

EFEK PEMBERIAN SUPLEMEN FERRO SULFAT BERBAGAI DOSIS TERHADAP REGULASI KESEIMBANGAN BESI PADA TIKUS (*RATTUS NORVEGICUS*) BETINA

EFFECTS OF FERROUS SULFATE SUPPLEMENT IN VARIOUS DOSAGES TOWARD THE REGULATION OF IRON BALANCE IN FEMALE RATS (*RATTUS NORVEGICUS*)

Zahrah Zakiyah¹ Dewi Setyaningsih²

^{1,2}Program Studi Diploma III Kebidanan Universitas Respati Yogyakarta
HP/E-mail : 082225501205 / zahrah.zakiyah85@gmail.com

Abstract

Background: In 2002, WHO estimated that iron deficiency was included as global burden disease. It was estimated as much as 30.2% or 468.4 trillion woman in productive age (WUS) in the world suffered from anemia (Mclean et al.2008). In 2005, the household health survey (SKRT) reported that as much as 39.5% woman in productive age in Indonesia suffered from anemia. By giving the iron supplement, it can be used as solution to this problem. Mean while the iron supplement which is not appropriate will have an effect to the serum level of hepcidin as main regulation of iron balance in a body.

Research Objective: To prove the effects of ferrous sulfate supplement in various dosages toward the regulation of iron balance in female rats (*Rattus norvegicus*).

Research Method: The research was pure experimental research with posttest only control group design. The sample used 20 female rats, divided into five groups. One group was as a control without treatment and four treatment groups. The variables research measurement used colorimetric kit and Elisa kit. The data analysis used Anova one way statistical test, and correlation test of Pearson Product Moment.

Result: There is a significant difference in mean score both in transferrin saturation and in hepcidin serum level in four groups with p -value = 0.000. There is strong correlation in coefficient of contingency of 0.872, and there is a significant correlation between transferrin saturation and hepcidin serum level with p -value = 0.000 in four groups observations.

Conclusion: The higher of the dose ferrous sulfate supplement, the higher of transferrin saturation and hepcidin serum level in females rats (*Rattus norvegicus*)

Keywords: serum iron, TIBC, hepcidin, Ferro sulfate, Female rats (*Rattus norvegicus*)

Intisari

Latar belakang: WHO tahun 2002, mengestimasikan defisiensi zat besi dalam penyakit yang menjadi beban global. Diperkirakan 30.2% atau setara dengan 468.4 triliun WUS di dunia menderita anemia (Mclean et al. 2008). Laporan SKRT (2005) menyebutkan 39.5% WUS di Indonesia menderita anemia. Pemberian suplementasi zat besi dijadikan sebagai solusi

permasalahan ini, akan tetapi suplementasi zat besi yang tidak tepat berefek pada kadar serum hepsidin sebagai regulasi utama keseimbangan besi dalam tubuh.

Tujuan: Membuktikan efek pemberian suplemen ferro sulfat berbagai dosis terhadap regulasi keseimbangan besi pada tikus (*Rattus norvegicus*) betina.

Metode: Penelitian ini merupakan eksperimental murni dengan desain *posttest only control group design*. Sampel yang digunakan adalah 20 ekor tikus betina terbagi dalam 5 kelompok yaitu 1 kelompok sebagai kontrol tanpa perlakuan, dan 4 kelompok perlakuan. Pengukuran variabel penelitian menggunakan colorimetric kit dan ELISA kit. Analisis data menggunakan uji statistik *Anova one way* dan *Pearson Product Moment*.

Hasil: Ada perbedaan bermakna nilai rerata baik pada saturasi transferrin dan kadar serum hepsidin pada keempat kelompok dengan p -value = 0.000. Ada hubungan yang kuat (koefisien kontingensi 0.872) dan bermakna antara saturasi transferrin dengan kadar serum hepsidin (p -value=0.000) pada empat kelompok pengamatan.

Kesimpulan: Semakin tinggi dosis pemberian suplemen ferro sulfat semakin meningkatkan saturasi transferrin dan kadar serum hepsidin pada tikus (*Rattus norvegicus*) betina.

Kata Kunci : serum besi, TIBC, hepsidin, Ferro Sulfat, Tikus (*Rattus norvegicus*) betina.

PENDAHULUAN

Anemia menjadi permasalahan umum di dunia, baik di Negara industri maupun negara non-industri. Anemia disebabkan defisiensi zat besi termasuk penyakit yang menjadi beban global¹. Diketahui anemia meningkatkan morbiditas dan mortalitas pada bayi, balita, anak pra-sekolah dan ibu hamil, demikian pula pada wanita usia subur (WUS), yaitu wanita dengan rentang usia 17-45 tahun. Diperkirakan 30.2% atau setara dengan 468.4 triliun WUS di dunia menderita anemia². Indonesia sendiri berdasarkan catatan Kemenkes diketahui 3.5 juta remaja putri menderita anemia³. Dilaporkan 39.5% WUS di Indonesia menderita anemia⁴.

Masa wanita usia subur normal menghadapi kehilangan darah setiap bulannya disebabkan karena menstruasi yang dialaminya. Kekurangan gizi khususnya zat besi yang terjadi pada saat menstruasi, kehamilan dan laktasi secara umum disebabkan karena defisiensi besi yang terjadi pada wanita selama masa usia subur sebagai penyebab anemia⁵.

Guna menekan tingkat anemia Pemerintah Indonesia mengeluarkan Permenkes No.88 Tahun 2014 tentang Standar Tablet Tambah Darah bagi Wanita Usia Subur dan Ibu Hamil. Permenkes tersebut menyebutkan untuk menanggulangi

anemia gizi besi pada wanita usia subur, maka suplementasi Fe diberikan 1 kali seminggu dan 1 kali setiap hari sepanjang masa menstruasi⁶.

Meskipun besi bermanfaat bagi tubuh. Namun, besi juga berpotensi menimbulkan racun bagi tubuh, sehingga keberadaannya dalam tubuh harus selalu dipantau. Kadar zat besi yang berlebih dalam tubuh dapat berpotensi menjadi toksik, karena zat besi dapat menginisiasi reaksi redoks yang memicu terbentuknya Spesies Oksigen Reaktif (ROS), yang menciptakan kondisi disebut stres oksidatif. Stres oksidatif diyakini terlibat dalam banyak kondisi patologis dalam tubuh^{7,8}.

Up-take besi yang berlebih, misalkan pada pemberian suplemen Fe, akan meningkatkan saturasi transferrin dan NTBI akan muncul⁹. Guna mencegahnya tubuh memiliki mekanisme fisiologis dengan merilis hormon hepcidin. *Up-regulation* ekspresi hepcidin dapat disebabkan karena konsentrasi tinggi dari transferin diferric yang mencerminkan kadar zat besi dalam serum dan simpanan besi di hati yang tinggi¹⁰. Mekanisme ini mengatur regulasi keseimbangan besi dalam tubuh.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek pemberian suplemen ferro sulfat berbagai dosis terhadap regulasi keseimbangan besi pada tikus (*Rattus norvegicus*) betina khususnya saturasi transferrin dan kadar serum hepsidin. Dosis yang

diberikan dalam penelitian ini dimulai dari 75 mg (15 mg elemen besi), 150 mg (30 mg elemen besi), 300 mg (60 mg elemen besi) dan 600 mg (120 mg elemen besi).

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni (*true experimental*) dengan jenis penelitian adalah *Randomized Post Test Only Control Group Design*. Penelitian ini bertujuan mengetahui efek zat besi berbagai dosis pada regulasi keseimbangan besi, khususnya saturasi transferrin dan kadar serum hepcidin pada tikus (*Rattus norvegicus*) betina yang diberi dosis Fe 75 mg (15 mg elemen besi), 150 mg (30 mg elemen besi), 300 mg (60 mg elemen besi) dan 600 mg (120 mg elemen besi).

Penelitian ini menggunakan 20 ekor tikus bunting yang terbagi dalam 5 kelompok, yaitu 1 kelompok kontrol dan 4 kelompok perlakuan. Kelompok kontrol adalah kelompok tikus yang tidak diberi perlakuan apapun dan kelompok perlakuan 1, 2, 3 dan 4, yaitu tikus yang diberi ferro sulfat dosis 75 mg/hari mengandung 15 mg Fe, dosis 150 mg/hari mengandung 30 mg Fe, dosis 300 mg/hari mengandung 60 mg Fe 600 mg/hari mengandung 120 mg Fe.

Aklimatisasi dilakukan selama 7 hari sebelum tikus diberi perlakuan. Perlakuan pada hewan coba tikus (*Rattus norvegicus*) betina dilakukan selama 7 hari. Pemeliharaan tikus dilakukan di Laboratorium Farmakologi FK Universitas Brawijaya Malang.

Tikus diterminasi pada hari ke 7 dan dilakukan pengambilan darah untuk pengukuran saturasi transferrin dan kadar serum hepcidin. Nilai saturasi transferrin didapatkan dari hasil pembagian kadar serum besi dan TIBC (*Total iron binding capacity*) dikalikan 100%. Preparasi sampel dilakukan di Laboratorium Sentral Biomedik FK Universitas Brawijaya Malang. Pengukuran kadar serum besi maupun TIBC dilakukan dengan metode colorimetric yang dikerjakan di Laboratorium Ilmu Faal FK Universitas Brawijaya Malang. Satuan yang didapatkan adalah $\mu\text{g/dl}$, sedangkan pengukuran kadar serum hepcidin dilakukan dengan metode ELISA yang dikerjakan di Laboratorium Sentral

Biomedik FK Universitas Brawijaya Malang. Satuan yang didapatkan adalah ng/ml. Analisis data yang digunakan adalah ANOVA dan uji korelasi *Pearson Product Moment*.

HASIL PENELITIAN

Perbandingan Efek Pemberian Suplemen Ferro Sulfat Berbagai Dosis terhadap Nilai Rerata Saturasi Transferrin pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Betina.

Pengukuran saturasi transferrin diperoleh dari perbandingan nilai kadar serum besi dengan TIBC, maka uji *Anova one way* dilakukan juga pada kadar serum besi dan TIBC. Berikut ini adalah hasil pengujian *Anova one way* pada kadar serum besi, TIBC dan saturasi transferrin.

Perbandingan Nilai Rerata Kadar Serum Besi ($\mu\text{g/dl}$)

Hasil uji *Anova one way* pada data rerata kadar serum besi diperoleh adanya perbedaan yang bermakna pada rerata kelompok pengamatan, hal ini ditunjukkan dengan nilai *p-value* = 0.000. Hasil uji *Anova one way* ini selanjutnya diikuti dengan uji perbandingan berganda (*Multiple Comparisons*) menggunakan uji Beda Nyata Terkecil/BNT (*Least Significant Difference/LSD*) dengan hasil secara lengkap pada Tabel 1

Tabel 1 Perbandingan Kadar Serum Besi ($\mu\text{g/dl}$)

Kelompok pengamatan	n	Rerata \pm stan.dev	p-value
Kontrol	4	617.50 \pm 53.30 ^a	
P-1 (75 mg/hari)	4	733.75 \pm 34.00 ^b	
P-2 (150 mg/hari)	4	785.00 \pm 8.16 ^c	0.000
P-3 (300 mg/hari)	4	828.75 \pm 22.86 ^c	
P-4 (600 mg/hari)	4	886.25 \pm 33.50 ^d	

Berdasarkan hasil nilai rerata kadar serum besi tampak bahwa semakin tinggi dosis pemberian suplemen ferro sulfat, maka semakin meningkat nilai rerata serum besi. Apabila dilihat dari hasil rerata antar kelompok perlakuan dapat diketahui bahwa nilai rerata kadar serum besi pada perlakuan pemberian ferro sulfat dosis 75 mg/hari (733.75 \pm 34.00 $\mu\text{g/dl}$) menunjukkan nilai yang paling

kecil dibandingkan nilai rerata kadar serum besi pada perlakuan pemberian ferro sulfat dosis 150 mg/hari (785.00±8.16 ug/dl), perlakuan pemberian ferro sulfat dosis 300 mg/hari (828.75±22.86 ug/dl) dan perlakuan pemberian ferro sulfat dosis 600 mg/hari (886.25±33.50 ug/dl). Nilai rerata kadar serum besi pada masing-masing perlakuan menunjukkan peningkatan sejalan dengan meningkatnya dosis ferro sulfat yang diberikan. Meskipun demikian, hasil LSD juga menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan bermakna antara nilai rerata serum besi pada perlakuan pemberian ferro sulfat dosis 150 mg/hari (785.00±8.16 ug/dl) dengan nilai rerata kadar serum besi pada perlakuan pemberian ferro sulfat dosis 300 mg/hari (828.75±22.86 ug/dl)

Perbandingan Nilai Rerata TIBC (µg/dl)

Berdasarkan hasil uji *Anova one way* pada data rerata TIBC diperoleh ada perbedaan yang bermakna rerata pada kelima kelompok perlakuan, hal ini ditunjukkan dengan nilai *p-value* = 0.000. Selanjutnya dilakukan uji perbandingan berganda (*Multiple Comparisons*) dengan uji Beda Nyata Terkecil/BNT (*Least Significant Difference/LSD*) diperoleh hasil secara lengkap pada Tabel 2

Tabel 2 Perbandingan rerata nilai TIBC (µg/dl)

Kelompok pengamatan	n	Rerata ± stan.dev	p-value
Kontrol	4	776.02±48.81 ^a	
P-1 (75 mg/hari)	4	729.98±89.20 ^{ab}	
P-2 (150 mg/hari)	4	658.28±45.61 ^{ab}	0.000
P-3 (300 mg/hari)	4	555.92±55.52 ^c	
P-4 (600 mg/hari)	4	461.12±44.07 ^d	

Sebagaimana telah disebutkan, bahwa peningkatan dosis pemberian suplemen ferro sulfat justru berbanding terbalik dengan nilai rerata TIBC di tiap kelompok perlakuan. Hal ini dapat dilihat dari hasil rerata antar kelompok perlakuan yang diketahui bahwa nilai rerata TIBC pada perlakuan pemberian ferro sulfat dosis 75 mg/hari (733.75±34.00 ug/dl) menunjukkan nilai yang paling tinggi dibandingkan nilai rerata TIBC pada perlakuan pemberian ferro sulfat dosis 150 mg/hari (785.00±8.16 ug/dl), perlakuan pemberian ferro sulfat dosis 300 mg/hari (828.75±22.86 ug/dl) dan

perlakuan pemberian ferro sulfat dosis 600 mg/hari (886.25±33.50 ug/dl). Nilai rerata TIBC pada perlakuan pemberian ferro sulfat dosis 600 mg/hari (886.25±33.50 ug/dl) menempati nilai yang terendah dibandingkan dengan kontrol, maka dapat diartikan bahwa dosis pemberian suplemen ferro sulfat yang semakin meningkat akan berpengaruh terhadap penurunan TIBC, sehingga dapat disimpulkan bahwa peningkatan dosis pemberian suplemen ferro sulfat berbanding terbalik dengan nilai rerata TIBC pada tikus (*Rattus norvegicus*) betina.

Perbandingan Nilai rerata Saturasi Transferrin (%)

Berdasarkan hasil uji *Anova one way* pada data rerata saturasi transferrin diperoleh ada perbedaan yang bermakna rerata pada kelima kelompok perlakuan, hal ini ditunjukkan dengan nilai *p-value* = 0.000. Selanjutnya dilakukan uji perbandingan berganda (*Multiple Comparisons*) dengan uji Beda Nyata Terkecil/BNT (*Least Significant Difference/LSD*) diperoleh hasil pada Tabel 3.

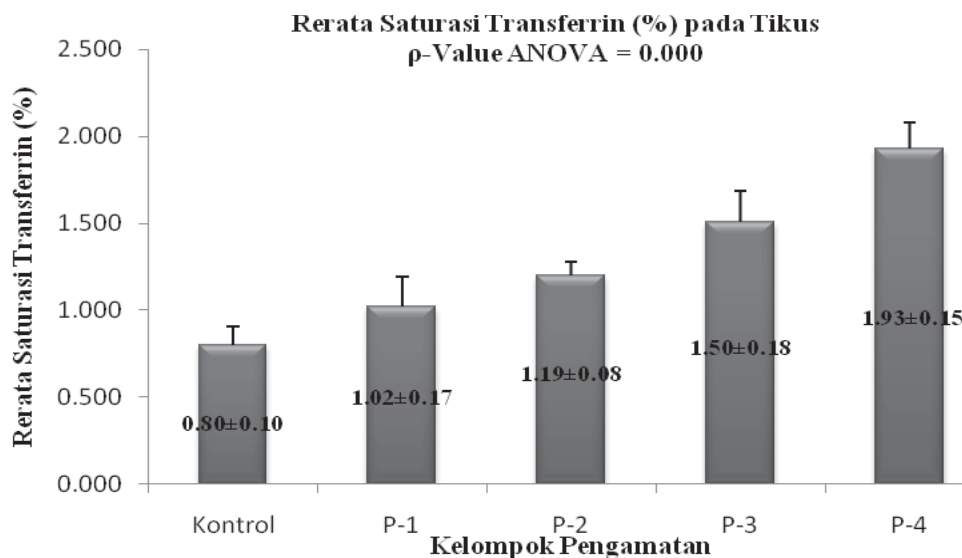
Tabel 3 Perbandingan Saturasi Transferrin (%)

Kelompok pengamatan	n	Rerata ± stan.dev	p-value
Kontrol	4	0.80±0.10 ^a	
P-1 (75 mg/hari)	4	1.02±0.17 ^b	
P-2 (150 mg/hari)	4	1.19±0.08 ^b	0.000
P-3 (300 mg/hari)	4	1.50±0.18 ^c	
P-4 (600 mg/hari)	4	1.93±0.15 ^d	

Tabel 3 menunjukkan bahwa pemberian suplemen ferro sulfat berbagai dosis mulai 75 mg/ hr, 150 mg/hari, 300 mg/hari dan 600 mg/hari berturut-turut akan meningkatkan rerata saturasi transferrin pada tikus (*Rattus norvegicus*) betina. Tampak bahwa nilai rerata saturasi transferrin pada kelompok perlakuan pemberian suplemen ferro sulfat dosis 75 mg/hari (1.02±0.17 %) menunjukkan nilai yang terendah dan mendekati dengan kontrol dibandingkan dengan nilai rerata saturasi transferrin pada kelompok perlakuan pemberian suplemen ferro sulfat dosis 150 mg/hari (1.19±0.08 %) dan kelompok perlakuan pemberian suplemen ferro sulfat dosis 300 mg/hari (1.50±0.18 %). Nilai rerata saturasi transferrin kelompok perlakuan pemberian

suplemen ferro sulfat dosis 600 mg/hari (1.93 ± 0.15 %) menunjukkan nilai yang tertinggi. Hal ini berarti bahwa peningkatan dosis pemberian suplemen ferro sulfat berbanding lurus dengan peningkatan

saturasi transferrin pada tikus (*Rattus norvegicus*) betina, sehingga dapat disimpulkan semakin meningkat dosis pemberian suplemen ferro sulfat maka semakin meningkatkan saturasi transferrin.



Gambar 1 Histogram rerata saturasi transferrin pada tikus p -value (ANOVA) = 0.000

Keterangan : Pada rerata \pm sd jika memuat huruf yang berbeda berarti ada perbedaan yang bermakna (p -value $<$ 0.05) dan jika memuat huruf yang sama berarti tidak ada perbedaan yang bermakna (p -value $>$ 0.05).

Perbandingan Efek Pemberian Suplemen Ferro Sulfat Berbagai Dosis terhadap Nilai Rerata Kadar Serum Hepsidin pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Betina.

Uji *Anova one way* pada data kadar serum hepcidin (HAMP) diperoleh ada perbedaan yang bermakna rerata kadar serum hepcidin keempat kelompok perlakuan dengan nilai p -value = 0.000. Hasil uji perbandingan berganda (*Multiple Comparisons*) dengan uji *LSD* diperoleh hasil sesuai Tabel 4.

Tabel 4 Perbandingan Kadar Serum Hepsidin (HAMP) (ng/ml)

Kelompok pengamatan	n	Rerata \pm stan.dev	p -value
Kontrol	4	315.11 ± 59.14^a	0.000
P-1 (75 mg/hari)	4	425.12 ± 15.40^b	
P-2 (150 mg/hari)	4	499.06 ± 60.61^c	
P-3 (300 mg/hari)	4	611.46 ± 18.97^d	
P-4 (600 mg/hari)	4	773.43 ± 117.36^e	

Perbedaan bermakna tampak pada rerata kadar serum hepcidin antara kelompok perlakuan pemberian suplemen ferro sulfat dosis 75 mg/hari dengan kelompok perlakuan pemberian suplemen ferro sulfat dosis 150 mg/hari. Tampak rerata kadar serum hepcidin pada kelompok perlakuan pemberian suplemen ferro sulfat dosis 150 mg/hari lebih besar dibandingkan dengan rerata kadar serum hepcidin pada kelompok perlakuan pemberian suplemen ferro sulfat dosis 75 mg/hari. Hasil Tabel 4 juga menunjukkan bahwa rerata kadar serum hepcidin pada kelompok perlakuan pemberian suplemen ferro sulfat dosis 300 mg/hari lebih kecil dibandingkan dengan rerata kadar serum hepcidin pada kelompok perlakuan pemberian suplemen ferro sulfat dosis 600 mg/hari. Hal ini dapat dikatakan semakin tinggi dosis suplemen ferro sulfat yang diberikan maka semakin meningkatkan kadar serum hepcidin. Pada Tabel 4.6 tampak rerata kadar serum hepcidin pada kelompok perlakuan perlakuan pemberian

suplemen ferro sulfat dosis 75 menunjukkan nilai yang paling kecil dibandingkan dengan kelompok perlakuan yang lain dan berbeda bermakna secara statistik. Jadi dapat disimpulkan bahwa peningkatan dosis pemberian suplemen ferro sulfat berbanding lurus dengan peningkatan kadar serum hepcidin.

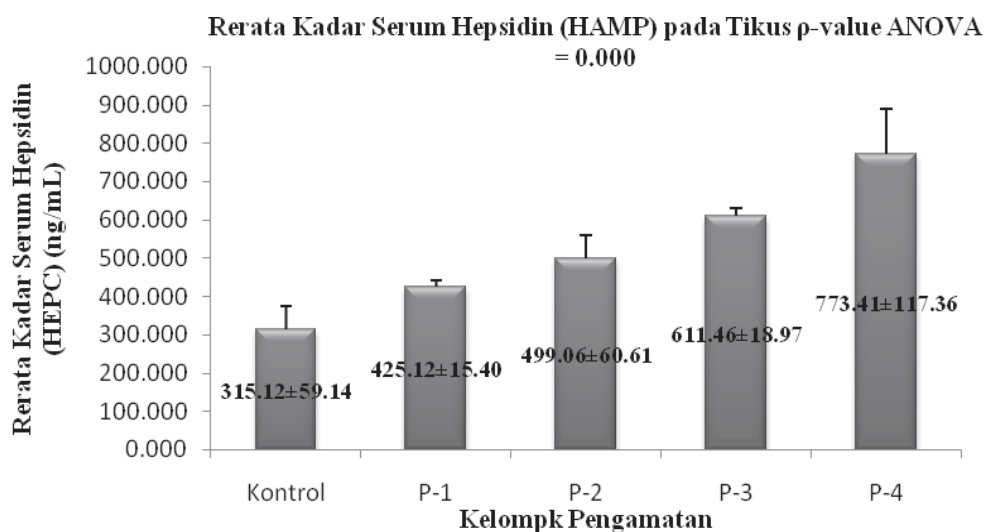
Hubungan antara Saturasi Transferrin dan Kadar Serum Hepcidin pada Tikus Bunting (*Rattus norvegicus*)

Berdasarkan hasil analisis data dari uji korelasi Pearson antara saturasi transferrin dengan kadar

serum hepcidin pada tikus bunting yang mendapat perlakuan pemberian suplemen ferro sulfat yang bermakna secara statistik. Hasil tersebut dijelaskan dan ditunjukkan secara ringkas pada Tabel 5.

Tabel 5 Hasil Uji Korelasi Pada Kelompok Perlakuan

Korelasi variabel	n	Koefisien korelasi (r)	p-value
Sat trans dengan HAMP	16	0.872	0.000



Gambar 2 Histogram rerata kadar serum hepcidin pada tikus p-value (ANOVA) = 0.000

Keterangan : Pada rerata±sd jika memuat huruf yang berbeda berarti ada perbedaan yang bermakna (p-value<0.05) dan jika memuat huruf yang sama berarti tidak ada perbedaan yang bermakna (p-value>0.05.)

Tabel 5 menunjukkan bahwa ada hubungan/ korelasi yang bermakna antara saturasi transferrin dengan kadar serum hepcidin (p-value=0.000) pada kelompok tikus bunting yang mendapat perlakuan pemberian suplemen ferro sulfat, dengan ditunjukkan tingkat keeratan hubungan korelasi yang tinggi/kuat. Hal ini ditunjukkan dengan nilai koefisien korelasi yaitu 0.872. Nilai positif 0.872 menunjukkan ada hubungan yang seiring, yaitu bila terjadi peningkatan pada saturasi transferrin maka akan meningkat pula kadar serum hepcidin, demikian pula sebaliknya, bila terjadi penurunan saturasi transferrin maka akan terjadi pula penurunan kadar serum hepcidin pada tikus

bunting yang mendapat perlakuan pemberian suplemen ferro sulfat.

PEMBAHASAN

Perbandingan Efek Pemberian Suplemen Ferro Sulfat Berbagai Dosis terhadap Nilai Rerata Saturasi Transferrin pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Betina.

Nilai saturasi transferrin diperoleh dari perbandingan antara serum besi (SI) dengan TIBC dikalikan 100%, sehingga guna mengetahui efek pemberian suplemen ferro sulfat berbagai dosis terhadap saturasi transferrin perlu diketahui kadar serum besi dan TIBC terlebih dahulu. Berdasarkan

hasil uji *Anova one way* pada data kadar serum besi dan TIBC diperoleh perbedaan bermakna rerata kadar serum besi dan TIBC pada kelima kelompok pengamatan yang ditunjukkan dengan nilai p -value = 0.000. Hasil analisis LSD pada rerata kadar serum besi menunjukkan bahwa ada perbedaan bermakna pada rerata kadar serum besi dan TIBC antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan pemberian ferro sulfat dosis 75 mg/hari, dosis 150, dosis 300 mg/hari (828.75 ± 22.86 ug/dl) dan dosis 600 mg/hari.

Pada penelitian sebelumnya diketahui bahwa pemberian 2 mg elemen besi telah mampu meningkatkan kadar serum besi pada 24 jam pertama pemberian dan peningkatan ini menetap selama 3 minggu pengamatan¹¹.

Perbandingan terbalik antara kadar serum besi dengan TIBC ditunjukkan dalam penelitian ini, dimana saat kadar serum besi meningkat TIBC menurun. Kadar serum besi dan TIBC digunakan menentukan saturasi transferrin dengan cara membagi kadar serum besi dengan TIBC kemudian dikalikan 100%, sehingga nilai TIBC selalu berbanding terbalik dengan nilai serum besi¹².

Mengacu pada hasil analisis data dari kadar serum besi dan TIBC, maka dilanjutkan analisis data saturasi transferrin. Berdasarkan nilai rerata saturasi transferrin, tampak nilai rerata saturasi transferrin semakin meningkat seiring dengan semakin meningkatnya dosis pemberian suplemen ferro sulfat. Hal ini berarti bahwa peningkatan dosis pemberian suplemen ferro sulfat berbanding lurus dengan peningkatan saturasi transferrin pada tikus (*Rattus norvegicus*) betina, semakin meningkat dosis pemberian suplemen ferro sulfat maka semakin meningkatkan saturasi transferrin, sehingga dapat disimpulkan ada pengaruh perlakuan pemberian suplemen ferro sulfat dosis 75 mg/hari, dosis 150 mg/hari, dosis 300 mg/hari dan dosis 600 mg/hari terhadap saturasi transferrin pada tikus (*Rattus norvegicus*) betina. Hasil saturasi transferrin yang meningkat dengan pemberian suplemen ferro sulfat sesuai dengan penelitian yang menyebutkan bahwa terjadi peningkatan saturasi transferrin 61.5% setelah pemberian suplementasi besi per oral dosis 40 mg elemen besi dan 72.1% dosis 60 mg elemen besi¹³.

Terjadinya tekanan difusi pasif pada pemberian suplementasi oral zat besi mengakibatkan transferin menjadi jenuh dan NTBI beredar dalam plasma, sehingga memicu reaksi stres oksidatif dalam jaringan. Kondisi ini terjadi ketika *up-take* besi dalam tubuh melebihi jumlah normal besi yang diserap tiap harinya, misalkan pada pemberian suplemen besi¹⁴. Hypersaturasi dapat memunculkan NTBI yang akan bereaksi dengan radikal bebas menginduksi terjadinya lipid peroksidasi yang dapat menyebabkan kerusakan sel endothel. NTBI yang muncul karena besi yang berlebih dalam tubuh dapat menghasilkan hidroperoksida lipid di Low Density Lipoprotein (LDL) atau berdifusi ke membran sel endotel, menyebabkan kerusakan peroxidative dan sitotoksitas¹⁵.

Besi bebas disebabkan asupan yang berlebih dapat memicu reaksi oksidasi radikal bebas. Radikal bebas menginduksi oksidatif stress yang berhubungan kuat dengan hiperglikemia. Besi juga dimungkinkan menginduksi resistensi insulin dengan menurunkan kapasitas ekstraksi insulin dalam liver, sehingga mengarah pada penurunan *up-take* glucose oleh sel adiposit dan otot¹⁶.

Hasil penelitian ini menunjukkan pemberian suplemen ferro sulfat dengan dosis kecilpun dapat meningkatkan saturasi transferrin. Sebagaimana dalam penelitian ini, pemberian suplemen ferro sulfat 75 mg/hari atau setara dengan 30 mg elemen besi pada manusia dan 1.35 elemen besi pada tikus, sehingga diperlukan pengawasan dan kebijakan yang tepat dalam pemberian suplemen zat besi.

Perbandingan Efek Pemberian Suplemen Ferro Sulfat Berbagai Dosis terhadap Nilai Rerata Kadar Serum Hepsidin pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Betina.

Berdasarkan hasil uji *Anova one way* pada data kadar serum hepcidin (HAMP) diperoleh ada perbedaan yang bermakna rerata kadar serum hepcidin pada keempat kelompok perlakuan, hal ini ditunjukkan dengan nilai p -value = 0.000. Hasil uji perbandingan berganda dengan uji LSD menunjukkan ada perbedaan yang bermakna rerata kadar serum hepcidin (HAMP) antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan pemberian

suplemen ferro sulfat dosis 75 mg/hari, dosis 150 mg/hari, dosis 300 mg/hari dan dosis 600 mg/hari. Hasil ini dapat diartikan bahwa ada pengaruh peningkatan pemberian dosis suplemen ferro sulfat terhadap kadar serum hepcidin pada tikus (*Rattus norvegicus*) betina, sehingga dapat dikatakan semakin tinggi dosis suplemen ferro sulfat yang diberikan maka semakin meningkatkan kadar serum hepcidin. Tampak dari hasil penelitian ini bahwa nilai rerata serum hepcidin berbanding lurus dengan peningkatan dosis pemberian suplemen ferro sulfat.

Penelitian terdahulu menemukan bahwa terjadi peningkatan kadar hepcidin pada pemberian suplementasi zat besi ferro sulfat per oral yang mengandung 60 mg, 80 mg, 160 dan 240 mg elemen besi¹³. Hepcidin saat ini dianggap sebagai kunci sistem regulasi keseimbangan besi dengan mengatur absorpsi besi melalui intestinal dan daur ulang besi oleh makrofag¹⁷ dengan menurunkan ekspresi eksporter besi di permukaan sel¹⁸. Ekspresi hepcidin menurun ketika kebutuhan besi tubuh meningkat¹⁹, sebaliknya meningkat ketika kadar besi dalam tubuh tercukupi²⁰. Peningkatan ekspresi hepcidin dikarenakan konsentrasi Tf-Fe₂ (Transferrin differic) tinggi menandakan kadar serum besi dan simpanan besi di hati yang berlebih^{10,21,22,23,24}.

Dalam penelitian ini terlihat bahwa suplementasi Fe dengan dosis 75 mg/hari (15 elemen besi pada manusia atau 1.35 elemen besi pada tikus), 150 mg/hari (30 elemen besi pada manusia atau 2.7 elemen besi pada tikus), 300 mg/hari (60 elemen besi pada manusia atau 5.4 elemen besi pada tikus), dan 600 mg/hari (120 elemen besi pada manusia atau 10.8 elemen besi pada tikus) meningkatkan kadar serum hepcidin melalui mekanisme peningkatan saturasi transferrin yang diinduksi dengan meningkatnya kadar serum besi dan penurunan TIBC dalam tubuh. Hasil penelitian ini kembali menunjukkan perlu perhatian dalam pemberian suplemen ferro sulfat dan mendukung hasil penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa pemberian suplemen besi perlu memperhatikan kadar hepcidin dalam tubuh. Suplemen zat besi mengandung 30 atau 60 mg elemen besi bisa diberikan ketika kadar hepcidin dalam tubuh < 2.5 ng/ml²⁵, dalam penelitian tersebut

juga disampaikan bahwa rekomendasi ini diberikan untuk tujuan keamanan dalam konsumsi zat besi. Pada suatu penelitian diketahui bahwa pengikatan besi oleh transferrin pada dua situs pengikatannya atau dikenal dengan transferrin differic saat kadar besi dalam tubuh meningkat dapat dijadikan untuk menjelaskan alasan peningkatan kejadian diabetes tipe 2, karena tingginya kadar transferrin differic mengakibatkan terjadinya defisiensi chromium yang merupakan element penting untuk peningkatan sensitifitas insulin²⁶.

Hubungan antara Saturasi Transferrin dan Kadar Serum Hepcidin pada Tikus Bunting (*Rattus norvegicus*)

Berdasarkan analisis *Pearson Product Moment* diketahui ada hubungan/korelasi yang bermakna antara saturasi transferrin dengan kadar serum hepcidin (p-value=0.000) pada kelompok tikus bunting yang mendapat perlakuan pemberian suplemen ferro sulfat dosis 75 mg/hari, 150 mg/hari, 300 mg/hari dan 600 mg/hari, dengan ditunjukkan tingkat keeratan hubungan korelasi yang tinggi/kuat. Berdasarkan nilai koefisien korelasi yaitu 0.872. Arah hubungan yang positif menunjukkan ada hubungan yang seiring, yaitu bila terjadi peningkatan pada saturasi transferrin maka akan meningkat pula kadar serum hepcidin, demikian pula sebaliknya, bila terjadi penurunan saturasi transferrin maka akan terjadi pula penurunan kadar serum hepcidin pada tikus bunting yang mendapat perlakuan pemberian suplemen ferro sulfat.

Peningkatan saturasi transferrin dalam plasma menjadi sinyal utama rilisnya hepcidin²⁷. Konsentrasi transferin diferric tinggi yang mengartikan kadar besi dalam serum tinggi. Kondisi ini dapat meningkatkan ekspresi hepcidin^{10,21,22,23,24}. Dalam sebuah penelitian menyebutkan terjadi peningkatan sintesis hepcidin setelah 12 jam pemberian ferro sulfat dengan 65 mg elemen besi yang sebelumnya diawali dengan peningkatan saturasi transferrin sejak 5 jam pemberian ferro sulfat²⁸. Tingkat Tf-Fe₂ akan meningkat dengan kadar besi yang meningkat dan menurun dalam kondisi kekurangan zat besi, dan korelasi positif antara konsentrasi ekspresi Tf-Fe₂ dan hepcidin telah dibuktikan^{10,20,22,23,30,31,32,33}.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Kesimpulan dalam penelitian ini adalah :

1. Semakin tinggi dosis pemberian suplemen ferro sulfat semakin meningkatkan saturasi transferrin dan kadar serum hepsidin pada tikus (*Rattus norveicus*) betina.
2. Terdapat hubungan antara saturasi transferrin dengan kadar serum hepsidin pada tikus (*Rattus norveicus*) betina yang diberi suplemen ferro sulfat dosis 75 mg/hari, 150 mg/hari, 300 mg/hari dan 120 mg/hari.

Saran

Saran dalam penelitian ini meliputi:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut guna mengetahui pengaruh pemberian suplemen ferro sulfat berbagai dosis terhadap parameter regulasi keseimbangan besi yang lain.
2. Perlu penelitian lanjutan untuk melihat efek pemberian suplemen ferro sulfat berbagai dosis pada parameter lain, misalkan pada imun sistem dan parameter stress oksidatif

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih peneliti sampaikan kepada Kopertis wilayah 5 DIY yang telah memberikan *support* dan dukungan dana sehingga penelitian ini dapat terselesaikan sesuai jadwal dan kepada semua pihak yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. World Health Organization (2002) The World Health Report 2002: Reducing risks, promoting healthy life. http://www.who.int/whr/2002/en/whr02_en.pdf (accessed April 2007).
2. McLean, E. Cogswell, M. Egli, I. Wojdyla, D. de Benoist, B. 2009. Worldwide Prevalence Of Anaemia, Who Vitamin And Mineral Nutrition Information System, 1993–2005. *Public Health Nutrition*. 12, 444–454.
3. Kemenkes RI. 2007. PEDOMAN OPERASIONAL KELUARGA SADAR GIZI DI DESA SIAGA.
4. Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) 2004 vol 2 : Status Kesehatan Masyarakat Indonesia.
5. Sadeghian, M. Fatourehchi, A. Ahmadnezhad, E. 2013. Prevalence of Anemia and Correlated Factor in the Reproductive Age Woman in Rural Area of Tabas. *Journal of Family and Reproductive Health*;7 (3): 139-144.
6. Kemenkes R1. 2014. PERATURAN MENTERI KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA NOMOR 88 TAHUN 2014 TENTANG STANDAR TABLET TAMBAH DARAH BAGI WANITA USIA SUBUR DAN IBU HAMIL.
7. Galaris, D and Pantopoulos, K. 2008. Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences, 45(1):1–23 (2008). Oxidative Stress And Iron Homeostasis: Mechanistic and Health Aspects Copyright C _ Informa Health Care USA, Inc. ISSN: 1040-8363 print / 1549-781X online. DOI: 10.1080/10408360701713104
8. Steinbicker, AU and Muckenthaler, MU. 2013. Review Out of Balance—Systemic Iron Homeostasis in Iron-Related Disorders. *Nutrients* 5, 3034-3061. nutrients.
9. Geisser, P and Burckhardt, S. 2011. The Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Iron Preparations. *Pharmaceutics* 3, 12-33.
10. Ganz, T. Nemeth, E. 2012. Hepsidin and iron homeostasis. *Biochimica et Biophysica Acta* 1823 1434–1443.
11. Corradini, E. Meynard, D. Wu, Q. Chen, S. Ventura, P. Pietrangelo, A and Babitt, JL. 2011. Serum and liver iron differently regulate the bone morphogenetic protein 6 (BMP6)-SMAD signaling pathway in mice. *Hepatology*. 54(1): 273–284.

12. Mazza, J. 2002. *Manual of Clinical Hematology*. 3th edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
13. Moretti, D. Goede, JS. Zeder, C. Jiskra, M. Chatzinakou, V. Tjalsma, H. Melse-Boonstra, A. Brittenham, G. Swinkels, DW and Zimmermann, MB. 2015. Oral Iron Supplements Increase Heparin And Decrease Iron Absorption From Daily Or Twice-Daily Doses In Iron-Depleted Young Women. *Blood*. 126(17):1981-1989.
14. Geisser, P and Burckhardt, S. 2011. The Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Iron Preparations. *Pharmaceutics* 3, 12-33.
15. Rayman MP, Barlis J, Evans RW, Redman CW, King LJ. 2002. Abnormal iron parameters in the pregnancy syndrome preeclampsia. *American Journal Obstetric Gynecology* vol:187:412-8.
16. Rajpathak, S. Crandall, J. Wylie-Rosett, J. Kabat, G. Rohan, T. Hu, F. 2009. The role of iron in type 2 diabetes in humans. *Biochem Biophys Acta* 1790:671-81.
17. Taija, S. Frank, K. Weiss, G. Koppenol, WH. Burckhardt, S. 2013 The Complex Interplay Of Iron Metabolism, Reactive Oxygen Species, And Reactive Nitrogen Species: Insights Into The Potential Of Various Iron Therapies To Induce Oxidative And Nitrosative Stress. *Free Radical Biology and Medicine* 65. 1174-1194.
18. Nemeth, E. Tuttle, MS. Powelson, J. Vaughn, MB. Donovan, A. Ward, DM. Ganz, T. Kaplan, J. 2004. Heparin Regulates Cellular Iron Efflux By Binding To Ferroportin And Inducing Its Internalization. *Science*. 306:2090-3.
19. Franchini, M. Montagnana, M. Lippi, G. 2010. Heparin and Iron Metabolism: From Laboratory to Clinical Implications. *Clinica Chimica Acta* 411 1565-1569.
20. Collinss, JF and Anderson, JG. 2012. *Molecular Mechanisms of Intestinal Iron Transport in Physiology of the Gastrointestinal Tract-Digestion and Absorption* Chapter 71. 5th Ed. Vol 2. Elsevier Inc.
21. Weng, IL and Lönnerdal, B. 2004. Heparin, the Recently Identified Peptide that Appears to Regulate Iron Absorption. *The Journal of Nutrition* 0022-3166/04.
22. Collinss, JF. Marianne, WR and Knutson, MD. 2008. Heparin Regulation of Iron Transport. *The Journal of Nutrition* 0022-3166/08.
23. Ganz, T. 2011. Heparin and Iron Regulation, 10 years later. *BLOOD* vol 117.
24. Singh, B. Arora, S. Agrawal, P. Gupta, S.K. 2011. Heparin: A Novel Peptide Hormone Regulating Iron Metabolism. *Clinica Chimica Acta* 412 823-830.
25. Bah, A. Wegmuller, R. Cerami, C. Kendall, L. Pasricha, SR. Moore, SE. and Prentice, AM. 2016. A Double Blind Randomised Controlled Trial Comparing Standard Dose Of Iron Supplementation For Pregnant Women With Two Screen-And-Treat Approaches Using Heparin As A Biomarker For Ready And Safe To Receive Iron. *BioMed Central Pregnancy and Childbirth* 16:157.
26. Zein, S. Rachidi, S. Hininger-Favier, I. 2014. Is Oxidative Stress Induced By Iron Status Associated With Gestational Diabetes Mellitus?. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 28: 65- 69.
27. Brissot, P. Ropert, M. Caroline, LL. Loréal, O. 2011. Non-Transferrin Bound Iron: A Key Role In Iron Overload And Iron Toxicity. *Biochimica et Biophysica Acta* 1820 403-410.
28. Lin, L. Valore, EV. Nemeth, E. Goodnough, JB. Gabayan, V. Ganz, T. 2007. Iron Transferrin Regulates Heparin Synthesis In Primary Hepatocyte Culture Through Hemojuvelin And BMP2/4. *Blood*. 110(6):2182-2189.
29. Hentze, MW. Muckenthaler, MU. Galy, B. Camaschella, C. 2010. Two to Tango: Regulation of Mammalian Iron Metabolism. *Journal cell*. 06.028.
30. Gkouvatsos, K. Papanikolaou, G. Pantopoulos, K. 2012. Regulation of iron transport and the

- role of transferrin. *Biochimica et Biophysica Acta* 1820 188–202.
31. Ganz. 2013. Systemic Iron Homeostasis. *Physiol Rev* 93: 1721–1741.
32. Rishi,G. Wallace, DF and Subramaniam, VN. 2015. Heparin: Regulation Of The Master Iron Regulator. *Bioscience Reports*, vol. 35, no. 3, Article ID e00192.