhi kadar hemoglobin secara signifikan. Penyakit kronis seperti gagal ginjal mengurangi produksi eritropoietin sehingga menurunkan sintesis eritrosit dan hemoglobin. Infeksi kronis, inflamasi, dan kanker juga dapat menyebabkan anemia penyakit kronis melalui mekanisme hambatan metabolisme besi dan penurunan respons eritropoietin. Sebaliknya, kondisi seperti polisitemia vera menyebabkan kadar

hemoglobin meningkat secara abnormal akibat proliferasi eritrosit yang tidak terkontrol. Penyakit saluran cerna yang mengganggu penyerapan zat besi seperti gastritis, cacingan, atau malabsorpsi juga dapat menyebabkan penurunan hemoglobin. Penelitian klinis Indonesia menyebutkan bahwa identifikasi kondisi medis sangat diperlukan dalam interpretasi kadar hemoglobin agar tidak terjadi misdiagnosis (Sari dan Widodo, 2020).

f. Kebiasaan dan Gaya Hidup (Merokok, Alkohol, Pola Tidur)

Kebiasaan merokok menyebabkan peningkatan kadar hemoglobin karena paparan karbon monoksida dari asap rokok membentuk karboksihemoglobin, sehingga tubuh mengompensasi dengan memproduksi lebih banyak hemoglobin. Konsumsi alkohol berlebihan dapat mengganggu fungsi sumsum tulang dan mengurangi produksi eritrosit, sehingga menurunkan hemoglobin. Kurang tidur dan stres kronis juga dapat berdampak pada fungsi hormonal termasuk penurunan respons eritropoietin. Studi nasional menunjukkan bahwa gaya hidup tidak sehat sangat berhubungan dengan variasi hemoglobin, terutama pada kelompok usia produktif (Rahayu dan Suryani, 2020).

B. Pemeriksaan Kadar Hemoglobin

1. Metode pemeriksaan hemoglobin

Metode-metode yang digunakan untuk pemeriksaan kadar hemoglobin diantaranya, yaitu:

a. Metode *Cyanmethemoglobin*

Metode *cyanmethemoglobin* merupakan metode standar internasional untuk pemeriksaan kadar hemoglobin karena memiliki tingkat akurasi dan stabilitas hasil yang tinggi. Pada metode ini, hemoglobin dalam sampel darah diubah

menjadi bentuk *cyanmethemoglobin* melalui reaksi dengan reagen Drabkin yang mengandung kalium ferrosianida dan kalium sianida. Warna yang terbentuk kemudian dibaca menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm untuk menentukan konsentrasi hemoglobin secara kuantitatif. Metode ini mampu mengukur hampir semua fraksi hemoglobin kecuali sulfahemoglobin, sehingga dianggap sangat andal untuk standar laboratorium besar dan penelitian. Di Indonesia, metode *cyanmethemoglobin* masih menjadi acuan utama pada laboratorium pendidikan maupun klinik karena keakuratan dan kestabilannya yang baik (Sari dan Widodo, 2020; Putri, 2019).

b. Metode Sahli (Acid Hematin)

Metode Sahli atau metode acid hematin merupakan metode klasik yang masih digunakan di berbagai fasilitas kesehatan tingkat dasar karena prosedurnya sederhana dan tidak memerlukan peralatan yang kompleks. Pada metode ini, hemoglobin diubah menjadi bentuk asam hematin setelah darah direaksikan dengan asam klorida (HCl) 0,1 N. Warna cokelat yang terbentuk kemudian dibandingkan secara visual atau fotometrik dengan standar warna pada hemometer Sahli. Walaupun metode ini mudah dan murah, keterbatasannya adalah akurasi yang lebih rendah dibandingkan metode *cyanmethemoglobin*, terutama karena pengukuran warna secara visual sangat subjektif. Namun, di beberapa daerah dengan fasilitas terbatas metode ini masih direkomendasikan untuk skrining awal kadar hemoglobin (Sulastri, 2020).

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

Metode *Point of Care Testing* (POCT) merupakan metode pemeriksaan hemoglobin berbasis alat portabel yang dirancang untuk memperoleh hasil cepat dan praktis langsung di tempat pelayanan kesehatan, bahkan di lapangan. Alat POCT seperti HemoCue bekerja menggunakan cuvette mikrofotometrik yang telah berisi reagen kering sehingga sampel darah kapiler cukup ditetaskan ke dalam cuvette dan hasil dapat diperoleh dalam waktu kurang dari satu menit. Keunggulan utama metode ini adalah kecepatan, portabilitas, dan tidak memerlukan peralatan laboratorium besar sehingga sangat cocok untuk skrining anemia pada populasi, pemeriksaan ibu hamil, serta pelayanan gawat darurat. Namun, beberapa penelitian di Indonesia menunjukkan bahwa POCT dapat dipengaruhi faktor teknis seperti volume sampel, suhu lingkungan, dan cara pengambilan darah kapiler sehingga tetap perlu dilakukan kontrol kualitas untuk mencegah bias hasil (Sari dan Widodo, 2020; Rahmawati, 2021).

d. Metode Otomatis (*Hematology Analyzer*)

Hematology analyzer adalah alat otomatis yang digunakan di laboratorium modern untuk mengukur kadar hemoglobin secara cepat dan sangat akurat menggunakan prinsip fotometri serta analisis sel darah secara otomatis. *Analyzer* bekerja dengan mengalirkan sampel darah ke ruang pengukuran, di mana sel dan komponen darah akan dianalisis menggunakan sensor optik dan teknologi impedance. Pengukuran hemoglobin biasanya dilakukan dengan mengubah hemoglobin menjadi bentuk yang dapat dibaca secara fotometrik, kemudian alat menghitung konsentrasinya secara otomatis. Keunggulan metode otomatis ini adalah presisi yang tinggi, kemampuan memproses banyak

sampel dalam waktu singkat, serta menghasilkan parameter hematologi lengkap (erythrocyte count, hematocrit, MCV, MCH, MCHC). Di Indonesia, analyzer menjadi metode utama pada laboratorium rumah sakit dan klinik besar karena efisiensi dan keandalannya (Utami, 2020).

e. Metode Cupri Sulfat (CuSO_4)

Metode Cupri Sulfat (CuSO_4) adalah salah satu metode skrining kadar hemoglobin yang digunakan secara luas di unit donor darah karena prosedurnya sederhana, cepat, dan tidak membutuhkan alat laboratorium yang kompleks. Prinsip metode ini berdasarkan perbandingan berat jenis darah dengan larutan CuSO_4 yang telah dikalibrasi (biasanya berat jenis 1,053 yang setara dengan ambang Hb $\pm 12,5$ g/dL). Setetes darah dimasukkan ke dalam larutan; apabila tetesan darah segera tenggelam dalam waktu sekitar 10–15 detik, maka berat jenis darah lebih tinggi dari larutan sehingga diasumsikan kadar hemoglobin cukup untuk donor. Sebaliknya, bila darah melayang atau terapung, maka Hb diperkirakan berada di bawah batas minimal. Metode ini bersifat kualitatif sehingga tidak digunakan untuk penetapan nilai Hb yang presisi, namun sangat berguna untuk skrining awal karena ringkas, murah, dan memiliki sensitivitas yang cukup memadai dalam seleksi pendonor darah. Penjelasan metode ini banyak digunakan dalam pendidikan Analisis Laboratorium Medis dan pedoman teknis unit transfusi darah di Indonesia (Kurniawan, 2021).

2. Faktor yang mempengaruhi hasil pemeriksaan hemoglobin

a. Suhu Penyimpanan Sampel

Suhu penyimpanan merupakan faktor krusial yang sangat mempengaruhi stabilitas hemoglobin dalam sampel darah. Penyimpanan pada suhu yang terlalu tinggi dapat mempercepat proses hemolisis, yaitu pecahnya eritrosit yang menyebabkan kadar hemoglobin tampak lebih tinggi dari nilai sebenarnya. Sebaliknya, penyimpanan pada suhu terlalu rendah dapat menyebabkan proses pembekuan parsial, penggumpalan sel, dan kerusakan membran eritrosit yang juga berpotensi mengubah hasil pemeriksaan. Standar laboratorium klinik merekomendasikan agar sampel darah EDTA disimpan pada suhu 4–8°C bila tidak langsung diperiksa, dan maksimal 24 jam sebelum terjadi penurunan akurasi. Suhu yang tidak sesuai juga dapat memengaruhi reaksi kimia pada metode tertentu seperti cyanmethemoglobin yang membutuhkan stabilitas reaksi. Oleh karena itu, pengendalian suhu menjadi syarat utama untuk menjaga validitas hasil hemoglobin (Sari dan Utami, 2020).

b. Lama Penyimpanan Sampel

Lama penyimpanan memiliki pengaruh besar terhadap kualitas eritrosit dan stabilitas hemoglobin. Sampel darah yang dibiarkan terlalu lama akan mengalami perubahan morfologi sel, hemolisis spontan, penurunan pH, serta degradasi komponen darah akibat aktivitas enzimatik. Pada waktu penyimpanan lebih dari 24–48 jam, nilai hemoglobin dapat meningkat palsu akibat hemolisis, atau menurun akibat oksidasi hemoglobin menjadi bentuk yang tidak terukur oleh alat. Penyimpanan yang terlalu lama juga menyebabkan reagen pada metode POCT atau cyanmethemoglobin tidak bereaksi secara

optimal. Oleh karena itu, pemeriksaan hemoglobin idealnya dilakukan maksimal 6 jam sejak pengambilan sampel, dan bila terpaksa disimpan harus dalam kondisi terkontrol (Dewi dan Hartati, 2021).

c. Jenis dan Konsentrasi Antikoagulan

Antikoagulan yang paling direkomendasikan untuk pemeriksaan hemoglobin adalah EDTA (Ethylene Diamine Tetraacetic Acid) karena mampu mempertahankan integritas eritrosit tanpa mengubah kadar hemoglobin. Namun, penggunaan EDTA yang berlebihan atau konsentrasi yang tidak sesuai dapat menyebabkan dilusi sampel atau kerusakan sel darah merah yang memicu hemolisis. Antikoagulan lain seperti heparin atau natrium sitrat tidak disarankan karena dapat mengencerkan sampel dan menyebabkan bias hasil. EDTA yang menggumpal juga akan menyebabkan pembacaan Hb tidak representatif karena sel tidak terdispersi dengan baik. Dengan demikian, pemilihan jenis dan jumlah antikoagulan sangat menentukan akurasi pemeriksaan (Prasetyo dan Lestari, 2018).

d. Aktivitas Metabolik Sel

Meskipun sampel darah sudah berada di luar tubuh, eritrosit tetap melakukan aktivitas metabolik seperti glikolisis anaerobik. Proses ini menyebabkan perubahan pH, produksi asam laktat, serta perubahan konsentrasi elektrolit yang dapat memengaruhi stabilitas hemoglobin. Penurunan pH dan peningkatan metabolit dapat menyebabkan kerusakan membran eritrosit dan hemolisis. Aktivitas metabolik yang berlanjut juga mempengaruhi kemampuan hemoglobin mempertahankan bentuk kimianya, terutama pada metode yang sensitif terhadap perubahan molekul hemoglobin

seperti cyanmethemoglobin. Semakin lama sampel tidak diperiksa, semakin tinggi perubahan metabolik yang terjadi, sehingga hasil HB berpotensi tidak akurat (Widodo, 2019).

e. Kontaminasi (Reagen, Peralatan, atau Sampel)

Kontaminasi merupakan salah satu penyebab kesalahan hasil pemeriksaan hemoglobin yang sering terjadi. Kontaminasi dapat berasal dari sisa alkohol pada kulit saat pengambilan sampel, adanya air pada cuvette POCT, reagen yang terpapar udara lembap, atau peralatan yang tidak bersih. Pada metode manual seperti Sahli, kontaminasi pada tabung atau standar warna dapat menyebabkan pembacaan visual yang keliru. Sementara pada metode analyzer, kontaminasi darah atau sisa reagent di jalur pengukuran dapat menyebabkan error sistem. Reagen *cyanmethemoglobin* yang terkontaminasi juga akan memberikan absorbansi awal yang tinggi sehingga hasil pemeriksaan menjadi tidak valid. Oleh karena itu, kebersihan dan sterilisasi peralatan merupakan hal yang esensial dalam pemeriksaan laboratorium (Sari dan Utami, 2020).

3. Stabilitas spesimen untuk pemeriksaan hemoglobin

a. Pengaruh Kondisi Sampel terhadap Stabilitas Hemoglobin

Stabilitas spesimen sangat dipengaruhi oleh kondisi sampel sejak proses pengambilan hingga pemeriksaan. Penggunaan antikoagulan EDTA yang sesuai volume menjadi faktor penting karena ketidakseimbangan jumlah EDTA dapat menyebabkan perubahan bentuk eritrosit, hemolisis, dan peningkatan nilai hemoglobin secara artifisial. Selain itu, paparan suhu tinggi ($>30^{\circ}\text{C}$) mempercepat terjadinya degradasi sel darah dan hemolisis, sehingga mengganggu kestabilan hemoglobin. Sampel yang disimpan pada suhu ruang

terkendali (20–25°C) atau dalam suhu dingin (4–8°C) terbukti lebih stabil dibandingkan yang disimpan dalam kondisi panas. Getaran kuat, paparan udara, maupun cahaya langsung juga berpotensi mempercepat perubahan kimiawi pada hemoglobin sehingga dapat menurunkan akurasi hasil pemeriksaan. Hal ini menegaskan pentingnya kendali pra-analitik agar hasil pemeriksaan tetap valid dan reliabel (Yanti, 2019).

b. Pengaruh Suhu dan Lama Penyimpanan terhadap Stabilitas Hemoglobin

Suhu penyimpanan merupakan determinan utama dalam stabilitas hemoglobin. Sampel yang disimpan pada suhu ruang normal (20–25°C) masih menunjukkan stabilitas optimal selama 1–6 jam pertama. Apabila diperlukan penundaan lebih lama, penyimpanan pada suhu dingin (4–8°C) direkomendasikan karena mampu mempertahankan stabilitas Hb hingga 24 jam tanpa perubahan signifikan. Namun demikian, kondisi suhu panas seperti ruangan non-AC di wilayah tropis dapat mempercepat hemolisis sehingga hasil Hb dapat menyimpang dalam waktu 4–6 jam. Beberapa studi hematologi juga menyebutkan bahwa penyimpanan hingga 72 jam masih memungkinkan untuk sistem *analyzer* tertentu, tetapi hanya jika sampel berada pada suhu dingin dan tidak mengalami agitasi fisik. Oleh karena itu, durasi penyimpanan harus dicatat dalam rekam laboratorium untuk mencegah bias interpretasi nilai Hb (Pratama dan Khotimah, 2020).

c. Pengaruh Transportasi, Cahaya, dan Faktor Lingkungan terhadap Stabilitas Hemoglobin

Transportasi sampel darah harus dilakukan secara hati-hati karena getaran berlebih, guncangan, atau pergerakan kasar dapat merusak membran eritrosit

dan memicu hemolisis sehingga meningkatkan kadar hemoglobin secara keliru. Paparan cahaya langsung, terutama sinar matahari, dapat mempercepat proses oksidasi hemoglobin menjadi methemoglobin yang tidak terdeteksi akurat oleh metode spektrofotometri. Selain itu, paparan udara atau head-space berlebih di dalam tabung dapat menyebabkan oksidasi dan perubahan tekanan yang mempengaruhi kestabilan sel darah. Kondisi lingkungan seperti kelembaban tinggi dan perbedaan tekanan selama transportasi juga terbukti mempercepat degradasi sampel. Oleh karena itu, sampel harus dibawa menggunakan cool box, tidak terkena cahaya langsung, serta diproses sesegera mungkin untuk mencegah bias hasil pemeriksaan (Setyawan, 2018).