

Pengaruh Pemberian Vitamin C terhadap Absorpsi Besi (Fe) pada Mencit (*Mus musculus*) Anemia dengan Induksi Natrium Nitrit

The effect of Giving Vitamin C on the Iron (Fe) Absorption of Anemic Mice (*Mus musculus*) by Sodium Nitrite Induction

¹Siti Zamilatul Azkiyah, ²Delvi Noer Kholida Rahmaniya, ³Istiana, ⁴Ismatun Wafiyah

^{1,2,3,4} Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Ibrahimy

Email: st.zamilatulazkiyah@gmail.com

ABSTRAK

Vitamin C merupakan salah satu komponen yang dapat meningkatkan absorpsi besi pada penderita anemia defisiensi besi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek pemberian suplementasi vitamin C terhadap absorpsi besi yang diukur dari kadar hemoglobin hewan coba mencit anemia. Jenis penelitian berupa desain *laboratory eksperimental*. Hewan coba mencit (*Mus. Musculus*) jantan dibuat anemia dengan diinduksi dengan natrium nitrit kemudian dibagi menjadi tiga kelompok perlakuan. Kelompok I diberi akuades, Kelompok II diberi ferro sulfat, Kelompok III diberi asam askorbat + ferro sulfat dengan dosis 4,5 mg. Perlakuan diberikan selama 14 hari setelah mengalami anemia. Analisis data menggunakan ANOVA. Bila memiliki pengaruh maka dilanjutkan dengan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT). Perubahan kadar hemoglobin rata-rata mencit berkisar 12-15 gram/dL setelah perlakuan selama 14 hari yang artinya kadar hemoglobin kembali ke keadaan normal. Dengan demikian, pemberian vitamin C dapat meningkatkan kadar zat besi pada mencit (*Mus musculus*) Anemia dengan induksi natrium nitrit.

Kata Kunci: anemia, kadar hemoglobin, ferro sulfat, vitamin C

ABSTRACT

*Vitamin C is one component that can increase iron absorption in patients with iron deficiency anemia. This study aims to determine the effect of vitamin C supplementation on iron absorption as measured by hemoglobin levels in anemic mice. This type of research is an experimental laboratory design. Experimental animals (*Mus. Musculus*) male mice were made anemia induced with sodium nitrite and then divided into three treatment groups. Group I, was given distilled water, Group II, was given ferrous sulfate, Group III, was given ascorbic acid + ferrous sulfate at a dose of 4.5 mg. The treatment was given for 14 days after experiencing anemia. Data analysis was used ANOVA test. If it has an effect, it continued with the Duncan Multiple Range Test (DMRT). Changes in the average hemoglobin level of mice ranged from 12-15 grams/dL after 14 days of treatment, which means that the hemoglobin level returned to normal. Thus, the administration of vitamin C can increase iron levels in mice (*Mus musculus*) Anemia by induction of sodium nitrite.*

Keywords: anemia, hemoglobin levels, ferrous sulfate, vitamin C

PENDAHULUAN

Anemia defisiensi besi masih merupakan penyakit dengan prevalensi tinggi. Data dari World Health

Organization (WHO) menyebutkan bahwa 2 miliar penduduk dunia masih mengidap anemia defisiensi besi. Riskesdas 2007 mencatat angka anemia

nasional adalah 12,8% dimana 70,1% adalah anemia defisiensi besi (Risksedas, 2007).

Terapat banyak faktor yang menjadi penyebab terjadinya anemia defisiensi besi, antara lain kurangnya jumlah zat besi yang dikonsumsi, atau pengaruh bioavailibilitasnya ataupun karena pengaruh kemampuan penyerapan zat besi itu sendiri. Faktor penyerapan menjadi perhatian penting ketika memberikan suplemen besi. Banyak zat gizi mikro yang digunakan bersama-sama dengan zat besi untuk meningkatkan penyerapan zat gizi diantaranya asam folat, vitamin A, vitamin C, seng, vitamin B12 dan lainnya. Vitamin C membantu mempercepat penyerapan besi di dalam tubuh dan berperan dalam memindahkan besi ke dalam darah, serta mobilisasi simpanan besi terutama hemosiderin dalam limpa (Soemardjo, 2009).

Makanan yang dikonsumsi baik dari hewan maupun tumbuhan terdapat kandungan zat besi di dalamnya. Akan tetapi, didalam makanan tersebut juga terdapat beberapa kandungan zat yang dapat menghambat maupun memicu absorpsi zat besi dalam tubuh. Bahan makanan nabati atau makanan yang

berasal dari tumbuhan cenderung memiliki kandungan yang menghambat absorpsi zat besi dalam tubuh, seperti senyawa polifenol dan asam fitat. Senyawa-senyawa ini dapat mengikat zat besi, sehingga zat besi tidak dapat diabsorpsi. Sedangkan komponen seperti asam askorbat, protein dan asam sitrat dapat meningkatkan absorpsi zat besi kedalam tubuh.

Asam askorbat (Vitamin C) merupakan salah satu komponen yang dapat memicu absorpsi zat besi yang paling kuat. Asam askorbat bekerja dengan cara meningkatkan kelarutan zat besi dengan mengubah zat besi bentuk ferri (Fe^{3+}) menjadi bentuk ferro (Fe^{2+}) dan dapat membentuk kompleks askorbat-besi yang larut, sehingga zat besi mudah diabsorpsi oleh usus.

Penelitian yang menggunakan mencit sebagai hewan percobaan dilakukan karena mencit termasuk golongan omnivora yang mempunyai sistem pencernaan menyerupai sistem pencernaan pada manusia dan menunjukkan kebutuhan gizi seperti pada manusia. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian vitamin C terhadap absorpsi besi (Fe) pada mencit (*Mus musculus*) anemia yang diinduksi natrium nitrit. Penentuan

pengaruh pemberian vitamin C dilakukan dengan perhitungan jumlah hemoglobin pada mencit anemia. Perhitungan hemoglobin digunakan untuk mengetahui peningkatan kadar besi dalam darah.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan desain *laboratory eksperimental* dengan menggunakan rancangan penelitian *The Pos-Test Only Control Group Design*. Rancangan penelitian ini digunakan untuk menjawab mengetahui pengaruh pemberian vitamin C pada kelompok perlakuan pada hewan coba mencit yang dibuat anemia menggunakan induksi natrium nitrit, yang masing-masing diberikan ferro sulfat (Kelompok 2), kombinasi ferro sulfat bersama asam askorbat (Kelompok 3) dibandingkan dengan kelompok hewan coba mencit pada keadaan anemia yang tidak diberi perlakuan apapun (Kelompok 1).

Populasi dan Sampel

Populasi dalam penelitian ini adalah hewan coba mencit (*Mus. Musculus*) jantan strain DDW yang berumur sekitar 3 bulan dengan berat rata-rata antara 20-30 gram berjumlah 15 ekor.

Sampel diambil dari populasi hewan coba yang sudah dibuat anemia dengan induksi natrium nitrit (NaNO_2). Menurut Nurjanah (2017) volume pemberian kepada mencit secara oral adalah 20 ml/kg, jadi pada mencit dengan berat 20 gr sebanyak 0,4 ml/ekor/hari. Pemberian NaNO_2 selama 14 hari secara oral. Setelah hewan coba mengalami anemia, hewan coba dibagi menjadi 3 kelompok perlakuan yang diambil secara *random*. Masing-masing kelompok sebanyak 5 ekor.

Kelompok I : Kontrol, diberi akuades saja.

Kelompok II : Kontrol pembanding, diberi ferro sulfat.

Kelompok III : Diberi asam askorbat + ferro sulfat dengan dosis 4,5 mg.

Masing-masing kelompok diberi perlakuan selama 14 hari setelah mengalami anemia. Hewan coba mencit ditempatkan dalam kandang hewan berbentuk kotak yang terbuat dari palastik berukuran 60 cm² dan ditutup menggunakan tutup kawat. Kandang dilengkapi dengan serbuk gergaji sebagai alas tidur yang selalu diganti setiap 2 kali dalam seminggu. Kandang dilengkapi dengan alat minum yang terbuat dari botol plastik yang disertai

dengan pipa gelas agar mencit dapat minum dari pipa tersebut. Sebelum hewan coba dibuat anemia, hewan coba terlebih dahulu diaklimatisasi selama satu minggu dalam kandang dengan suhu kamar 20-40°C dan diberi makan berupa pelet sebanyak 4-8 g/ hari serta minum sebanyak 5-8 ml/hari (Hedrich, 2014).

Pengambilan sampel darah dilakukan melalui ekor mencit. Mencit ditempatkan pada holder kemudian ekor mencit dibersihkan menggunakan kapas yang telah diberi alkohol 70% dan diusap menggunakan air hangat agar aliran darah meningkat. Ujung ekor mencit dipotong menggunakan gunting bedah kira-kira 1 mm dan ditekan sambil diurut pangkat ekor menggunakan jari agar darah mengalir. Darah tersebut ditampung dalam tabung EDTA agar darah tidak mengalami koagulasi (Kusumawati, 2014).

Sampel darah yang diperoleh kemudian diukur kadar hemoglobin menggunakan metode Sahli dengan cara memasukkan HCl 0,1 N kedalam tabung sahli sampai tanda garis bawah. Kemudian ditambahkan sampel darah sebanyak 20 mm³ (0,02 cc) dan ditunggu selama 3 menit atau hingga berubah warna menjadi coklat

kehitaman. Selanjutnya ditambahkan aquades tetes demi tetes sambil diaduk menggunakan batang pengaduk sampai warnanya sama dengan warna standar hemoglobinometer. Dibaca hasil kadar hemoglobin pada tabung dengan satuan g/ml yang tertera pada tabung hemoglobin.

Data yang dikumpulkan dalam penelitian ini berupa data kadar hemoglobin. Perhitungan jumlah hemoglobin dilakukan pada saat hewan coba mencit selesai diaklimasi selama 1 minggu, setelah dibuat anemia, yakni setelah diberikan natrium nitrit (NaNO₂) selama 14 hari, dan setelah diberikan perlakuan pada hewan coba mencit.

Data yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan analysis of varians (ANOVA). Bila memiliki pengaruh maka dilanjutkan dengan uji Duncan Multiple Range Test (DMRT).

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Kadar Hemoglobin Mencit Sebelum Induksi Natrium Nitrit

Tabel 1 Kadar Hemoglobin Awal Mencit Sebelum Diinduksi Natrium Nitrit

	Kelompok I (kontrol)	Kelompok II	Kelompok III
Kadar Hemoglobin (gram/dL)	13.40	13.80	15.00
	13.60	14.20	14.70
	12.80	15.10	13.30
	12.70	14.80	13.90
	13.70	15.50	12.90
Rata-rata	13.24	14,70	14.00

Setelah diaklimasi selama 1 minggu, diperoleh data kadar hemoglobin mencit berdasarkan tabel tersebut berkisar 13-15 gram/dL. Hal ini menunjukkan bahwa mencit memiliki kadar hemoglobin normal.

2. Data Kadar Hemoglobin Mencit Setelah Induksi Natrium Nitrit

Berikutnya, mencit dengan kadar hemoglobin normal dibuat anemia dengan pemberian natrium nitrit selama 14 hari. Berikut ini merupakan data kadar hemoglobin mencit setelah diinduksi natrium nitrit selama 14 hari.

Tabel 2 Kadar Hemoglobin Mencit Setelah Diinduksi Natrium Nitrit

	Kelompok I (kontrol)	Kelompok II	Kelompok III
Kadar Hemoglobin (gram/dL)	11.10	11.80	11.20
	11.00	12.30	11.40
	11.30	11.90	12.50
	12.50	12.40	12.70
	12.20	12.60	12.80
Rata-rata	11.20	11.20	11.20

Berdasarkan data tabel tersebut, rata-rata kadar hemoglobin mencit berkisar 11 gram/dL. Menurut Smith dan Mangkoewidjojo (1988), kadar hemoglobin normal pada mencit usia 3 bulan yakni 13-16 gram/dL. Dengan demikian, kadar hemoglobin mencit setelah diinduksi natrium nitrit dibawah normal yang artinya mencit tersebut dalam keadaan anemia.

Mencit diinduksi natrium nitrit secara oral selama 14 hari mengakibatkan jumlah sel darah merah mencit menurun. menurut Suudah, dkk. (2015) natrium nitrit menyebabkan pembentukan methemoglobin, dimana natrium nitrit akan mengoksidasi sebagian hemoglobin sehingga didalam aliran darah akan terbentuk ion

ferri. Jika ion nitrit diserap dalam darah dan bila terjadi kontak dengan erosit, nitrit akan mengoksidasi Fe^{2+} dalam hemoglobin menjadi Fe^{3+} membentuk methemoglobin (metHb) (Yuningsih, 2007).

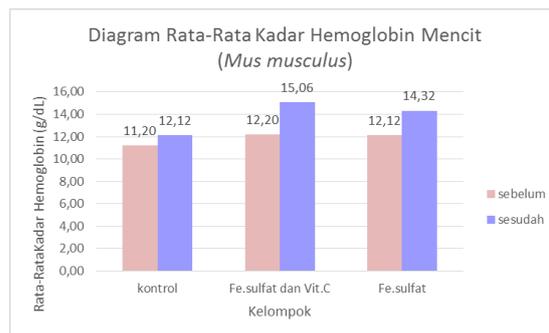
3. Data Kadar Hemoglobin Mencit Setelah Diberi Perlakuan

Berikut ini data kadar hemoglobin mencit setelah diberi perlakuan selama 14 hari.

Tabel 3 Kadar Hemoglobin Mencit Setelah Diberi Perlakuan Selama 14 hari

	Kelompok I (kontrol)	Kelompok II	Kelompok III
Kadar Hemoglobin (gram/dL)	12,20	13,80	14,90
	11,90	14,40	15,10
	12,40	13,90	14,80
	12,30	14,70	15,20
	11,80	14,80	15,30
Rata-rata	12,12	14,32	15,06

Berdasarkan data tabel tersebut, kadar hemoglobin mencit berkisar 12-15 gram/dL yang artinya kadar hemoglobin kembali ke keadaan normal. Berikut diagram perbandingan kadar rata-rata hemoglobin mencit anemia setelah pemberian ferro sulfat maupun kombinasi dengan vitamin C selama 14 hari.



Gambar 1. Diagram Kadar rata-rata hemoglobin mencit anemia pada masing-masing kelompok sebelum dan setelah diberi perlakuan selama 14 hari

Berdasarkan diagram tersebut, rata-rata kadar hemoglobin mencit paling tinggi yakni pada kelompok Fe.Sulfat dan Vitamin C (Kelompok III). Rata-rata kadar hemoglobin paling tinggi kedua yakni pada kelompok Fe.sulfat (Kelompok II). Sedangkan kelompok kontrol (kelompok I) memiliki rata-rata kadar hemoglobin paling rendah setelah diberi perlakuan selama 14 hari.

Hasil uji statistik menunjukkan bahwa kelompok kontrol (kelompok I), kelompok Fe.sulfat (kelompok II), kelompok Fe.sulfat dan vitamin C (kelompok III) memiliki perbedaan rata-rata kadar hemoglobin yang signifikan ($p > 0.05$).

Dari hasil analisis statistik terlihat pada kelompok perlakuan dengan kombinasi ferro sulfat dan vitamin C status zat besi meningkat secara signifikan dibanding dengan kelompok kontrol ($p > 0.05$).

Hal ini disebabkan vitamin C (asam askorbat) berperan penting dalam meningkatkan absorpsi zat besi terutama pada permukaan sel mukosa usus dengan menginduksi zat besi dari bentuk Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} dan mempertahankan zat besi tetap dalam keadaan terlarut ketika dalam lumen terjadi peningkatan pH dari lambung masuk ke duodenum. Zat besi terutama zat besi nonheme hanya dapat masuk ke dalam sel melewati mukosa usus maka jumlah zat besi yang dapat diabsorpsi meningkat. Meningkatnya absorpsi zat besi di usus akan menyebabkan konsentrasi zat besi dalam serum meningkat, artinya zat besi yang terikat pada protein serum (apotransferin) meningkat sehingga zat besi yang diangkut oleh transferrin ke jaringan juga meningkat (Abdul, 2002).

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa kadar

hemoglobin pada setiap kelompok perlakuan meningkat secara signifikan, jika dibandingkan dengan kelompok pada keadaan sebelum perlakuan (dalam keadaan anemia).

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan analisis statistik hasil penelitian yang dilakukan pada hewan coba mencit dapat disimpulkan bahwa pemberian vitamin C dapat meningkatkan kadar zat besi pada mencit (*Mus musculus*) Anemia dengan Induksi Natrium Nitrit.

Saran

1. Disarankan penggunaan kombinasi ferro sulfat dan vitamin C untuk digunakan dikemudian hari sebagai upaya dalam penanggulangan anemia defisiensi besi.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai penggunaan kombinasi ferro sulfat dan vitamin C dengan berbagai dosis yang diberikan secara bersamaan untuk mendapatkan dosis optimum untuk tujuan penanggulangan anemia yang banyak terjadi di masyarakat.

DAFTAR PUSTAKA

- Anderson J., Fitzgerald C. 2010. *Iron: An Essential Nutrient*. Colorado. Colorado State University.
- Hedrich, H. 2014. *The Laboratory Mouse*. Elsevier science's:USA
- Kusumawati, D. 2014. *Bersahabat dengan Hewan Uji Coba*. Yogyakarta: UGM Press.
- Nurjanah. 2017. *Pengaruh Perasan Daun Pepaya (Carica papaya L.) terhadap Kondisi Hematologis Mencit Jantan (Mus musculus Linn.) Anemia Melalui Induksi Natrium Nitrit*. Artikel Ilmiah. Pendidikan Biologi FKIP Universitas Jambi.
- Price S.A. 2007. *Patofisiologi*. Jakarta. Penerbit EGC.
- Riskesdas. 2007. *Riset Kesehatan Dasar. Laporan Nasional 2007*. Jakarta. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Soemardjo D. 2009. *Vitamin dan Biomineral dalam Pengantar Kimia Buku Panduan Kuliah Mahasiswa Kedokteran dan Program Strata 1 Fakultas Bioeksakta*. Jakarta. EGC. Cetakan I. Hal 351-388.
- Suudah, E.N., Yusriana, C.s., dan Dewi, T.N. 2015 *Uji Efektivitas Ketepatan Waktu Pemberian Kombinasi Natrium Tiosulfat dan Natrium Nitrit sebagai Antidotum Ketoksikan Akut Kalium Sianida pada Mencit (Mus musculus)*. *Jurnal Permata Indonesia*, 6(1): 21-28.
- Yuningsih. 2007. *Keracunan Nitrat-Nitrit pada Ternak Ruminansia dan Upaya Pencegahannya*. *Jurnal Litbang Pertanian*, 26(4): 153-159.
- Zulaekah S ; Widajanti L. 2010. *Pengetahuan Gizi dan Kadar Hemoglobin Anak Sekolah Dasar Penderita Anemia setelah Mendapatkan Suplementasi Besi dan Pendidikan Gizi*. *Jurnal Kesehatan Masyarakat Nasional*. (5). No.1. Agustus 2010