PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI ASAM SITRAT BERSAMAAN DENGAN FERROSULFAT DAN ASAM ASKORBAT TERHADAP STATUS BESI MENCIT PUTIH (*Mus Musculus*) JANTAN STRAIN SWISS YANG MENGALAMI DEFISIENSI BESI

Tesis

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk mendapatkan gelar Magister Biomedik pada Program Pascasarjana Ilmu Biomedik Universitas Andalas

Oleh:

HENDRAWATI
06212007

DEPARTEMEN PENDIDIKAN NASIONAL
UNIVERSITAS ANDALAS
UPT PERPUSTAKAAN

PROGRAM PASCASARJANA ILMU BIOMEDIK
UNIVERSITAS ANDALAS PADANG
TAHUN 2009

Pengaruh pemberian kombinasi asam sitrat bersamaan dengan ferrosulfat dan asam askorbat terhadap status besi mencit putih (*mus musculus*) jantan strain Swiss yang mengalami defisiensi besi

oleh: Hendrawati

(Dibawah bimbingan Hafni Bachtiar dan Eliza Anas)

RINGKASAN

Asam sitrat, memiliki kemampuan untuk dapat meningkatkan absorbsi zat besi dengan membentuk kompleks dengan zat besi. Asam askorbat merupakan salah satu faktor pemacu absorbsi zat besi yang paling kuat. Asam askorbat bekerja dengan meningkatkan kelarutan zat besi dengan mengkonversi zat besi dalam bentuk ferri menjadi bentuk ferro, dan dapat membentuk kompleks askorbat-besi yang larut, sehingga zat besi mudah diabsorbsi ke dalam usus. Asam sitrat dapat bekerja sinergis dengan asam askorbat dalam meningkatkan absorbsi zat besi ke dalam usus. Penambahan asam askorbat dan asam sitrat akan meningkatkan absorbsi zat besi ke dalam tubuh. Dengan meningkatnya absorbsi zat besi, sintesis apotransferin meningkat, sehingga jumlah zat besi yang diikat apotransferin makin banyak. Ikatan apotransferin dan zat besi membentuk transferin. Transferin akan membawa zat besi dalam plasma menuju eritroblas dalam sumsum tulang untuk pembentukan hemoglobin.

Tujuan penelitian: 1) Mengetahui pengaruh pemberian kombinasi asam sitrat bersamaan dengan ferro sulfat dan asam askorbat terhadap kadar hemoglobin mencit putih (*mus musculus*) jantan strain Swiss yang mengalami defisiensi besi. 2)Mengetahui pengaruh pemberian kombinasi asam sitrat bersamaan dengan ferro sulfat dan asam askorbat terhadap kadar *serum iron* mencit putih (*mus musculus*) jantan strain Swiss yang mengalami defisiensi besi. 3) Mengetahui pengaruh pemberian kombinasi asam sitrat bersamaan dengan ferro sulfat dan asam askorbat terhadap kadar *total iron binding capacity* mencit putih (*mus musculus*) jantan strain Swiss yang mengalami defisiensi besi. 4) Mengetahui pengaruh pemberian kombinasi asam sitrat bersamaan dengan ferro sulfat dan asam askorbat terhadap kadar saturasi transferin mencit putih (*mus musculus*) jantan strain Swiss yang mengalami defisiensi besi.

BAB I
PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Zat besi merupakan elemen nutrisi yang penting dalam kehidupan manusia, terutama untuk pembentukan eritrosit dan berbagai proses metabolisme tubuh termasuk transpor oksigen, sintesis DNA dan transpor elektron (Mahoney, 2001). Kebutuhan zat besi terbesar adalah selama dua tahun pertama kehidupan, selama masa pertumbuhan yang cepat dan kenaikan hemoglobin diusia remaja, serta masa kehamilan.

Zat besi penting untuk eritropoeisis, karena empat gugus hem yang terikat pada empat rantai polipeptida yang sangat berlipat-lipat dalam satu molekul hemoglobin membutuhkan zat besi. Setiap atom besi berikatan secara reversibel dengan satu molekul O_2, dengan demikian setiap molekul hemoglobin dapat mengangkut empat penumpang O_2, jika besi yang tersedia tidak mencukupi untuk sintesis hemoglobin karena defisiensi besi, maka eritropoeis tetap diproduksi dalam jumlah yang biasa, tapi kandungan hemoglobinnya lebih rendah dari normal, berukuran lebih kecil dari biasa dan kurang mampu mengangkut O_2. Keadaan inilah yang disebut anemia defisiensi besi (Sherwood L, 2001 ; Bakta, 2007).

Anemia defisiensi besi sering disebut juga anemia gizi besi (*iron deficiency anemia*). Prevalensi anemia gizi di Indonesia cukup tinggi, separuh penduduk Indonesia adalah penderita anemia seperti diungkap oleh Benny A. Kodyat dkk pada Widyakarya Pangan dan Gizi ke VI tahun 1998, diperkirakan tidak kurang dari 100 juta rakyat Indonesia menderita anemia, kira-kira separuhnya adalah

anak-anak dan remaja, persentase terbanyak adalah remaja wanita sebesar 57,1% untuk kelompok umur 10 – 14 tahun (Kodyat, 1999).

Bank Dunia 2006 menemukan bahwa 30% masyarakat di negara berkembang defisiensi gizi mikro (40% masyarakat mengalami defisiensi besi dan lebih dari 40% anak-anak mengalami defisiensi vitamin A). (Depkes, 2000) Diperkirakan 30% penduduk dunia menderita anemia dan lebih dari 50% penderita ini adalah anemia defisiensi besi dan terutama mengenai bayi, anak sekolah, ibu hamil dan menyusui. (Wirakusumah ES, 1999). Di Indonesia prevalensi anemia defesiensi besi masih tinggi. Pada Profil Kesehatan Indonesia 2000 didapatkan prevalensi anemia defisiensi besi sebesar 40,5% pada balita, 47,2% pada anak usia sekolah dan 51,5% pada anak usia 10-14 tahun (Depkes, 2000), ibu hamil sekitar 50,9%, balita 55,5%, wanita dewasa 30-40% dan anak usia 6 bulan-12 tahun sekitar 24-35% (Wirakusumah ES, 1999).

Kondisi lebih mencemaskan karena angka-angka prevalensi diatas hampir tidak banyak berubah sampai sepuluh tahun kemudian, karena studi-studi setelah itu, yaitu tahun 2000an memperlihatkan kecenderungan yang demikian. Dari Survei Kesehatan Rumah Tangga 2001, anak usia sekolah dan remaja sekitar 26.5 %, wanita usia subur berkisar sekitar 40 %. Prevalensi yang relatif sama ditemukan pula pada survei Pemantauan Status Gizi di Sumatera Barat, tahun 2004, yang memperlihatkan bahwa prevalensi anemia pada pada remaja cukup tinggi (PSG, 2004).

Upaya prevensi belum diprogramkan secara menyeluruh, baru diberikan suplemen preparat Ferrosulfat kepada ibu hamil yang memeriksakan diri ke Puskesmas, rumah sakit dan dokter (Sediaoetama, 2000). Upaya lain yang

dilakukan, tapi belum diprogramkan oleh pemerintah adalah pemberian ferrosulfat untuk remaja putri, wanita usia subur dan anak sekolah. Upaya ini dilakukan terbatas pada upaya oleh kelompok-kelompok pemerhati gizi besi seperti yang dilakukan oleh Pusat Penelitian dan Pengembangan Gizi (P3G) Bogor, dengan pemberian zat besi berupa garam besi yaitu ferro sulfat ($FeSO_4$) sebanyak 500 mg. Pemberian dilakukan 1 (satu) minggu sekali dan mampu meningkatkan kadar Hb diatas 11 %, sementara itu Angeles, 2007 melalui disertasinya mengungkapkan bahwa suplementasi kombinasi besi, vitamin A, asam folat, dan vitamin C selama 8 minggu meningkatkan secara bermakna kadar hemoglobin, feritin plasma, retinol plasma, tinggi badan dan skor prestasi sekolah remaja putri (Angeles, 2007).

Skrining untuk menegakkan diagnosis anemia defisiensi besi sering dilakukan pada praktek klinik, tapi pemeriksaan defisiensi besi belum rutin dianjurkan, karena diagnosis selama ini ditegakkan dengan berbagai pemeriksaan biokimia darah yang harganya relatif mahal. Berbagai pemeriksaan yang termasuk didalamnya, antara lain pemeriksaan kadar besi serum (*Serum Iron*/SI), *Total Iron Binding Capacity*/TIBC, saturasi transferin, feritin serum, reseptor transferin/ TfR, ZPP (*Zinc Protophorphyrin*, *Free Eritrocyte Protophorphyrin* (FPP), kadar hemoglobin retikulosit dan lain sebagainya (Brugnara CA, 2002; Thomas C and Thomas L, 2002)

Didalam tubuh, jumlah seluruh zat besi diperkirakan 3,5 gram. Dari jumlah itu sekitar 70%nya dijumpai dalam hemoglobin dan 25%nya merupakan cadangan besi yang terdiri dari feritin dan hemosiderin, dijumpai dalam hati, limfa dan

sumsum tulang, 3% dalam mioglobin (Ganong, 2008) dan unsur besi lainnya walaupun sangat kecil tapi memiliki fungsi yang demikian pentingnya dalam berbagai enzim oksidatif, antara lain *katalase*, mitokondria, sitokrom, dan flavoprotein (Kartasapoetra, 2003).

Zat besi terdapat dalam bahan makanan yang berasal dari hewan maupun tumbuhan, dimana selain mengandung zat besi makanan tersebut juga mengandung komponen-komponen penghambat maupun pemacu absorbsi zat besi. Bahan pangan terutama pangan nabati banyak mengandung komponen-komponen penghambat absorbsi zat besi seperti senyawa polyfenol dan asam fitat. Senyawa-senyawa ini dapat mengikat zat besi sehingga zat besi tidak dapat diabsorbsi. Sedangkan komponen seperti asam askorbat dan protein dapat meningkatkan absorbsi zat besi ke dalam tubuh (Beck, 1993; Hallberg, *et all*, 1994).

Zat besi tanpa hem dari tumbuh-tumbuhan akan diserap lebih baik jika dimakan bersamaan dengan makanan yang mengandung asam askorbat, karena asam askorbat meningkatkan penyerapan zat gizi, sebaliknya kopi dan teh menghalangi penyerapan zat besi (Moore, 1997).

Pengeluaran zat besi umumnya tidak diatur, dan total persediaan besi tubuh diatur oleh perubahan kecepatan penyerapan di usus. Sebagian besar besi dalam makanan berada dalam bentuk ferri (Fe^{3+}), sementara penyerapan besi terjadi hanya untuk besi bentuk ferro (Fe^{2+}). Aktifitas Fe^{3+} *reduktase* berhubungan dengan transpor besi di *brush border* eritrosit. Sangat sedikit besi yang diserap dilambung, tapi sekresi lambung melarutkan besi dan memungkinkan besi

membentuk komplek larut dengan asam askorbat dan zat lain yang membantu reduksinya menjadi Fe^{2+} (Ganong, 2008).

Besi yang berbentuk ferri dengan peranan dari getah lambung (HCl) direduksi menjadi bentuk ferro yang lebih mudah diserap oleh sel mukosa usus, termasuk adanya asam askorbat yang membantu proses reduksi tersebut. Besi dalam ikatan ferro didalam mukosa dioksidasi menjadi ferri, dengan demikian terjadi penyatuan diantara ferri dan ferro, yang bergabung dengan apoferitin membentuk protein yang mengandung besi, yaitu feritin, yang selanjutnya melalui beberapa proses lain dapat masuk kedalam plasma darah (Kartasapoetra, 2003).

Asam askorbat merupakan salah satu faktor pemacu absorbsi zat besi yang paling kuat. Asam askorbat bekerja dengan meningkatkan kelarutan zat besi dengan mengkonversi zat besi dalam bentuk ferri menjadi bentuk ferro, dan dapat membentuk kompleks askorbat-besi yang larut, sehingga zat besi mudah diabsorbsi ke dalam usus (Hallberg, *et all*, 1994; Crawford, 1995; Bender, 1997).

Asam askorbat berperan penting dalam meningkatkan absorbsi zat besi terutama pada permukaan sel mukosa usus dengan mereduksi zat besi dari bentuk ferri menjadi ferro dan mempertahankan zat besi tetap dalam keadaan terlarut ketika dalam lumen terjadi peningkatan pH dari lambung masuk ke duodenum (Hallberg, 1994; Bender 1997).

Selain asam askorbat, senyawa organik yang lain misalnya asam sitrat, memiliki kemampuan untuk dapat meningkatkan absorbsi zat besi dengan membentuk kompleks dengan zat besi. Asam sitrat dapat bekerja sinergis dengan asam askorbat dalam meningkatkan absorbsi zat besi ke dalam usus (Crawford, 1995). Asam sitrat bila digunakan sendiri mempunyai efek antioksidan relatif

kecil (Grosch, 1987), apabila bersamaan dengan asam askorbat dalam lumen mukosa usus maka kedua senyawa ini dapat bekerja sinergis untuk meningkatkan absorbsi zat besi ke dalam tubuh (Crawford, 1995).

Penambahan asam askorbat dan asam sitrat akan meningkatkan absorbsi zat besi ke dalam tubuh. Dengan meningkatnya absorbsi zat besi, sintesis apotransferin meningkat, sehingga jumlah zat besi yang diikat apotransferin makin banyak (Guyton, 1991). Ikatan apotransferin dan zat besi membentuk transferin. Transferin akan membawa zat besi dalam plasma menuju eritroblas dalam sumsum tulang untuk pembentukan hemoglobin (Fairbanks & Beutler, 1995).

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, perlu dilakukan penelitian lanjutan tentang penggunaan kombinasi asam sitrat bersamaan dengan ferro sulfat dan asam askorbat, agar ditemukan dosis yang paling berpengaruh untuk penggabungan ferro sulfat, asam askorbat dan asam sitrat dengan berbagai dosis sehingga didapatkan cara yang lebih efektif dalam menanggulangi masalah defisiensi besi yang terjadi pada masyarakat.

Pada penelitian ini dirumuskan apakah terdapat pengaruh pemberian kombinasi asam sitrat bersamaan dengan fero sulfat dan asam askorbat terhadap status besi mencit putih (*mus musculus*) jantan strain Swiss yang mengalami defisiensi besi.

BAB VI
KESIMPULAN

6.1 Kesimpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan yaitu pemberian kombinasi asam sitrat bersamaan dengan ferrosulfat dan asam askorbat pada mencit putih (*mus musculus*) jantan strain Swiss yang mengalami defisiensi besi dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

a. Diperoleh hasil yang signifikan pengaruh pemberian kombinasi asam sitrat bersamaan dengan ferosulfat dan asam askorbat, antara kelompok kontrol dan seluruh kelompok perlakuan terhadap status besi mencit putih (*mus* musculus) jantan yang diukur melalui kadar hemoglobin. Didapat dosis yang paling berpengaruh adalah pemberian 0.78 asam sitrat bersamaan dengan ferosulfat dan asam askorbat

b. Tidak terdapat pengaruh yang signifikan pemberian kombinasi asam sitrat bersamaan dengan ferosulfat dan asam askorbat antara kelompok kontrol dan seluruh kelompok perlakuan terhadap status besi mencit putih (*mus* musculus) jantan yang diukur melalui kadar *serum iron.*

c. Diperoleh hasil yang signifikan pengaruh pemberian kombinasi asam sitrat bersamaan dengan ferosulfat dan asam askorbat antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan terhadap status besi mencit putih (*mus* musculus) jantan yang diukur melalui kadar *total iron binding capacity.* Didapat dosis yang paling berpengaruh adalah pemberian 0.78 asam sitrat bersamaan dengan ferosulfat dan asam askorbat

d. Diperoleh hasil yang signifikan pengaruh pemberian kombinasi asam sitrat bersamaan dengan ferosulfat dan asam askorbat antara kelompok kontrol dan

kelompok perlakuan terhadap status besi mencit putih (*mus* musculus) jantan yang diukur melalui kadar saturasi transferin. Didapat dosis yang paling berpengaruh adalah pemberian 0.78 asam sitrat bersamaan dengan ferosulfat dan asam askorbat

6.2 Keterbatasan Penelitian

Penelitian ini menggunakan mencit sebagai hewan percobaan, pada awal penelitian diperkirakan jumlah darah mencit mencukupi untuk keempat pemeriksaan status besi, tapi pada pelaksanaan penelitian darah yang didapat tidak mencukupi untuk pemeriksaan tersebut, pada pemeriksaan *serum iron* serum yang didapat sedikit, serum kemudian diencerkan, ada kemungkinan hasil pemeriksaan kurang akurat bagi sampel yang kurang mencukupi, kemungkinan tersebut dapat juga terjadi pada sebagian hasil pemeriksaan hemoglobin. Penelitan selanjutnya diharapkan menggunakan hewan yang lebih besar, apabila memakai parameter status besi yang sama.

Dalam menentukan mencit defisiensi besi, sebaiknya keseluruhan dari mencit yang dijadikan sampel telah mengalami defisiensi besi, sehingga kemungkinan mencit yang masih memiliki status besi normal dapat ditiadakan sebelum perlakuan diberikan. Pada penelitian ini, hanya 83.3% dari mencit yang dijadikan sampel pemeriksaan awal mengalami defisiensi besi.

Penelitian ini juga tidak menggunakan kelompok tanpa perlakuan, sehingga penelitian ini hanya bisa membandingkan hasil antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan, serta antara kelompok defisiensi besi dengan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

DAFTAR PUSTAKA

Admi. *Pengaruh Suplementasi Fe Terhadap Prestasi Balajar Anak Sekolah Dasar di Kecamatan Indrajaya. Kabupaten Pidi Nanggro Aceh Darussalam.* Tesis. PSIKM. UGM. Yogyakarta. 2004

Adamson JW. 2001. *Iron Deficiency and Other Hypoproliverative Anemias.* In: Braunwald E, Fauci As, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, editors. *Harrison's principles of Internal Medicine.* 15th ed. New York: McGraw-Hill; 2001.p.660-5

Agus Z. 2002. *Anemia Gizi Besi pada Wanita Usia Subur dan Program Penanggulangannya.* FK Unand. Tidak dipublikasi.

Almatsier S. 2004. *Penuntun Diet.* Penerbit PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.

Almatsier S. 2006. *Prinsip Dasar Ilmu Gizi.* Penerbit PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.

Almasyhuri . 1998 . *Survey Tingkat Prevalensi Anemia pada Ibu Hamil* . Penelitian Gizi dan Makanan . Jilid 21 : 15

Alpers dkk, 2001. *Manual of Nutritional Therapeutics,* 4th edition. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia

Andrews NC. 1999. *Disorders of Iron Metabolism.* Nutr. J. Med. 1999; 341 (26)

Angeles, Imelda T, 2007. *Daily Versus Weekly Supplementation With Iron, Vitamin A, Folic Acid And Vitamin C To Improve Iron And Vitamin A Status Of Female Adolescents.* Disertasi S3. FKUI. Jakarta

Arisman, 2004. *Gizi dalam Daur Kehidupan : Anemia Defisiensi Zat Besi. EGC. Jakarta*

Arlinda SW. 2004. *Anemia Defisiensi Besi.* Kedokteran Komunitas USU. Medan. http://www.usudigitallibrary

Aru WS, Bambang S. 2007. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam.* Penerbit FKUI. Jakarta

Aryati Abdullah. 2002. *The Influence of Ferro Sulfat , Ascorbic Acid and citric acid Combination orally on Iron Status in Rats Having Iron Deficiency.* JBP Vol 4 No 2.

Azwar S. 1999. *Pengantar Psikologi Pendidikan.* Pustaka Pelajar. Yogyakarta.

Bakta IM. 1993. *Infeksi Cacing Tambang pada Orang Dewasa dan Perannya sebagai Salah Satu Penyebab Defisiensi Besi.* Disertasi. Program Pascasarjana Univarsitaas Airlangga. Surabaya

Bakta IM ., 2007. *Hematologi Klinik Ringkas.* Jakarta : EGC.

Bambang P, 2006. *Hematologi. Onkologi Anak.* Penerbit IDAI. Jakarta.

Beck ME. 1993. *Nutrition and Dietetics for Nurse.* Penerjemah Anton Hartono. Yayasan Eseential Medica.