

Tesis

**Hubungan Hepsidin Dengan Feritin Serum Pasien
Anemia Defisiensi Besi Pada Penyakit Ginjal Kronik**



TEDDY

**PENDIDIKAN PROFESI DOKTER SPESIALIS I
BAGIAN ILMU PENYAKIT DALAM
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS ANDALAS
BLU RSUP dr. M. DJAMIL PADANG**

2011

Hubungan Hcpidin Dengan Feritin Serum Pasien Anemia Defisiensi Besi Pada Penyakit Ginjal Kronik

Oleh

TEDDY

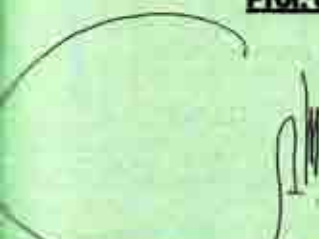
Tesis ini untuk memenuhi salah satu syarat
guna memperoleh gelar Spesialis Ilmu Penyakit Dalam
Pada Program Pendidikan Dokter Spesialis I

Disetujui oleh



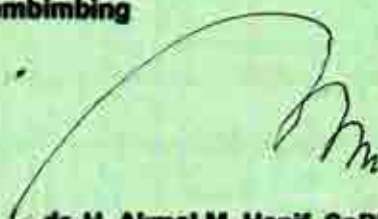
Prof. dr. H. Nusiwan Acang, DTM&H, SpPD, KHOM, FINASIM

Pembimbing



dr. H. Irza Wahid, SpPD, KHOM

Pembimbing



dr. H. Akmal M. Hanif, SpPD, MARS

Pembimbing

Menyetujui



Prof. Dr. dr. H. Asman Manaf, SpPD, KEMD

KPS PPDS Ilmu Penyakit Dalam
Fakultas Kedokteran Universitas Andalas



dr. H. Akmal M. Hanif, SpPD, MARS

Kepala Bagian / SMF Ilmu Penyakit Dalam
Fakultas Kedokteran Universitas Andalas/
BLU RSUP dr. M. Djamil Padang

KATA PENGANTAR

Dengan mengucapkan puji dan syukur kehadirat Allah SWT yang telah memberikan hidayah yang tidak ternilai harganya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan tesis ini. Tesis ini dibuat untuk memenuhi persyaratan dalam menyelesaikan pendidikan keahlian Ilmu Penyakit Dalam di Fakultas Kedokteran Universitas Andalas/ BLU RSUP dr. M. Djamil Padang. Tesis ini berjudul **"HUBUNGAN HEPCIDIN DENGAN FERITIN SERUM PASIEN ANEMIA DEFISIENSI PADA PENYAKIT GINJAL KRONIK"**.

Pada kesempatan ini izinkanlah penulis mengucapkan terima kasih yang tulus dan sedalam-dalamnya kepada :

1. Prof. dr. H. Nusirwan Acang, DTM&H, SpPD, KHOM, FINASIM, dr. H. Irza Wahid, SpPD, KHOM, dr. H. Akmal M. Hanif, SpPD, MARS sebagai pembimbing yang telah banyak meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan baik selama persiapan, pelaksanaan hingga penyusunan tesis ini.
2. Prof. dr. H. Hanif, SpPD, KHOM sebagai sesepuh Bagian Ilmu Penyakit Dalam FK Unand yang tetap perhatian terhadap pendidikan dan residen PPDS 1 Ilmu Penyakit Dalam FK Unand.
3. Prof. Dr. dr. H. Nasrul Zubir, SpPD, KGEH, FINASIM, dan dr. H. Akmal M. Hanif, SpPD, MARS selaku Kepala Bagian yang lama dan Kepala Bagian yang baru / SMF Ilmu Penyakit Dalam FK Unand/ BLU RSUP dr. M. Djamil Padang yang telah memberikan kesempatan, bimbingan dan dukungan moril kepada penulis dalam menyelesaikan pendidikan ini.

4. Prof. Dr. dr. H. Asman Manaf, SpPD, KEMD selaku Ketua Program Studi Pendidikan Profesi Dokter Spesialis (KPS PPDS) Ilmu Penyakit Dalam FK Unand/ BLU RSUP dr. M. Djamil Padang yang telah memberikan kesempatan, bimbingan dan dukungan moril kepada penulis dalam menyelesaikan pendidikan ini.
5. dr. H. Eva Decroli, SpPD, KEMD, FINASIM selaku Sekretaris Program Studi Pendidikan Profesi Dokter Spesialis (SPS PPDS) Ilmu Penyakit Dalam FK Unand/ BLU RSUP dr. M. Djamil Padang yang telah memberikan kesempatan, bimbingan dan dukungan moril kepada penulis dalam menyelesaikan pendidikan ini.
6. Direktur BLU RSUP dr. M. Djamil Padang yang telah menyediakan fasilitas selama penulis mengikuti PPDS I Ilmu Penyakit Dalam.
7. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang yang telah memberikan kesempatan dan kepercayaan kepada penulis untuk mengikuti pendidikan PPDS I Ilmu Penyakit Dalam.
8. Prof. Dr. dr. Rizanda Mahmud, MKes yang telah membantu penulis dalam mengolah data dan telah membimbing penulis dalam masalah statistik yang terkait dengan penelitian ini.
9. Seluruh staf pengajar Bagian Ilmu Penyakit Dalam FK Unand : Prof. dr. H. Julius, SpPD, KGEH, Prof. dr. H. Syafril Syahbuddin, SpPD, KEMD, FINASIM, Prof. dr. H. Saharman Leman, DTM&H, SpPD, KKV, FINASIM, Prof. dr. H. Zulkamain Arsyad, SpPD, KP, dr. H. Jusman Djaafar, SpPD, KGH (Alm), dr. H. Asri, SpPD, dr. H. Syaiful Azmi, SpPD, KGH, FINASIM, dr. H. Yerizal Karani, SpPD, SpJP, FIHA, dr. Najirman, SpPD, KR, dr. H. Amen Ahmad, SpPD, KPTI, dr. Amelis, SpPD, KGEH, dr. H. Raveinal, SpPD, dr. Hj. Rose Dinda Martini, SpPD, dr. Hj. Arina Widya Murni, SpPD, KPsi, dr. Saptino Miro, dr. H. Yanuar Hamid, SpPD, MARS, dr. Syafrudin Tamar, SpPD, KKV, dr. Drajad Priyono, SpPD, dr. Hamavi harun, SpPD, dr. Fauzar, SpPD, dr. Iskandar, SpPD, dr. Eifel Faheri, dr. Rony Yuliwansyah Syarif, SpPD.

10. Kepala Bagian/ Staf Bagian Patologi Klinik FK Unand/ BLU RSUP dr. M. Djamil Padang yang telah memberikan fasilitas pemeriksaan laboratorium dalam penelitian ini.
11. Rekan-rekan sejawat residen di Bagian Ilmu Penyakit Dalam FK Unand/ BLU RSUP dr. M. Djamil Padang atas bantuan dan kerjasama yang telah kita bina selama ini.
12. Laboratorium Prodia yang telah memberikan fasilitas pemeriksaan laboratorium dalam penelitian ini.
13. Paramedis di Bangsal dan Poliklinik Penyakit Dalam yang telah membantu kelancaran studi dan penelitian ini, serta terima kasih untuk Risman, Ira dan Dori.

Semoga semua bantuan Bapak, Ibu dan sejawat sekalian mendapat imbalan disisi Allah SWT.

Secara khusus, terima kasih dan rasa hormat yang teramat dalam penulis sampaikan kepada yang tercinta, ibunda Hj. Akhbah dan ayahanda M. Teguh Burhan (Alm), serta ibu dan bapak mertua, yang selama ini telah mendidik, membimbing, memberikan bantuan moril, materil dan doa kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan pendidikan ini. Semoga Allah SWT selalu memberi rahmat dan karuniaNya.

Terima kasih untuk kakak-kakak dan adik-adik tercinta : Ir. Tabroni, MM, Dra. Yulita (Alm), Novianti, Darmansyah, SKom, Taufik, SE, Astuti Destriana, ST yang senantiasa memberikan perhatian, bantuan dan dorongan semangat sehingga penulis dapat menyelesaikan pendidikan ini. Semoga mendapat balasan pahala dariNya.

Kepada Isteri tercinta Meldani Souvenira, AMK dan anak-anakku tersayang Annisa Azzahra, M. Ihsan Fajri, penulis ucapkan terima kasih yang tidak terhingga atas pengertian, kesabaran, dan pengorbanannya serta dengan setia telah mendampingi dalam menjalani pendidikan sehingga penulis mampu menyelesaikan Pendidikan Profesi Dokter Spesialis ini.

DAFTAR ISI

Halaman

KATA PENGANTAR	i
DAFTAR ISI	v
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR SINGKATAN	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	5
1.3. Hipotesis	5
1.4. Tujuan Penelitian	5
1.5. Manfaat Penelitian	6
1.6. Kerangka Konseptual	7
BAB II. TINJAUAN KEPUSTAKAAN	9
2.1 Definisi Anemia dan Penyakit Ginjal Kronik	9
2.2. Metabolisme besi	10
2.3. <i>Hepcidin</i>	15
2.3.1. Sintesis dan Katabolisme <i>hepcidin</i>	15
2.3.2 Struktur <i>hepcidin</i>	18
2.3.3. <i>Hepcidin</i> dan homeostasis besi	19
2.3.4 <i>Hepcidin</i> dan inflamasi	20
2.3.5. <i>Hepcidin</i> dan Penyakit Ginjal Kronik	21

2.4.	Patogenesis Anemia Defisiensi Besi pada Penyakit Ginjal Kronik	24
2.4.1	Absorpsi besi yang tak normal	24
2.4.2.	Kehilangan darah	25
2.4.3.	Defisiensi besi fungsional	25
2.5.	Diagnosis Anemia Defisiensi Besi Pada Penyakit Ginjal Kronik.....	27
2.5.1.	Indeks eritrosit dan hapusan darah tepi	28
2.5.2.	Besi serum, TIBC, dan saturasi transferin	28
2.5.3.	Feritin	29
2.5.4	Cadangan besi sumsum tulang	29
2.5.5.	Diagnosis anemia defisiensi besi pada PGK	29

BAB III.	METODE PENELITIAN	32
3.1.	Desain Penelitian	32
3.2.	Tempat dan Waktu Penelitian	32
3.3.	Populasi dan Sampel	32
3.3.1.	Populasi	32
3.3.2.	Sampel	33
3.4.	Kriteria Inklusi dan Eksklusi	33
3.4.1.	Kriteria Inklusi	33
3.4.2.	Kriteria Eksklusi	33
3.5.	Variabel Penelitian	34
3.6.	Definisi Operasional	34
3.7.	Protokol Penelitian	35
3.8.	Analisis Statistik dan Penyajian Data	36
3.9.	Kerangka Penelitian	37

BAB IV.	HASIL PENELITIAN	38
4.1	. Karakteristik Pasien PGK	38
4.2.	. Kadar Hb, saturasi transferin, feritin, hepcidin	40
4.3.	. Hubungan hepcidin dengan feritin serum pasien anemia defisiensi besi pada PGK	40
4.4.	. Hubungan <i>hepcidin</i> dengan derajat anemia pasien anemia defisiensi besi pada PGK	41
4.5.	. Hubungan <i>hepcidin</i> dengan saturasi transferin pasien anemia defisiensi besi pada PGK	42
4.6.	. Hubungan <i>hepcidin</i> dengan LFG pasien anemia defisiensi besi pada PGK	43
BAB V.	PEMBAHASAN	44
5.1	Karakteristik Pasien PGK	44
5.2.	. Kadar Hb, saturasi transferin, feritin dan hepcidin	45
5.3.	. Hubungan <i>hepcidin</i> dengan feritin serum pasien anemia defisiensi besi pada PGK	46
5.4.	. Hubungan <i>hepcidin</i> dengan derajat anemia pasien anemia defisiensi besi pada PGK	48
5.5.	. Hubungan <i>hepcidin</i> dengan saturasi transferin pasien anemia defisiensi besi pada PGK	50
5.6.	. Hubungan <i>hepcidin</i> dengan LFG pasien anemia defisiensi besi pada PGK	50
5.7.	. Keterbatasan Penelitian	51

BAB VI. PENUTUP	52
6.1. Kesimpulan	52
6.2. Saran	52
DAFTAR PUSTAKA	53
LAMPIRAN	

DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 1.1.	Kerangka Konseptual	7
Gambar 2.1.	Metabolisme besi	14
Gambar 2.2.	Jalur pengaturan <i>hepcidin</i>	16
Gambar 2.3.	Struktur utama <i>hepcidin</i> manusia dan pola ikatan disulfida antara 8 sistein	18
Gambar 2.4.	Pengaruh kadar <i>hepcidin</i> pada pelepasan besi ke dalam plasma	19
Gambar 2.5.	Mekanisme patogenesis anemia penyakit kronik	26
Gambar 3.1.	Kerangka Penelitian	37
Gambar 4.1.	Grafik persentase penyebab PGK	39
Gambar 4.2.	Hubungan <i>hepcidin</i> dengan feritin	41
Gambar 4.3.	Hubungan <i>hepcidin</i> dengan saturasi transferin	42
Gambar 4.4.	Hubungan <i>hepcidin</i> dengan LFG	43

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1. Stadium Penyakit Ginjal Kronik	9
Tabel 2.2. Distribusi besi pada orang dewasa	11
Tabel 2.3. Perbedaan Kadar Serum pada Anemia Penyakit Kronik dan Anemia Defisiensi Besi	30
Tabel 3.1. Jadwal Penelitian	32
Tabel 4.1. Karakteristik Pasien PGK	38
Tabel 4.2. Kadar Hb, saturasi transferin, ferritin, hepcidin	40
Tabel 4.3. Hubungan hepcidin dengan derajat anemia	42

DAFTAR SINGKATAN

PGK	Penyakit Ginjal Kronik
HD	Hemodialisis
LFG	Laju Filtrasi Glomerulus
NHANES III	<i>The Third National Health and Nutrition Examination Survey</i>
rHuEpo	<i>recombinant Human Erythropoietin</i>
ESAs	<i>Erythropoiesis Stimulating Agents</i>
IL-6	<i>Interleukin-6</i>
mRNA	<i>messenger RNA</i>
USF2	<i>Upstream Stimulatory Factor-2</i>
CRP	<i>C-reactive Protein</i>
WHO	<i>World Health Organization</i>
KDOQI	<i>Kidney Disease Outcome Quality Initiative</i>
NKF	<i>National Kidney Foundation</i>
DCYTB	<i>Duodenal Cytochrome b-like</i>
DMT 1	<i>Divalent Metal Transporter 1</i>
FPN	<i>Ferroportin</i>
TfR	<i>Transferrin receptor</i>
TNF-α	<i>Tumor Necrosis Factor-α</i>
TIBC	<i>Total Iron Binding Capacity</i>
MCV	<i>Mean Corpuscular Volume</i>
MCH	<i>Mean Corpuscular Hemoglobin</i>
MCHC	<i>Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration</i>
LEAP-1	<i>Liver Expressed Antimicrobial Peptide-1</i>
ELISA	<i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i>
SELDI-TOF MS	<i>Surface enhanced laser desorption ionization time of flight mass Spectrometry</i>
HFE	<i>gen Hemachromatosis</i>

DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1.** Keterangan Lolos Kaji Etik (*Ethical Clearance*)
- Lampiran 2.** Tabel Induk Hasil Penelitian
- Lampiran 3.** Penjelasan Sebelum Persetujuan
- Lampiran 4.** Persetujuan Ikut Penelitian / Tindakan Medis (*Informed Consent*)
- Lampiran 5.** Formulir Penelitian
- Lampiran 6.** Struktur Organisasi Penelitian
- Lampiran 7.** *Curriculum Vitae*

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. LATAR BELAKANG

Anemia dijumpai pada sebagian besar pasien penyakit ginjal kronik (PGK). Anemia yang tidak diatasi akan menimbulkan gangguan fisiologis seperti suplai oksigen ke jaringan berkurang, peningkatan curah jantung, hipertrofi ventrikel kiri, angina, gagal jantung kongestif, penurunan kemampuan kognitif dan mental, gangguan siklus menstruasi, impotensi, dan gangguan respon imun. Anemia pada PGK telah terbukti mempengaruhi kualitas hidup, meningkatkan morbiditas dan mortalitas, oleh karena itu harus dikelola dengan optimal.¹

Anemia pada PGK terutama diakibatkan oleh berkurangnya produksi eritropoetin. Penyebab lain adalah defisiensi besi oleh karena beberapa hal seperti asupan atau absorpsi besi yang berkurang, sekuestrasi besi akibat inflamasi, kehilangan darah selama prosedur hemodialisis (HD), tindakan flebotomi berulang untuk pemeriksaan laboratorium, malnutrisi, perdarahan gastrointestinal, dan peningkatan penggunaan besi untuk proses pembentukan eritrosit sebagai respon eritropoesis. Selain itu anemia dapat juga disebabkan oleh keadaan hiperparatiroid, hipotiroid, intoksikasi aluminium, defisiensi asam folat, defisiensi vitamin B 12 dan lain-lain.¹

Anemia terjadi pada awal perkembangan penyakit ginjal dan sejalan dengan gangguan fungsi ginjal. Beberapa penelitian yang menunjukkan hubungan antara kadar Hb dengan fungsi ginjal dan anemia mulai terjadi bila laju filtrasi glomerulus (LFG) < 60 ml/menit/1,73 m². Salah satu penelitian besar, *The Third National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES III) (1988 - 1994, memeriksa lebih dari 15.000 orang pada populasi umum di AS, 38,3 % dari 3453

pasien PGK dengan LFG antara 20 – 60 ml/menit/1,73 m² memiliki saturasi transferin < 20 %. Prevalensi anemia dengan LFG 30 – 59 ml/menit/1,73 m² sebesar 1 %, LFG 15 - 29 ml/menit/1,73 m² (9 %), dan LFG < 15 ml/menit/1,73 m² masing-masing 33 % pada laki-laki dan 67 % perempuan.^{2,3}

Kazmi dkk (2001) menemukan serum kreatinin pasien PGK \leq 2 mg/dl adalah sebesar 45 %. Prevalensi defisiensi besi (saturasi transferin < 20 %) adalah 54 %. Tiga puluh delapan persen pasien PGK dengan serum kreatinin $3,2 \pm 1,6$ mg/dl (LFG $22,3 \pm 8,9$ ml/menit/1,73 m²) dengan hematokrit 30 % pada kunjungan pertama dengan konsultan ginjal. Diantara pasien yang mendapatkan *recombinant human erythropoietin* (rHuEpo), hanya 47 % diberikan terapi besi.⁴

Pada survei manajemen anemia pasien pre dialisis di Eropa didapatkan anemia defisiensi absolut sebesar 38 % sebelum dilakukan terapi pengganti ginjal. Data dari *Romanian Renal Registry* tahun 2004 – 2006 menyatakan bahwa prevalensi anemia defisiensi besi absolut sebesar 65 % pada pasien yang menjalani terapi pengganti ginjal.⁵

Hubungan antara *hepcidin* dan metabolisme besi diungkapkan pertama kali oleh Pigeon dkk (2001) (saat meneliti respon hati terhadap beban besi yang berlebihan) yang mendapatkan bahwa mRNA *hepcidin* diproduksi oleh hepatosit dan lipopolisakarida serta beban besi yang berlebihan baik secara oral maupun parenteral dapat merangsang produksi *hepcidin* sebagai umpan balik terhadap keadaan beban besi yang berlebihan tersebut, sehingga gen *hepcidin* dianggap sebagai gen *upstream stimulatory factor-2* (USF2).⁶

Pada tahun 2001, Park dkk melakukan studi tentang karakter antimikrobia pada cairan tubuh manusia dengan mengisolasi suatu peptida baru dari urin yang dikenal sebagai *hepcidin*, berdasarkan tempat diproduksinya (hati, hep-) dan karakter antimikrobia *in vitro* (-cidin).⁷

Studi sebelumnya oleh Krause dkk (2000) juga mengisolasi peptida yang sama dari ultrafiltrat plasma dan menamakannya LEAP-1 (*liver expressed antimicrobial peptide-1*), suatu peptida dengan karakter antimikrobal yang diekspresikan oleh hati.⁸

Détivaud dkk (2005) melaporkan hubungan kadar hemoglobin (Hb) dan ekspresi mRNA *hepcidin* pada manusia, yang menyokong hipotesis bahwa efek dari anemia atau hipoksia terhadap ekspresi mRNA *hepcidin* yang diteliti pada tikus. Pada keadaan anemia, kebutuhan oksigen tidak adekuat sehingga perlu diproduksi eritrosit yang lebih banyak. Mekanisme pengaturan hipoksia melalui beberapa reseptor *hypoxia inducible factor* (HIF) yang terdapat pada *hepcidin promoter* yang menghambat proses transkripsi mRNA *hepcidin* pada hepatosit.⁹

Dallalio dkk (2003) melakukan penelitian kadar *hepcidin* menggunakan pemeriksaan *Western blot*. Spesimen yang digunakan berasal dari punksi sumsum tulang dan serum untuk menentukan kadar feritin serum yang dibandingkan dengan kadar *hepcidin* serum. Dari kedua spesimen, terdapat korelasi positif yang kuat antara kadar feritin dengan kadar *hepcidin* serum.¹⁰

Malyszko dkk (2006) memperlihatkan hubungan *hepcidin* dengan fungsi ginjal, status besi dan hsCRP pada pasien PGK yang diterapi secara konservatif, pasien HD, dan pasien yang menjalani transplantasi ginjal. Pada ketiga kelompok pasien, didapatkan korelasi yang bermakna antara *hepcidin* dengan fungsi ginjal. Kadar feritin dan *hepcidin* lebih tinggi pada pasien HD, transplantasi ginjal dan PGK dibandingkan dengan pasien kontrol. Tidak terdapat korelasi antara kadar *hepcidin* dengan feritin dan saturasi transferin. Peningkatan kadar *hepcidin* pada pasien PGK bukan hanya karena gangguan fungsi ginjal, tetapi juga pengaruh inflamasi.¹¹

Tomosugi dkk (2006) melakukan pemeriksaan hepcidin serum secara semikuantitatif menggunakan metode *surface enhanced laser desorption ionization time of flight mass spectrometry* (SELDI-TOF MS). Pada studi yang dilakukan tersebut mendapatkan peningkatan kadar hepcidin-25 pada pasien HD. Kadar hepcidin-25 berhubungan dengan feritin serum dan IL-6. Kadar hepcidin juga mengalami peningkatan pada kadar feritin normal. Peningkatan kadar hepcidin pasien HD 2 – 3 kali lipat lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol. Kadar hepcidin-25 berkurang selama HD pada beberapa pasien, tetapi penyebabnya belum jelas.¹²

Pada penelitian Zaritsky dkk (2009) menguji hubungan hepcidin serum dengan indikator anemia, status besi, inflamasi dan fungsi ginjal. Pada PGK stadium 2 – 4, feritin dan reseptor transferin berbanding lurus dengan hepcidin, tetapi berbanding terbalik dengan LFG. Sedangkan pada PGK stadium 5, saturasi transferin dan feritin dapat menentukan kadar hepcidin. Peningkatan kadar hepcidin berperan pada gangguan pengaturan besi dan proses eritropoesis. Hepcidin dapat dijadikan sebagai parameter biokimia pada anemia defisiensi besi dan salah satu penyebab terjadinya respon eritropoetin tidak adekuat.¹³

Peters dkk (2010) melaporkan 83 pasien PGK non dialisis, dan 48 pasien HD, tidak terdapat korelasi kadar hepcidin-25 dengan LFG ($p = 0,30$ dan $r = -0,12$). Kadar hepcidin pada pasien HD lebih tinggi dibandingkan dengan kadar hepcidin pasien PGK non dialisis. LFG bukan merupakan faktor utama yang menentukan kadar hepcidin pada pasien PGK.¹⁴

Kemna dkk (2008) menjelaskan hubungan antara hepcidin dan feritin serum pada penyakit ginjal kronik yaitu kadar dari kedua parameter tersebut terjadi peningkatan tetapi pada kondisi defisiensi besi keduanya akan menurun. Diantara keunggulan dari hepcidin serum adalah dapat mencerminkan ketersediaan besi

dan kebutuhan eritropoesis, dan lebih mencerminkan homeostasis besi dibandingkan dengan masing-masing parameter seperti saturasi transferin, reseptor transferin dan CRP.¹⁵

Berdasarkan data diatas menunjukkan bahwa *hepcidin* mempunyai peran penting pada metabolisme besi dan terjadinya anemia defisiensi besi pada PGK, maka pada penelitian ini akan menjelaskan hubungan *hepcidin* dengan feritin serum pasien anemia defisiensi besi pada PGK.

1.2. RUMUSAN MASALAH

Apakah terdapat hubungan *hepcidin* dengan feritin serum pasien anemia defisiensi besi pada PGK ?

1.3. HIPOTESIS

- H0 : Tidak terdapat hubungan *hepcidin* dengan feritin serum pasien anemia defisiensi besi pada PGK.
- H1 : Terdapat hubungan *hepcidin* dengan feritin serum pasien anemia defisiensi besi pada PGK.

1.4. TUJUAN PENELITIAN

1.3.1. TUJUAN UMUM

Mengetahui hubungan *hepcidin* dengan feritin serum pasien anemia defisiensi besi pada PGK.

1.3.2. TUJUAN KHUSUS

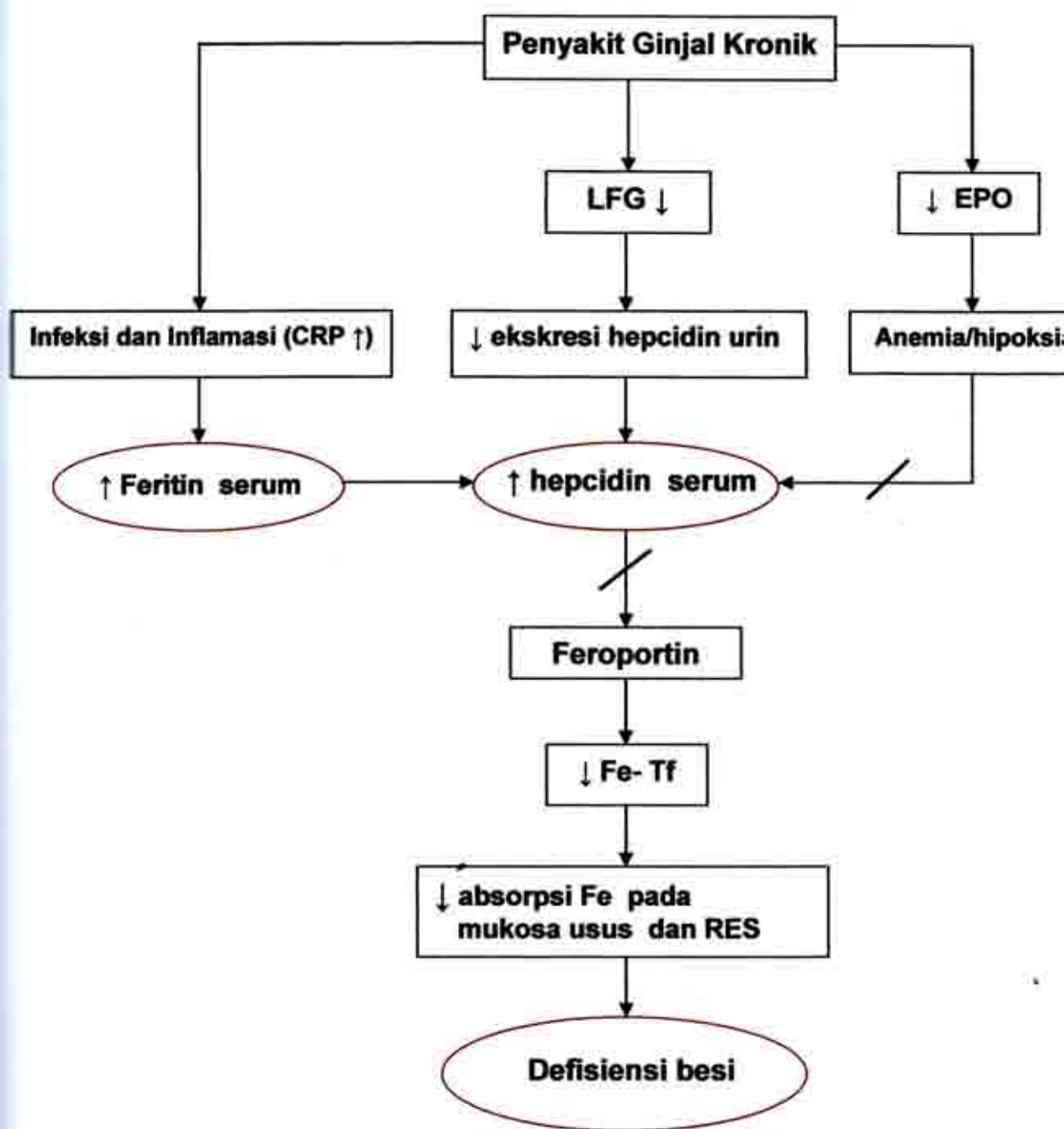
1. Mengetahui kadar *hepcidin* serum pasien anemia defisiensi besi pada PGK
2. Mengetahui kadar feritin serum pasien anemia defisiensi besi pada PGK
3. Mengetahui hubungan *hepcidin* dengan feritin serum pasien anemia defisiensi besi pada PGK
4. Mengetahui hubungan *hepcidin* dengan derajat anemia pasien anemia defisiensi besi pada PGK
5. Mengetahui hubungan *hepcidin* dengan saturasi transferin pasien anemia defisiensi besi pada PGK
6. Mengetahui hubungan *hepcidin* dengan stadium PGK pasien anemia defisiensi besi pada PGK

1.5. MANFAAT PENELITIAN

Hasil penelitian diharapkan :

1. Memberikan pedoman dalam penatalaksanaan anemia defisiensi besi pada PGK.
2. Memberikan sumbangan dalam pengembangan ilmu pengetahuan tentang peran *hepcidin* dalam patogenesis anemia defisiensi besi pada PGK.

1.6. KERANGKA KONSEPTUAL



Gambar 1.1. Kerangka Konseptual

Keterangan :

○ : Variabel yang diteliti

Anemia pada PGK terutama diakibatkan oleh berkurangnya produksi eritropoetin, kebutuhan oksigen tidak adekuat sehingga perlu diproduksi eritrosit yang lebih banyak. Mekanisme pengaturan hipoksia melalui beberapa reseptor *hypoxia inducible factor* (HIF) yang terdapat pada *hepcidin promoter* yang menghambat proses transkripsi mRNA *hepcidin* pada hepatosit. Sehingga hal ini dapat menyebabkan penurunan kadar *hepcidin* serum.

Hepcidin diekskresikan melalui urin dan dimetabolisme oleh ginjal. Gangguan pada kedua proses tersebut terjadi pada keadaan LFG yang menurun sehingga menyebabkan penumpukan *hepcidin* di ginjal.

Kadar Feritin akan meningkat sebagai respon tubuh yang tidak spesifik terhadap pengaruh sistemik dari infeksi, inflamasi yang akan menyebabkan pelepasan sitokin proinflamasi dan peningkatan kadar CRP. Peningkatan kadar CRP pada pasien PGK dipengaruhi oleh kondisi uremia.

Peningkatan kadar *hepcidin* akan menghambat pelepasan besi dari makrofag dan sistem retikuloendotelial sehingga terjadi retensi besi, serta mengurangi penyerapan besi di usus sehingga terjadi defisiensi besi.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. DEFINISI ANEMIA DAN PENYAKIT GINJAL KRONIK

Kriteria *Kidney Disease Outcome Quality Initiative* (KDOQI) dan *National Kidney Foundation* (NKF) (2006) mengenai anemia pada PGK, apabila kadar Hb < 13,5 g/dl pada laki-laki, Hb < 12 g/dl pada perempuan¹⁶

Penyakit ginjal kronik didefinisikan sebagai:¹⁶

1. Kelainan ginjal berupa kelainan struktural atau fungsional, yang dimanifestasikan oleh kelainan patologi atau petanda kerusakan ginjal secara laboratorik atau kelainan pada pemeriksaan radiologi, dengan atau tanpa penurunan fungsi ginjal (penurunan laju filtrasi glomerulus = LFG), yang berlangsung > 3 bulan.
2. Penurunan LFG < 60 ml/menit per 1.73 m² luas permukaan tubuh (LPT) selama > 3 bulan dengan atau tanpa kerusakan ginjal.

Kelompok kerja KDOQI dan NKF membuat klasifikasi stadium PGK berdasarkan penurunan fungsi ginjal yang diukur dengan LFG, sebagai berikut:¹⁶

Tabel 2.1. Stadium Penyakit Ginjal Kronik¹⁶

Stadium	Deskripsi	LFG (ml/menit/1,73m ²)
1	Kerusakan ginjal disertai LFG normal atau meningkat	≥ 90
2	Penurunan ringan LFG	60 – 89
3	Penurunan sedang LFG	30 – 89
4	Penurunan berat LFG	15 – 29
5	Gagal ginjal	< 15 atau dialisis

2.2. METABOLISME BESI

Besi merupakan nutrisi esensial yang diperlukan oleh semua sel-sel tubuh manusia dan mempunyai kemampuan untuk mengikat oksigen, sebagai katalisator untuk oksigenasi, hidrosilasi dan proses metabolisme penting lainnya, serta mampu menerima atau melepaskan elektron dengan cepat seperti perubahan dari Feri (Fe^{3+}) menjadi Fero (Fe^{2+}) atau sebaliknya. Kemampuan tersebut membuatnya menjadi komponen sitokrom yang berguna untuk metabolisme oksidatif, pertumbuhan dan proliferasi sel-sel tubuh. Besi bebas sangat toksik terhadap sel karena dapat mengkatalisis perubahan H_2O_2 menjadi radikal bebas yang merusak membran sel, protein dan DNA sehingga besi yang disimpan tidak dalam bentuk kation bebas, tetapi sebagai kompleks besi.^{17,18,19}

Pertukaran besi dalam tubuh merupakan lingkaran yang tertutup yang diatur oleh besarnya besi yang diabsorpsi usus, sedangkan kehilangan besi fisiologik bersifat menetap. Besi yang diabsorpsi usus setiap hari berkisar antara 1-2 mg, ekskresi besi terjadi dalam jumlah yang sama melalui eksfoliasi usus. Besi dalam tubuh tidak pernah terdapat dalam bentuk logam bebas, tetapi selalu berikatan dengan protein tertentu. Besi terdapat dalam berbagai jaringan dalam tubuh yang terdiri dari:^{17,18,19}

- Senyawa besi fungsional adalah besi yang membentuk senyawa yang berfungsi dalam tubuh.
- Besi cadangan adalah senyawa besi yang dipersiapkan bila masukan besi berkurang.
- Besi transpor adalah besi yang berikatan dengan protein tertentu dalam fungsinya untuk mengangkut besi dari satu kompartemen ke kompartemen lainnya.

Tabel 2.2. Distribusi besi pada orang dewasa¹⁹

Jenis besi	Kadar (mg/kg BB)	
	Laki-laki	Perempuan
Besi fungsional		
• Hemoglobin	31	28
• Myoglobin	5	4
• Enzim heme	1	1
• Enzim non heme	1	1
Besi cadangan		
• Feritin	8	4
• Hemosiderin	4	2
Besi transport		
• Transferin	< 1 (0,2)	< 1 (0,2)
Total	50	40

Pada metabolisme besi yang normal, absorpsi besi di usus memegang peranan sangat penting. Absorpsi terbanyak terjadi di proksimal duodenum karena pH asam lambung dan kepadatan protein tertentu yang diperlukan pada proses absorpsi besi di epitel usus. Proses absorpsi besi dibagi 3 fase^{20,21,22}

1. Fase luminal^{20,21,22}

Besi dalam makanan terdapat dalam 2 bentuk, yaitu :

- Besi heme : terdapat dalam daging dan ikan, tingkat absorpsinya tinggi, tidak dihambat oleh bahan penghambat sehingga mempunyai bioavailabilitas tinggi
- Besi non heme : berasal dari sumber tumbuh-tumbuhan, tingkat absorpsinya rendah, dipengaruhi oleh bahan pemacu atau penghambat sehingga bioavailabilitasnya rendah.

Tergolong sebagai bahan pemacu absorpsi besi adalah asam amino dan vitamin C, sedangkan yang tergolong sebagai bahan penghambat ialah *phytates*, *tannates* dan fosfat.

2. Fase mukosal^{20,21,22}

Fase aktif yang sangat kompleks dan terkendali dimana sel absorptif pada puncak vili-vili usus feri (Fe^{3+}) dikonversi menjadi fero (Fe^{2+}) oleh enzim ferireduktase yang dimediasi oleh *duodenal cytochrome b-like* (DCYTB). Transpor melalui membran difasilitasi oleh protein *divalent metal transporter 1* (DMT1) atau *natural-resistance-associated macrophage protein 2* (Nramp2). Setelah besi masuk ke sitoplasma, sebagian disimpan dalam bentuk feritin, sebagian dikeluarkan ke kapiler usus melalui *basolateral transporter* (feroportin/FPN). Pada proses ini terjadi oksidasi dari fero menjadi feri oleh enzim ferooksidase (a.l. *hephaestin*), lalu feri diikat oleh apotransferin dalam kapiler usus. Terdapat fenomena hambatan mukosa, dimana setelah beberapa hari dilakukan bolus besi dalam diet, maka enterosit resisten terhadap absorpsi besi berikutnya. Hambatan ini mungkin timbul karena akumulasi besi dalam enterosit sehingga menyebabkan kondisi diatur seolah-olah kebutuhan besi sudah berlebihan.

3. Fase korporeal^{20,21,22}

Besi yang sudah diserap enterosit dan melewati bagian basal epitel usus, memasuki kapiler usus lalu dalam darah diikat oleh apotransferin menjadi transferrin. Transformasi ini akan melepaskan besi pada sel sistem retikuloendotelial melalui proses pinositosis. Satu molekul transferrin dapat mengikat maksimal 2 molekul besi. Kompleks besi transferrin ini (Fe^{2+} -Tf) nantinya akan diikat oleh reseptor transferrin yang terdapat pada permukaan sel membentuk kompleks Fe^{2+} -Tf-TfR, yang akan membentuk endosom.

Suatu pompa proton akan menurunkan pH endosom, sehingga melepaskan ikatan besi dengan transferin. Besi dalam endosom akan dikeluarkan ke sitoplasma dengan bantuan DMT 1, sedangkan ikatan apotransferin dan reseptor transferin mengalami siklus kembali ke permukaan sel dan dapat dipergunakan kembali.

Beberapa hal yang mengatur absorpsi besi dalam usus halus, yaitu .²⁰

1. Pengaturan diet.

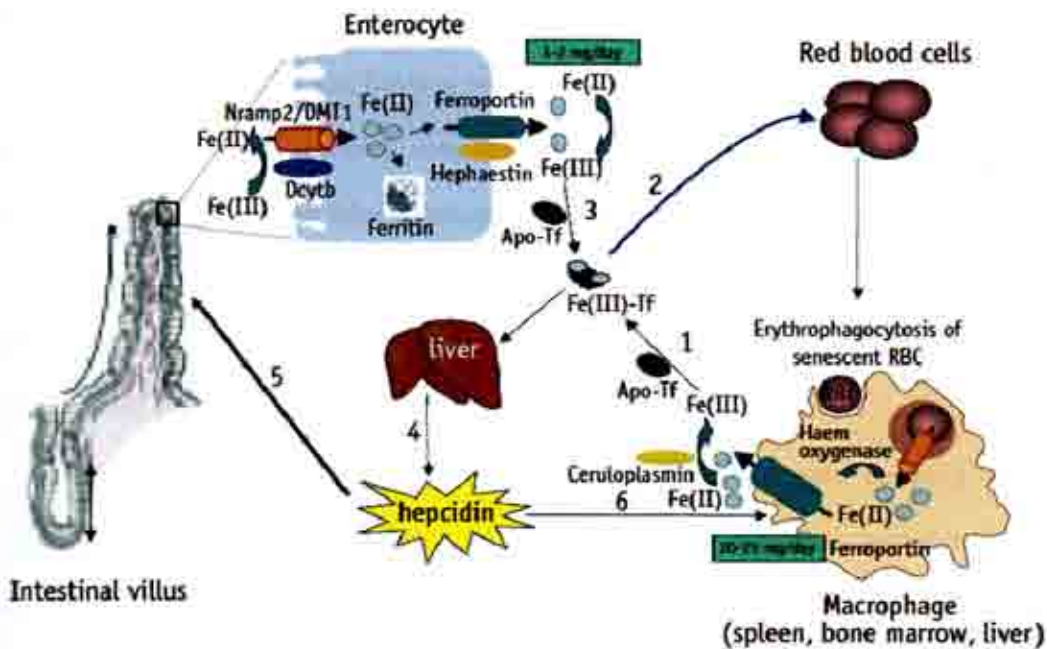
Mekanisme ini mengatur jumlah besi yang dikonsumsi dari diet. Beberapa hari setelah mengkonsumsi diet yang mengandung cukup besi, sel epitel usus (enterosit) menjadi resisten terhadap besi tambahan yang diberikan kemudian. Mekanisme ini diduga terjadi oleh karena penumpukan besi di dalam enterosit sehingga kondisi kebutuhan besi sudah terpenuhi. Dahulu mekanisme ini disebut dengan hambatan mukosa.²⁰

2. Pengaturan cadangan besi.

Mekanisme ini membatasi jumlah besi yang akan diabsorpsi sebagai respon terhadap kadar besi tubuh total, mungkin melalui mekanisme di sel kriptas sebagai respon terhadap saturasi transferin dengan besi.²⁰

3. Pengaturan eritropoetik

Mekanisme ini tidak berespon terhadap kadar besi, melainkan terhadap kebutuhan eritropoesis. Diduga mekanisme ini melalui *soluble signal* yang berasal dari sumsum tulang ke usus halus. Kapasitas mekanisme ini lebih besar dari pengaturan cadangan besi.²⁰



Gambar 2.1. Metabolisme besi ^{Kutip 22}

Metabolisme besi pada makrofag diawali dengan fagositosis eritrosit dan pemecahannya di fagosom, kemudian besi dikeluarkan melalui ferroportin dengan bantuan seruloplasmin ferooksidase (yang berperan homolog seperti *hephaestin* di enterosit). Pada siklus besi dalam tubuh terjadi peredaran jumlah besi tubuh yang sangat efisien, dimana hasil absorpsi besi di usus bergabung dengan besi yang dimobilisasi dari makrofag sumsum tulang untuk keperluan eritropoesis. Selanjutnya, hasil suatu eritropoesis yang inefektif dan besi pada eritrosit yang telah mengalami penuaan, akan dikembalikan lagi kepada makrofag dengan jumlah yang sama dengan keperluan eritropoesis tersebut. Sehingga hasil akhir mekanisme ini adalah keseimbangan jumlah besi tubuh.²⁰

Beberapa studi terbaru mendapatkan adanya peran suatu hormon peptida yang kecil bernama *hepcidin* dalam pengaturan besi. *Hepcidin* menghambat absorpsi besi di usus dan pelepasan besi dari makrofag dan hepatosit. Walaupun studi mengenai *hepcidin* masih terbatas jumlahnya, namun beberapa studi

menyimpulkan bahwa *hepcidin* merupakan mediator langsung pada patogenesis anemia penyakit kronik yang beraksi sebagai pengatur negatif penyerapan besi pada usus dan pelepasan oleh makrofag sehingga pemenuhan kebutuhan besi untuk eritropoesis menjadi tidak adekuat.^{9,17,23}

1.1 HEPCIDIN

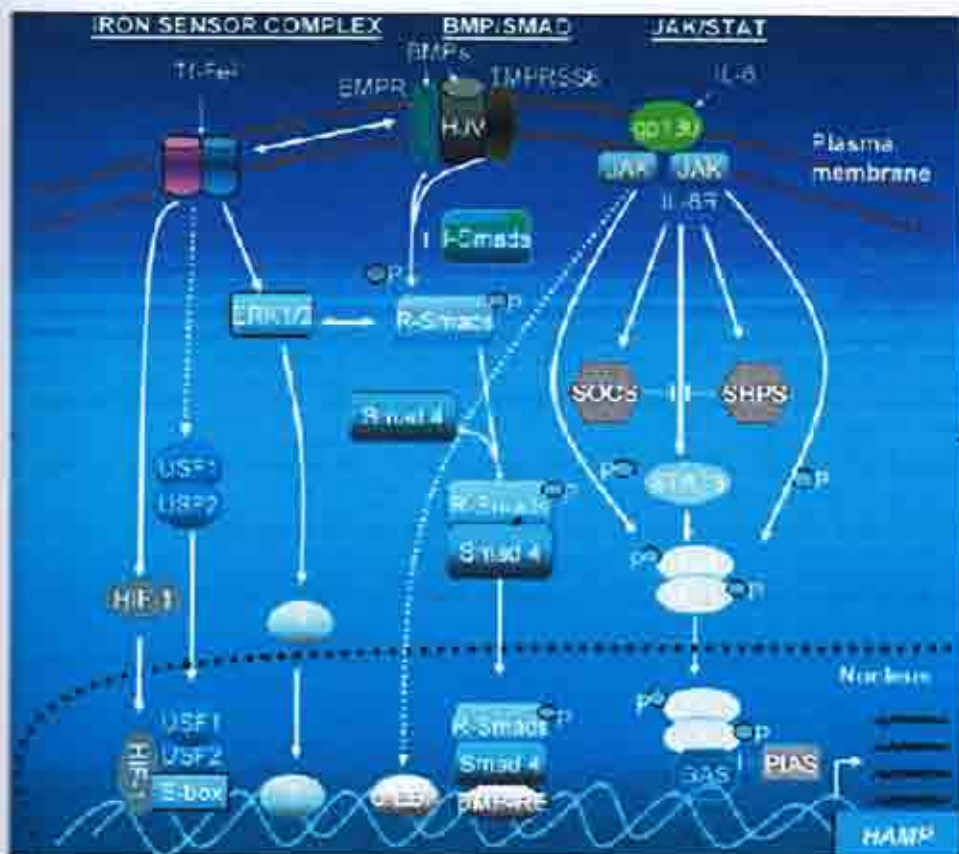
2.3.1. Sintesis dan Katabolisme *Hepcidin*

Gen *hepcidin* manusia HAMP berlokasi pada lengan panjang dari kromosom 19q13, yang mengkode 84 asam amino pre proptida, terdiri dari 24 asam amino N-terminal dan 60 asam amino prohormon.²⁴

Pengaturan ekspresi *hepcidin* terjadi pada tingkat transkripsi sitokin-sitokin inflamasi terutama IL-6, yang merangsang transkripsi *hepcidin antimicrobial peptide* (HAMP) dalam hepatosit. Hal ini menyebabkan aktifnya *signal transducer and activator of transcription 3* (STAT 3) dan selanjutnya STAT 3 mengalami fosforilasi membentuk kompleks STAT 3 – fosforilasi. Kompleks ini akan berikatan dengan *promoter* HAMP.^{24,25}

Pengaturan *hepcidin* melalui jalur *bone morphogenetic protein* (BMP) / *signal mothers againt decapentaplegic* (Smad). BMP merupakan sitokin yang termasuk kelompok *transforming growth factor-β* (TGF-β). BMP secara umum berperan dalam pengaturan proliferasi sel, diferensiasi sel, *apoptosis*, dan migrasi sel dalam jaringan. Pada jalur BMP terjadi pengikatan BMP dengan reseptor sel serin/treonin kinase tipe 1 dan 2 membentuk kompleks reseptor tipe 1 dan 2 – BMP. Kompleks protein intraseluler ini mengalami fosforilasi membentuk RSmad. RSmad berikatan dengan Smad 4 membentuk suatu kompleks protein RSmad – Smad 4 yang akan masuk ke dalam nukleus dan mengaktifasi transkripsi gen target.^{19,25}

Silvestri dkk (2008) menerangkan mekanisme pengaturan ekspresi *hepcidin* melalui *transmembrane protease serine 6* (TMPRSS6). Pengaturan ekspresi *hepcidin* dengan mengaktifkan fungsi dari *heмоjuvelin* (HJV) yang merupakan suatu protein pada membran plasma hepatosit sehingga terjadi peningkatan ekspresi dari *hepcidin*. Mutasi HJV akan menyebabkan hemokromatosis, suatu bentuk kelainan beban besi yang berlebihan oleh karena memiliki kadar *hepcidin* yang rendah.²⁶



Gambar 2.2. Jalur Pengaturan *Hepcidin*^{Kutip 24}

Jalur kompleks besi meliputi HFE, TfR2, HJV, *extracellular signal regulated kinase* (ERK) 1/2, dan TMPRSS6, yang mengatur ikatan Tf – Fe. Reseptor transferin 1 (TfR1), gen HFE, TfR2 dan HJV akan membentuk kompleks dengan reseptor BMP tipe 1 dan tipe 2 pada permukaan sel. Kompleks HJV-BMP I/II

berikatan dengan R-Smad, selanjutnya Smad mengalami fosforilasi yang mengaktifkan ekspresi HAMP. Sedangkan jalur kompleks besi yang melalui ERK 1/2 mengalami fosforilasi membentuk Rsmad yang akan meningkatkan ekspresi kadar *hepcidin*. Homo dan heterodimer dari USF1/USF 2 bergabung dengan HIF berikatan dengan *E-box*. Pengaturan kompleks besi melalui jalur USF 1/ USF2 ini belum jelas.^{18,27}

Wang dkk (2005) memperlihatkan bahwa delesi Smad 4 menyebabkan kelainan embrionik yang berat, tetapi inaktivasi Smad 4 menyebabkan tidak diproduksinya *hepcidin* sehingga terjadi peningkatan kadar besi yang berlebihan.²⁸

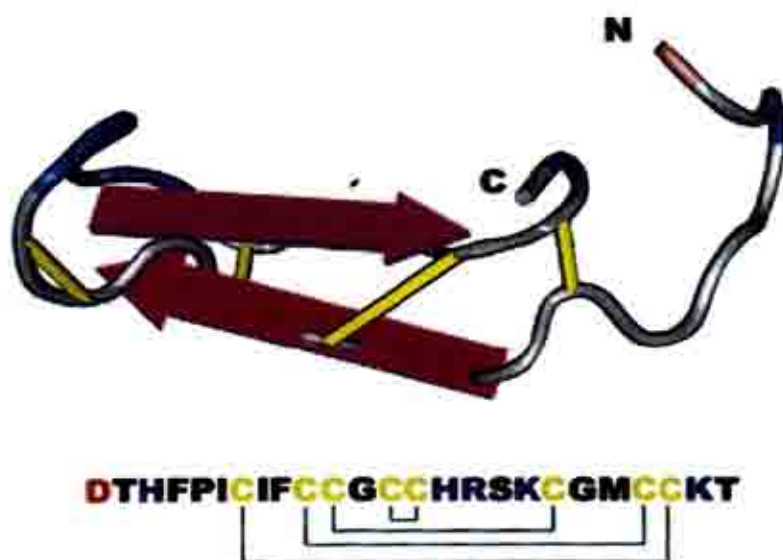
Babitt dkk (2007) menunjukkan bahwa delesi gen Smad 4 pada tikus menimbulkan ketidakmampuan sintesis *hepcidin* sebagai respon terhadap inflamasi, dan ambilan besi.²⁹

Nicholas dkk (2002) melakukan penelitian terhadap tikus percobaan yang menunjukkan bahwa tikus yang mengalami anemia terjadi penurunan kadar mRNA *hepcidin*. Selain itu hipoksia dapat menurunkan transkripsi kadar *hepcidin* pada sel hepatoma HepG2 dan Hep3B manusia. Pada keadaan anemia, kebutuhan oksigen tidak adekuat sehingga perlu diproduksi eritrosit yang lebih banyak. Mekanisme pengaturan hipoksia melalui beberapa reseptor *hypoxia inducible factor* (HIF) yang terdapat pada *hepcidin promoter* yang menghambat proses transkripsi mRNA *hepcidin* pada hepatosit.³⁰

Détivaud dkk (2005) melaporkan hubungan kadar hemoglobin (Hb) dan ekspresi mRNA *hepcidin* pada manusia, yang menyokong hipotesis bahwa efek dari anemia atau hipoksia terhadap ekspresi mRNA *hepcidin* yang diteliti pada tikus.³⁰

2.3.2. Struktur *Hepcidin*

Secara struktur, *hepcidin* manusia suatu peptida kecil kaya sistein (8 sistein) yang didapat dari gugus *C-terminal* dari suatu asam amino prepropeptida, yang diisolasi dari urin dan ultrafiltrat darah, yang sebagian besar mengandung 25 asam amino (*hep-25*) dan sebagian lagi ditemukan dengan rantai asam amino yang lebih pendek (*hep-20* dan *hep-22*).²³ Hunter dkk (2002) menganalisa struktur ikatan disulfida antara 8 sistein *hep-25* manusia menggunakan pemeriksaan *nuclear magnetic resonance spectrometry*. Molekul *hepcidin* berbentuk seperti jepitan rambut dimana kedua lengannya disilang oleh gugusan disulfida. Suatu hal yang tidak biasa yang tampak pada molekul ini adalah susunan sisteinnya, dimana terdapat jembatan disulfida pada 2 sistein yang berdekatan sehingga reaktivitas kimianya lebih besar dibandingkan dengan ikatan disulfida pada peptida antimikrobal lainnya seperti pada *defensin*, *takiplesin* (gambar 2.3).³¹



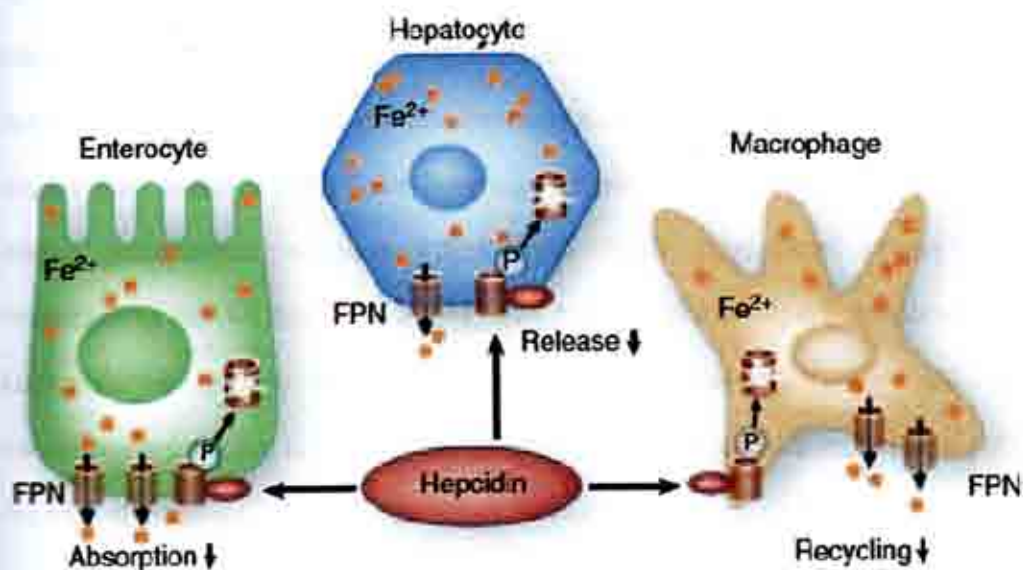
Gambar 2.3. Struktur utama *hepcidin* manusia dan pola ikatan disulfida antara 8 sistein ^{Kutip23}

2.3.3. Hecpidin dan Homeostasis besi

Hepcidin diekspresikan lebih banyak pada hati, sedangkan pada ginjal, jantung, otot, tulang dan otak hanya sedikit diekspresikan. Kulaksiz dkk (2004) menjelaskan bahwa kadar *hepcidin* pada periportal hepatosit paling tinggi.³²

Nicolas dkk (2001) menemukan bahwa pada hewan percobaan tikus yang dihilangkan fungsi gen *USF2*-nya akan mengalami kondisi seperti hemokromatosis, dimana terjadi hiperabsorpsi besi pada usus dan peningkatan pelepasan besi dari makrofag sehingga terjadi peningkatan kandungan besi pada hati dan pankreas serta defisiensi besi pada lien. Pada hati terjadi kekurangan mRNA *hepcidin*. Hal ini membuktikan bahwa *hepcidin* dapat secara langsung sebagai sensor pada homeostasis besi.³³

Kautz dkk (2011) melaporkan bahwa tiga macam *strain* tikus yaitu C57BL/6, DBA/2, and 129/Sv yang dilakukan pemberian diet tinggi besi atau inaktivasi gen *HFE*. Hal ini menyebabkan ekspresi mRNA *BMP6* di hati yang berfungsi pada pengaturan metabolisme besi.³⁴



Gambar 2.4. Pengaruh kadar hepcidin pada pelepasan besi ke dalam plasma^{Kutip 35}

Papanikolaou dkk (2005) melakukan pemeriksaan *hepcidin* urin pada pasien dengan kelainan genetik karena beban besi yang berlebihan. Pada hemokromatosis hereditas yang ditandai dengan mutasi gen HFE, reseptor transferin 2, dan HJV terjadi defisiensi *hepcidin*. Penurunan kadar *hepcidin* ini juga didapatkan pada pasien talasemia, anemia diseritropoetik kongenital tipe , dan pasien hemokromatosis *juvenile* dengan mutasi HAMP.³⁶

Diduga kuat bahwa *hepcidin* menghambat pelepasan besi dari makrofag dan sistem retikuloendotelial sehingga terjadi retensi besi, serta mengurangi penyerapan besi di usus, sehingga terjadi disregulasi homeostasis besi yang akhirnya terjadi kondisi kekurangan besi yang mengganggu proses eritropoesis.²³

2.3.4. *Hepcidin* dan inflamasi

Nemeth dkk (2004) melakukan pemeriksaan péptida *hepcidin* yang terdapat dalam urin pada penderita anemia karena infeksi kronis atau penyakit inflamasi yang berat, dan terjadi peningkatan ekskresi *hepcidin* sebesar 100 kali lipat. Sedangkan pada pasien dengan penyakit inflamasi yang lebih ringan, peningkatannya lebih sedikit. Pada studi tentang efek sitokin terhadap hepatosit manusia diketahui bahwa produksi *hepcidin* dirangsang oleh lipopolisakarida dan sitokin dari monosit yang telah terpapar lipopolisakarida sebelumnya. Diantara sitokin proinflamasi tersebut, *interleukin-6* (IL-6) merupakan sitokin terkuat merangsang mRNA *hepcidin*. Infeksi dan makromolekul seperti lipopolisakarida, kemungkinan bekerja pada makrofag termasuk sel-sel *Kupfer* hati untuk merangsang produksi IL-6 dan pada gilirannya akan meningkatkan ekspresi mRNA *hepcidin* di hati.³⁷

Elmonem dkk (2009) melakukan penelitian ekspresi *hepcidin* dari jaringan hati pada pasien karsinoma hepatoseluler, hepatitis C kronik, dan pasien normal dibandingkan dengan parameter besi serum. Ekspresi mRNA *hepcidin* menurun

pada pasien hepatitis C kronik dan lebih menurun pada pasien hepatoseluler karsinoma, diduga bahwa ekspresi *hepcidin* sebagai respon terhadap status besi dan penyakit hati kronik seperti sirosis dan hepatoseluler karsinoma.³⁸ Girelli dkk (2009) melaporkan penurunan kadar *hepcidin* pada pasien hepatitis C kronik.³⁹

Eijk dkk (2011) melakukan observasi terhadap 92 pasien sepsis, berdasarkan ≥ 2 kriteria *systemic inflammatory response syndrome* (SIRS) dengan adanya sumber infeksi. Kadar *hepcidin* pada saat masuk RS didapatkan paling tinggi, dan kadar *hepcidin* menurun sampai normal setelah 3 hari perawatan. Diduga bahwa *hepcidin-25* berperan dalam terjadinya anemia pada pasien sepsis dengan inflamasi kronik.⁴⁰

2.3.5. *Hepcidin* dan Penyakit Ginjal Kronik

Hepcidin diekskresikan melalui urin dan dimetabolisme oleh ginjal. Gangguan pada kedua proses tersebut terjadi pada keadaan LFG yang menurun sehingga menyebabkan penumpukan *hepcidin* di ginjal. Pada pasien PGK terjadi peningkatan kadar *hepcidin* yang dipengaruhi oleh kelebihan cadangan besi, keadaan inflamasi, penurunan LFG.⁴³ Sedangkan kadar *hepcidin* menurun pada kondisi anemia, hipoksia, peningkatan eritropoiesis, dan defisiensi besi, pemberian ESAs^{30,41} Zaritsky dkk (2010) dan Brătescu dkk (2010) melaporkan bahwa HD mempengaruhi kadar *hepcidin* terutama pada pasien yang menjalani HD secara intensif.^{42,43}

Kemna dkk (2008) menjelaskan hubungan antara *hepcidin* dan ferritin serum pada penyakit ginjal kronik yaitu kadar dari kedua parameter tersebut terjadi peningkatan tetapi pada kondisi defisiensi besi keduanya akan menurun. Diantara keunggulan dari *hepcidin* serum adalah dapat mencerminkan ketersediaan besi dan kebutuhan eritropoiesis, dan lebih mencerminkan homeostasis besi

dibandingkan dengan masing-masing parameter seperti saturasi transferin, reseptor transferin dan CRP.¹⁵

Nemeth dkk (2003) melakukan penelitian terhadap 46 pasien PGK pre HD, *hepcidin* serum berkorelasi dengan klirens ⁵¹Cr-EDTA ($r = -0,44$; $p = 0,05$), klirens kreatinin, kreatinin serum, protein, dan *cystatin C*.⁴⁴

Panichi dkk (2001) melaporkan bahwa produksi kadar *hepcidin* meningkat dan berkorelasi negatif dengan LFG dan penurunan fungsi ginjal dan dipengaruhi oleh peningkatan molekul inflamasi, seperti *C-reactive protein* (CRP) atau IL-6.⁴⁵

Taes dkk (2004) melaporkan bahwa penumpukan kadar *hepcidin* pada penyakit ginjal berhubungan dengan klirens ⁵¹Cr-EDTA ($r = -0,44$; $p = 0,05$), klirens kreatinin, kreatinin serum, protein, dan *cystatin C*.⁴⁶

Détivaud dkk (2005) melaporkan hubungan kadar hemoglobin (Hb) dan ekspresi mRNA *hepcidin* pada manusia, yang menyokong hipotesis bahwa efek dari anemia atau hipoksia terhadap ekspresi mRNA *hepcidin* yang diteliti pada tikus. Pada keadaan anemia, kebutuhan oksigen tidak adekuat sehingga perlu diproduksi eritrosit yang lebih banyak. Mekanisme pengaturan hipoksia melalui beberapa reseptor *hypoxia inducible factor* (HIF) yang terdapat pada *hepcidin promoter* yang menghambat proses transkripsi mRNA *hepcidin* pada hepatosit.⁹

Dallalio dkk (2003) melakukan penelitian kadar *hepcidin* menggunakan pemeriksaan *Western blot*. Spesimen yang digunakan berasal dari punksi sumsum tulang dan serum untuk menentukan kadar feritin serum yang dibandingkan dengan kadar *hepcidin* serum. Dari kedua spesimen, terdapat korelasi positif yang kuat antara kadar feritin dengan kadar *hepcidin* serum.¹⁰

Malyszko dkk (2006) memperlihatkan hubungan *hepcidin* dengan fungsi ginjal, status besi dan hsCRP pada pasien PGK yang diterapi secara konservatif, pasien HD, dan pasien yang menjalani transplantasi ginjal. Pada ketiga kelompok

pasien, didapatkan korelasi yang bermakna antara *hepcidin* dengan fungsi ginjal. Kadar feritin dan *hepcidin* lebih tinggi pada pasien HD, transplantasi ginjal dan PGK dibandingkan dengan pasien kontrol. Tidak terdapat korelasi antara kadar *hepcidin* dengan feritin dan saturasi transferin. Peningkatan kadar *hepcidin* pada pasien PGK bukan hanya karena gangguan fungsi ginjal, tetapi juga pengaruh inflamasi. Malyszko dkk (2007) melaporkan bahwa peningkatan kadar CRP pada pasien PGK dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu kondisi uremia, penyakit yang mendasari, penurunan fungsi ginjal^{11,47}

Tomosugi dkk (2006) melakukan pemeriksaan *hepcidin* serum secara semikuantitatif menggunakan metode *surface enhanced laser desorption ionization time of flight mass spectrometry* (SELDI-TOF MS). Pada studi yang dilakukan tersebut mendapatkan peningkatan kadar *hepcidin-25* pada pasien HD. Kadar *hepcidin-25* berhubungan dengan feritin serum dan IL-6. Kadar *hepcidin* juga mengalami peningkatan pada kadar feritin normal. Peningkatan kadar *hepcidin* pasien HD 2 – 3 kali lipat lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol. Kadar *hepcidin-25* berkurang selama HD pada beberapa pasien, tetapi penyebabnya belum jelas.¹²

Pada penelitian Zaritsky dkk (2009) menguji hubungan *hepcidin* serum dengan indikator anemia, status besi, inflamasi dan fungsi ginjal. Pada PGK stadium 2 – 4, feritin dan reseptor transferin berbanding lurus dengan *hepcidin*, tetapi berbanding terbalik dengan LFG. Sedangkan pada PGK stadium 5, saturasi transferin dan feritin dapat menentukan kadar *hepcidin*. Peningkatan kadar *hepcidin* berperan pada gangguan pengaturan besi dan proses eritropoesis. *Hepcidin* dapat dijadikan sebagai parameter biokimia pada anemia defisiensi besi dan salah satu penyebab terjadinya respon eritropoetin tidak adekuat.¹³

Peters dkk (2010) melaporkan 83 pasien PGK non dialisis, dan 48 pasien HD, tidak terdapat korelasi kadar *hepcidin*-25 dengan LFG ($p = 0,30$ dan $r = -0,12$). Kadar *hepcidin* pada pasien HD lebih tinggi dibandingkan dengan kadar *hepcidin* pasien PGK non dialisis. LFG bukan merupakan faktor utama yang menentukan kadar *hepcidin* pada pasien PGK.¹⁴

Kemna dkk (2008) menjelaskan hubungan antara *hepcidin* dan feritin serum pada penyakit ginjal kronik yaitu kadar dari kedua parameter tersebut terjadi peningkatan tetapi pada kondisi defisiensi besi keduanya akan menurun. Diantara keunggulan dari *hepcidin* serum adalah dapat mencerminkan ketersediaan besi dan kebutuhan eritropoiesis, dan lebih mencerminkan homeostasis besi dibandingkan dengan masing-masing parameter seperti saturasi transferin, reseptor transferin dan CRP.¹⁵

2.4. PATOGENESIS ANEMIA DEFISIENSI BESI PADA PENYAKIT GINJAL KRONIK

Tiga mekanisme penting yang dapat terjadi pada pasien PGK dengan anemia defisiensi besi disamping meningkatnya kebutuhan besi dengan pemberian *recombinant human erythropoietin* (rHuEpo) adalah :⁴⁶

2.4.1. Absorpsi besi yang tak normal

Absorpsi besi pada saluran cerna diatur oleh jumlah besi tubuh dalam *pool*, kadar eritropoetin dan kecepatan eritropoiesis. Absorpsi besi terjadi diduodenum dan jejunum proksimal yang dipengaruhi oleh asupan makanan, faktor-faktor intraluminal, aktifitas eritropoiesis, kapasitas fungsional dari sel mukosa usus dan jumlah besi dalam jaringan penyimpanan. Dengan restriksi daging yang banyak mengandung heme, maka jumlah besi yang diabsorpsi akan berkurang. Pada pasien PGK terjadi peningkatan kadar *hepcidin* akan menghambat pelepasan besi dari makrofag dan sistem retikuloendotelial sehingga terjadi retensi besi, serta

mengurangi penyerapan besi di usus sehingga terjadi disregulasi homeostasis besi. Disisi lain dengan adanya eritropoiesis yang meningkat atau dengan berkurangnya cadangan besi tubuh akan menginduksi peningkatan absorpsi besi.^{15,48}

2.4.2. Kehilangan darah

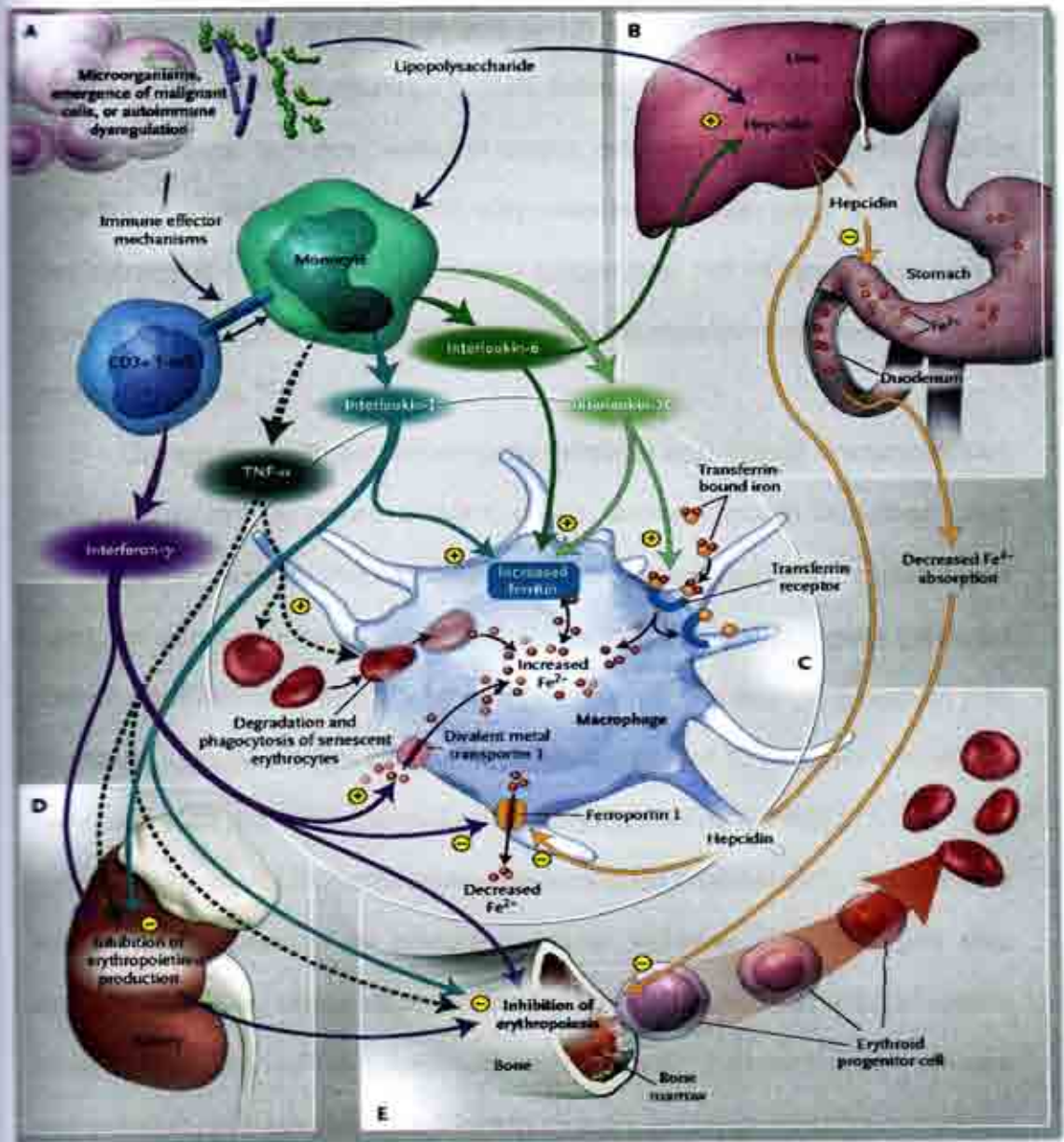
Beberapa faktor berperan dalam kehilangan darah seperti sisa darah dalam dialiser dan *blood tubing* pada setiap akhir dialisis, seringnya melakukan pemeriksaan darah, perdarahan saluran cerna tersembunyi, dan hilangnya darah dari tempat fungsi jarum saat hemodialisis. Kira-kira 1-3 g besi akan hilang pertahun akibat keadaan ini. K-DOQI menyarankan pemberian 25-100 mg besi perminggu untuk mengganti kehilangan darah ini.⁴⁸

2.4.3. Defisiensi besi fungsional

Defisiensi besi fungsional adalah keadaan dimana besi yang tersedia tidak mencukupi kebutuhan untuk eritropoiesis sedangkan cadangan besi normal atau meningkat. Hal ini terjadi karena terdapat hambatan pada sistem retikulo-endotelial yang disebabkan oleh adanya infeksi atau inflamasi. Infeksi dan inflamasi akan menginduksi pelepasan sitokin dalam sirkulasi seperti *Interleukin-1* (IL-1), *Tumor Necrosis Factor- α* (TNF- α) dan *Interleukin-6* (IL-6).⁴⁸

Mekanisme gangguan fungsi imunitas pada defisiensi besi belum diketahui. Mekanismenya diduga bersifat multifaktorial antara lain gangguan sintesis DNA akibat gangguan aktivitas enzim *ribonucleotide reductase*, penurunan produksi interleukin seperti IL-2. IL-2 merupakan sitokin yang penting untuk komunikasi antara subset limfosit dan sel *natural killer*. Th-1 lebih sensitif terhadap pemberian antibodi antitransferin reseptor dibandingkan dengan Th-2. Sehingga diduga bahwa fungsi *Th-1-mediated* lebih sensitif terhadap hemostasis besi di tubuh.⁴⁹

Penelitian kasus kontrol pada anak-anak tentang IL-2 dan IL-6 pada anemia defisiensi besi menemukan bahwa sekresi IL-2 lebih rendah pada anak-anak dengan defisiensi besi dibandingkan dengan kontrol dan kadar IL-2 menjadi normal setelah diberikan suplementasi besi ($p < 0,001$). Kadar IL-6 tidak mengalami perubahan sebelum dan setelah suplementasi ($p > 0,05$).⁵⁰



Gambar 2.5. Mekanisme patogenesis anemia penyakit kronik^{Kutip 51}

Proliferasi limfosit T menurun pada tikus dengan defisiensi besi. Produksi IL-2 dari proliferasi sel limfosit T juga menurun. Stimulasi proliferasi tersebut dilakukan secara *in vitro* dengan menggunakan *concovalin A*.⁴⁸

IL-10 mempunyai peranan yang penting dalam regulasi sistem imun dengan menghambat sekresi beberapa sitokin proinflamasi seperti IL-2, IFN- γ dan IL-12 serta menghambat proliferasi limfosit. Sekresi IL-10 ditemukan menurun pada anemia defisiensi besi dan meningkat setelah defisiensi besinya dikoreksi. Hal ini juga terjadi pada proliferasi limfosit, ditemukan lebih rendah pada defisiensi besi dan meningkat setelah dilakukan koreksi dengan besi. Hal ini menunjukkan bahwa penurunan IL-10 pada anemia defisiensi besi tidak mampu mengatasi penurunan proliferasi limfosit.⁴⁹

Gangguan proliferasi limfosit pada defisiensi besi diduga disebabkan oleh berkurangnya aktivasi *protein kinase C* (PKC). Semakin rendah kadar besi tubuh menyebabkan aktivitas PKC semakin menurun. Diduga terjadi gangguan signal transduksi akibat penurunan aktivitas PKC, sehingga terjadi gangguan proliferasi limfosit pada defisiensi besi. Gangguan PKC akan menyebabkan gangguan jalur transduksi sehingga terjadi penurunan proliferasi limfosit T. Produksi TNF- α juga berkurang pada anemia defisiensi besi akibat gangguan pada PKC.⁵²

Sitokin-sitokin ini menyebabkan berkurangnya produksi EPO endogen atau menurunkan kepekaan sel prekursor eritroid terhadap EPO endogen atau eksogen. Selain itu sitokin inflamasi meningkatkan sintesis molekul feritin melalui proses translasi mRNA. Inflamasi merangsang hiperferitinemia dengan menghambat pelepasan besi. Oleh karena itu inflamasi kronik dapat menyebabkan anemia penyakit kronik seperti pada PGK.⁵³

2.5. DIAGNOSIS ANEMIA DEFISIENSI BESI PADA PASIEN PGK

Diagnosis anemia defisiensi besi yang akurat memerlukan beberapa pemeriksaan laboratorium antara lain besi serum, TIBC, kadar feritin serum dan pengamatan langsung cadangan besi di sumsum tulang. Ada 3 komponen yang harus dibuktikan untuk menegakkan anemia defisiensi besi, yaitu adanya anemia, adanya defisiensi besi dan adanya faktor penyebab defisiensi besi.⁵⁴

Beberapa parameter yang bisa dipakai untuk menilai adanya defisiensi besi yaitu,⁵⁴

2.5.1. Indeks eritrosit dan hapusan darah tepi.

Anisositosis merupakan perubahan morfologi yang pertama kali pada anemia defisiensi besi. Dengan makin memberatnya defisiensi besi, indeks eritrosit seperti *mean corpuscular volume* (MCV), *mean corpuscular hemoglobin* (MCH) dan *mean corpuscular hemoglobin concentration* (MCHC) akan menurun. Sehingga pada hapusan darah tepi akan dijumpai gambaran eritrosit yang mikrositer hipokromik dan berbagai bentuk dan ukuran sel (anisositosis dan poikilositosis) yang menunjukkan adanya peningkatan eritropoesis yang tidak efektif sebagai respon terhadap rangsangan eritropoetin yang meningkat. Bila ditemukan anulosit, *cigar cells* atau *pencil cells* dapat dipastikan suatu anemia defisiensi besi.⁵⁴

2.5.2. Besi serum, TIBC, dan saturasi transferin

Besi serum menunjukkan jumlah besi yang diikat oleh transferin. Kadarnya pada orang normal 50-150 µg/dl. Bila kadar besi serum dibawah 50 µg/dl, sistem eritroid sumsum tulang tidak bisa meningkatkan produksinya diatas nilai basal. Pengukuran TIBC dapat mewakili kadar transferin serum karena nilainya menunjukkan jumlah besi yang mampu diikat oleh transferin. Nilai normalnya 300 - 360 µg/dl. Besi serum bersama-sama dengan TIBC digunakan untuk menghitung

saturasi transferin terhadap besi yaitu besi serum dibagi TIBC yang menunjukkan % saturasi. Pada keadaan keseimbangan besi yang normal saturasi transferin 20 – 50 %. Bila nilainya < 20 % sistem eritroid sumsum tulang kesulitan memperoleh besi yang cukup untuk meningkatkan eritropoesis.⁵⁴

2.5.3. Feritin

Kelebihan besi yang tidak dimanfaatkan lagi oleh sel akan diikat oleh apoferitin menjadi kompleks besi simpanan yang disebut dengan feritin. Sehingga pemeriksaan feritin serum digunakan untuk mengevaluasi cadangan besi total karena memberikan estimasi yang paling sesuai. Pada kadar feritin antara 15 – 500 ng/ml, tiap 1 ng/ml sebanding dengan kira-kira 8 – 10 mg cadangan besi.⁵⁴

Feritin akan meningkat sebagai respon tubuh yang tidak spesifik terhadap pengaruh sistemik dari infeksi, inflamasi, penyakit hati, dan keganasan. Pada penyakit hati feritin serum meningkat karena terjadi gangguan klirens dan akibat pelepasan feritin dari sel-sel hati yang mengalami kerusakan. Peningkatan serum pada keganasan terutama keganasan hematologi, terjadi karena sintesis langsung oleh sel-sel ganas tersebut, pengaruh reaksi inflamasi, pelepasan dari sel-sel yang rusak terutama setelah menjalani kemoterapi.⁵⁴

Nilai normal feritin bervariasi sesuai umur dan jenis kelamin. Laki-laki umumnya lebih tinggi kadarnya dibandingkan perempuan, tetapi setelah menopause kadarnya meningkat mendekati kadar laki-laki dewasa. Kadar feritin normal pada laki-laki adalah 28 – 365 ng/ml sedangkan pada perempuan 10 – 148 ng/ml.⁵⁴

2.5.4. Cadangan besi sumsum tulang.

Pengecatan besi dari aspirasi sumsum tulang dengan pengecatan *Prussian blue* atau *Pearls' stain* merupakan langkah diagnostik untuk memastikan cadangan

besi tubuh. Tetapi pemeriksaan besi sumsum tulang sangat tidak praktis dan kurang diterima karena bersifat invasif.^{54,55}

2.5.5. Diagnosis anemia defisiensi besi pada PGK

Pada anemia penyakit kronik dengan anemia defisiensi besi, kadar besi serum dan saturasi transferin menurun, dan hipoferemia menyebabkan berkurangnya penyediaan besi yang dibutuhkan untuk sintesis hemoglobin tetapi cadangan besi sumsum tulang masih cukup. Sebagai perbandingan antara anemia penyakit kronik, anemia defisiensi besi dan kondisi terdapatnya kedua jenis anemia dapat dilihat pada tabel dibawah ini.⁵¹

Tabel 2.3. Perbedaan Kadar Serum pada Anemia Penyakit Kronik dan Anemia Defisiensi Besi. ^(Kutip 51)

Variabel	Anemia penyakit kronik	Anemia defisiensi besi	Kondisi kedua anemia
Besi serum	Menurun	Menurun	Menurun
Transferin	Menurun/Normal	Menurun	Menurun
Saturasi transferin	Menurun	Menurun	Menurun
Feritin	Normal/Meningkat	Menurun	Menurun/Normal
Reseptor transferin	Normal	Meningkat	Normal / Meningkat
Rasio reseptor transferin dengan log feritin	Rendah (< 1)	Tinggi (> 2)	Tinggi (> 2)
Sitokin	Meningkat	Normal	Meningkat

Diagnosis anemia defisiensi besi pada PGK erat hubungannya dengan respon terapi terhadap pemberian rHuEpo. Feritin dan saturasi transferin masih merupakan pemeriksaan laboratorium yang penting untuk menegakkan diagnosis defisiensi besi pada pasien PGK yang mendapatkan terapi rHuEpo. Berdasarkan pemeriksaan-pemeriksaan diatas dapat dibedakan anemia defisiensi besi pada pasien PGK.^{1,56,57}

1. Anemia dengan status besi cukup : bila didapatkan kadar Hb \leq 10 g/dl, hematokrit \leq 30%, saturasi transferin $>$ 20% dan kadar feritin serum $>$ 100 ng/ml.
2. Anemia defisiensi besi absolut : bila didapatkan saturasi transferin $<$ 20% dan kadar feritin serum $<$ 100 ng/ml.
3. Anemia defisiensi besi fungsional : bila didapatkan saturasi transferin $<$ 20% dan kadar feritin serum \geq 100 ng/ml.

BAB III METODE PENELITIAN

3.1. DESAIN PENELITIAN

Desain penelitian ini adalah studi potong lintang untuk mengetahui hubungan *hepcidin* dengan feritin serum pasien anemia defisiensi besi pada penyakit ginjal kronik dan melakukan uji statistik.

3.2. TEMPAT DAN WAKTU PENELITIAN

Tempat penelitian di rawat inap bagian penyakit dalam BLU RSUP M. Djamil Padang. Waktu penelitian dimulai pada bulan Agustus 2010 - Januari 2011 dengan jadwal penelitian sebagai berikut :

Tabel 3.1. Jadwal Penelitian

Kegiatan	Agus	Sept	Okt	Nov	Des	Jan
Persiapan	x					
Penjaringan subjek		x	x	x	x	
Pengumpulan data		x	x	x	x	
Tabulasi data				x	x	x
Analisis statistik					x	x
Penulisan laporan					x	x

3.3. POPULASI DAN SAMPEL

3.3.1. POPULASI

Populasi penelitian adalah anemia defisiensi besi pada pasien penyakit ginjal kronik di rawat inap bagian penyakit dalam BLU RSUP M. Djamil Padang.

3.3.2. SAMPEL

Sampel adalah pasien anemia defisiensi besi pada PGK yang dipilih secara random sampling konsekutif dari bulan Agustus 2010 sampai tercapai jumlah yang diinginkan. Besar sampel minimal diambil berdasarkan rumus :

$$n = \frac{(Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2}{\{0,5 \ln [(1 + r) / (1 - r)]\}^2} + 3$$
$$n = \frac{(1,96 + 1,28)^2}{\{0,5 \ln [(1 + 0,5) / (1 - 0,5)]\}^2} + 3$$
$$n = 22,1$$

Sampel diambil sebanyak 25 orang

n = jumlah sampel

Z_{α} = 1,96

Z_{β} = 1,28

r = 0,5

3.4. KRITERIA INKLUSI DAN KRITERIA EKSKLUSI

3.4.1. KRITERIA INKLUSI

1. Pasien anemia defisiensi besi pada PGK berusia ≥ 14 tahun.
2. Bersedia ikut penelitian

3.4.2. KRITERIA EKSKLUSI

1. PGK stadium V yang menjalani HD.
2. Penyakit hati kronik
3. Keganasan hematologi
4. Perdarahan saluran cerna
5. Malnutrisi
6. Sepsis

3.5. VARIABEL PENELITIAN

3.5.1. Variabel Dependen : *Hepcidin serum*

3.5.2 Variabel Independen : Feritin serum, saturasi transferin, LFG.

3.6. DEFINISI OPERASIONAL

1. Penyakit ginjal kronik adalah penurunan LFG < 60 ml/menit/ $1,73$ m²
2. Perdarahan saluran cerna adalah melena, hematokezia, dan perdarahan samar saluran cerna.
3. Malnutrisi berdasarkan BMI $< 18,5$
4. Sepsis berdasarkan ≥ 2 kriteria *systemic inflammatory response syndrome* (SIRS) dengan adanya sumber infeksi.
5. Penyakit hati kronik adalah keadaan persistensi peradangan melewati rentang waktu 24 minggu karena berbagai keadaan yang menghambat perbaikan/resolusi inflamasi maupun regenerasi sel parenkim hati.
6. Keganasan hematologik adalah leukemia, myeloma multipel, limfoma maligna dan penyakit mieloproliferatif.
7. LFG berdasarkan formula *Cockcroft-Gault* :

$$\text{TKK (ml/menit)} = \frac{(140 - \text{umur}) \times \text{Berat Badan (kg)}}{72 \times \text{kreatinin serum}} \times 0,85 \text{ (perempuan)}$$

8. Stadium PGK :
 - Stadium 3 : LFG 30 – 59 ml/menit/ $1,73$ m²
 - Stadium 4 : LFG 15 – 29 ml/menit/ $1,73$ m²
 - Stadium 5 : LFG < 15 ml/menit/ $1,73$ m²
9. Kriteria anemia : laki-laki Hb $< 13,5$ g/dl, perempuan Hb < 12 g/dl.
10. Derajat anemia dibagi menjadi :
 - Anemia ringan Hb 8 g/dl – *cut off point*

- Anemia sedang Hb 6 – 7,9 g/dl
- Anemia berat Hb < 6 g/dl

11. Besi serum adalah kadar besi dalam serum diperiksa secara *immunolumniscence*.

12. TIBC adalah kemampuan transferin untuk mengikat besi yang diperiksa secara *colorimetric*.

13. Saturasi transferin (%) yaitu $\frac{\text{Besi serum}}{\text{TIBC}} \times 100 \%$

14. Feritin serum adalah kadar feritin serum diperiksa dengan secara ELISA. Kadar feritin normal pada laki-laki adalah 28 – 365 ng/ml sedangkan pada perempuan 10 – 148 ng/ml.

15. Anemia defisiensi besi : bila didapatkan saturasi transferin < 20%

16. CRP merupakan protein darah yang terikat dengan C-polisakarida, pentamer 120 kDa. Penilaian CRP secara kualitatif dengan teknik imunopresipitasi

17. *Hepcidin* serum adalah kadar *hepcidin-25* serum yang diperiksa secara ELISA dengan menggunakan *DRG instruments GmbH (Marburg, Germany)*. Kadar *hepcidin* normal 3,85 – 140 ng/ml dan batas deteksi 0,9 ng/ml.

17. PROTOKOL PENELITIAN

1. Semua penderita yang memenuhi syarat diikutkan dalam penelitian dan secara sukarela menandatangani surat pernyataan persetujuan mengikuti penelitian.
2. Penderita yang memenuhi kriteria inklusi dicatat nama, umur, jenis kelamin, penyakit dasar.
3. Dilakukan pemeriksaan laboratorium: Hb, Besi serum, TIBC, feritin, ureum, kreatinin, CRP, *hepcidin*.

4. Sampel darah untuk pemeriksaan *hepcidin* dalam tabung plain 5 cc, didiamkan 30 – 45 menit hingga darah beku, segera sentrifuge 3000 rpm 15 menit, segera pisahkan serum masukkan kedalam 3 sampel cup @ 0,5 cc serum (beri identitas, nama subyek, tanggal, jenis pemeriksaan), dan disimpan pada suhu -20°C .

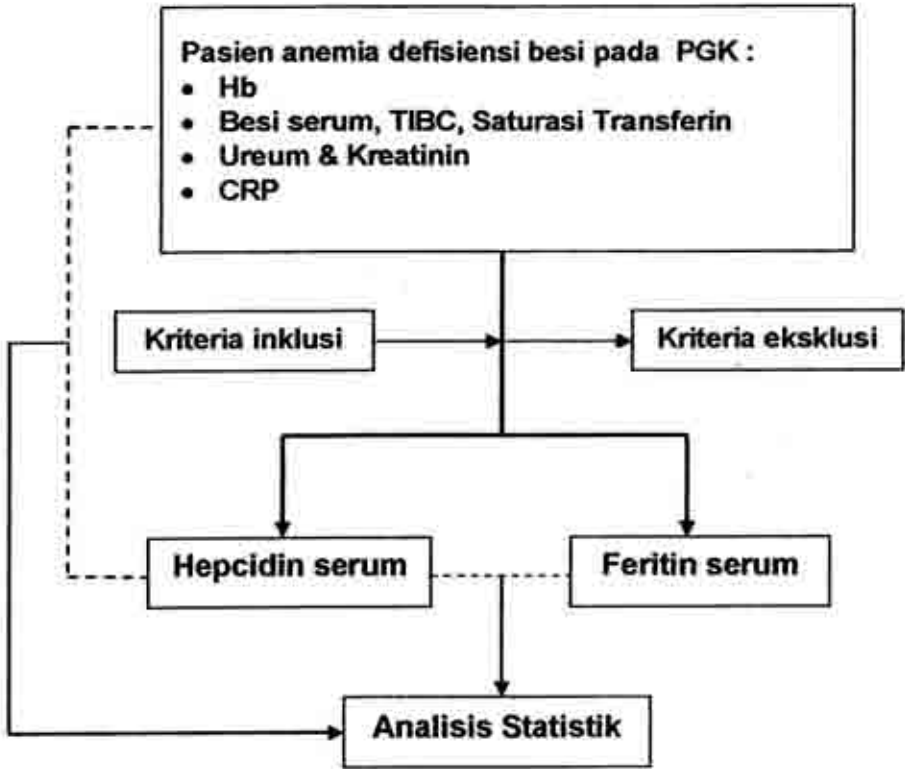
3.8. ANALISIS STATISTIK DAN PENYAJIAN DATA

Semua data dikumpulkan dan ditabulasi kemudian dilakukan analisis statistik dengan program SPSS for windows 16. Interval kepercayaan diset pada 95%. Analisis data secara statistik untuk menentukan kemaknaan hubungan antara setiap parameter. Nilai $p < 0,05$ menunjukkan korelasi yang bermakna antara dua variabel yang diuji.

Data kategorik disajikan dalam frekuensi dan ditampilkan dalam bentuk tabel dan grafik. Pengujian perbedaan rerata antara dua kelompok subjek digunakan uji-t independen.

Hubungan antara 2 variabel numerik sebaran data normal dinyatakan dalam koefisien korelasi Pearson (r) dan dapat dihitung pula nilai p -nya. Uji korelasi Spearman digunakan sebagai alternatif uji korelasi Pearson, jika syarat uji Pearson tidak terpenuhi. Korelasi mutlak akan memberikan nilai $r = 1$, sangat kuat (0,8 – 1,0), kuat (0,6 – 0,799), sedang (0,4 – 0,599), lemah (0,0 – 0,399). Arah korelasi positif menunjukkan semakin besar nilai satu variabel semakin besar pula nilai variabel lainnya. Sedangkan korelasi negatif menunjukkan semakin besar nilai satu variabel, semakin kecil nilai variabel lainnya. Data disajikan dalam bentuk *scatter plot* atau diagram baur.

3.9. KERANGKA PENELITIAN



Gambar 3.1. Kerangka Penelitian

BAB IV

HASIL PENELITIAN

Telah dilakukan penelitian terhadap pasien PGK di rawat inap bagian penyakit dalam BLU RSUP dr. M. Djamil Padang selama 4 bulan, dari bulan September 2010 sampai dengan Januari 2011. Terdapat 25 orang penderita anemia defisiensi besi pada PGK yang ikut dalam penelitian.

4.1. Karakteristik Pasien PGK

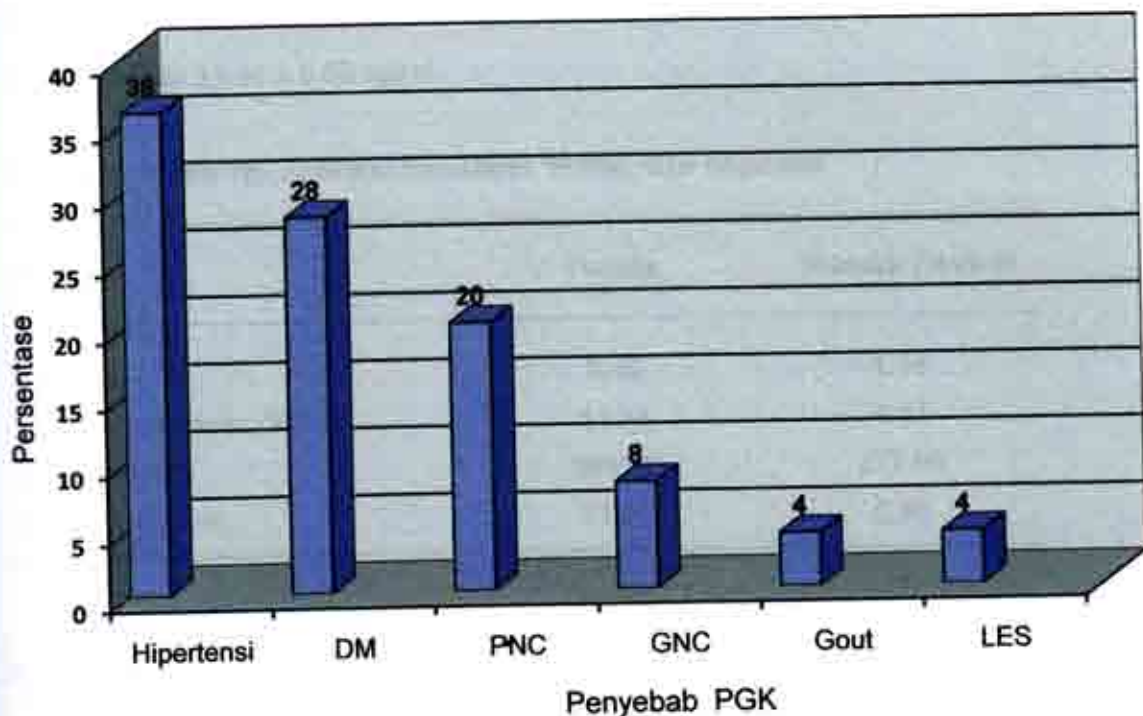
Pada penelitian ini didapatkan karakteristik dari 25 orang pasien PGK seperti terlihat pada tabel 4.1. Berdasarkan distribusi jenis kelamin didapatkan perempuan sebesar 56 % sedangkan laki-laki 44 %.

Tabel 4.1. Karakteristik Pasien PGK

Karakteristik	n	%
Jenis Kelamin		
• Laki-laki	11	44
• Perempuan	14	56
Umur		
• ≤ 19 tahun	1	4
• 20 – 29 tahun	2	8
• 30 – 39 tahun	2	8
• 40 – 49 tahun	5	20
• 50 – 59 tahun	7	28
• ≥ 60 tahun	8	32
Diagnosis penyebab		
• HT	9	36
• DM	7	28
• PNC	5	20
• GNC	2	8
• Gout	1	4
• LES	1	4
Derajat anemia		
• Anemia ringan	17	68
• Anemia sedang - berat	8	32
LFG		
• Stadium 3 – 4	7	32
• Stadium 5	18	68
CRP		
• Positif	21	84
• Negatif	4	16

Pada penelitian ini didapatkan umur yang terbanyak adalah ≥ 60 tahun (32 %). Rentang umur adalah 14 tahun – 87 tahun dengan rerata umur pasien PGK adalah 51,5 tahun.

Penyebab PGK pada penelitian ini adalah hipertensi (36 %), diabetes mellitus (DM)(28 %), pielonefritis kronik (PNC) (20 %), glomerulonefritis kronik (GNC) (8 %), gout dan lupus eritematosus sistemik (LES) masing-masing 4 %.



Gambar 4.1. Grafik Persentase Penyebab PGK

Berdasarkan klasifikasi stadium PGK, didapatkan stadium 5 sebesar 68 % dan stadium 3 – 4 (32 %). Selain itu pada penelitian ini didapatkan kadar CRP positif sebesar 84 %, sedangkan CRP negatif (16 %).

4.2. Kadar Hb, Saturasi transferin, feritin dan hepcidin

Rentang kadar Hb berkisar antara 5,3 g/dl – 11 g/dl dengan rerata kadar Hb $8,46 \pm 1,54$ g/dl. Berdasarkan derajat anemia didapatkan anemia ringan (68 %) dan anemia sedang – berat (32 %).

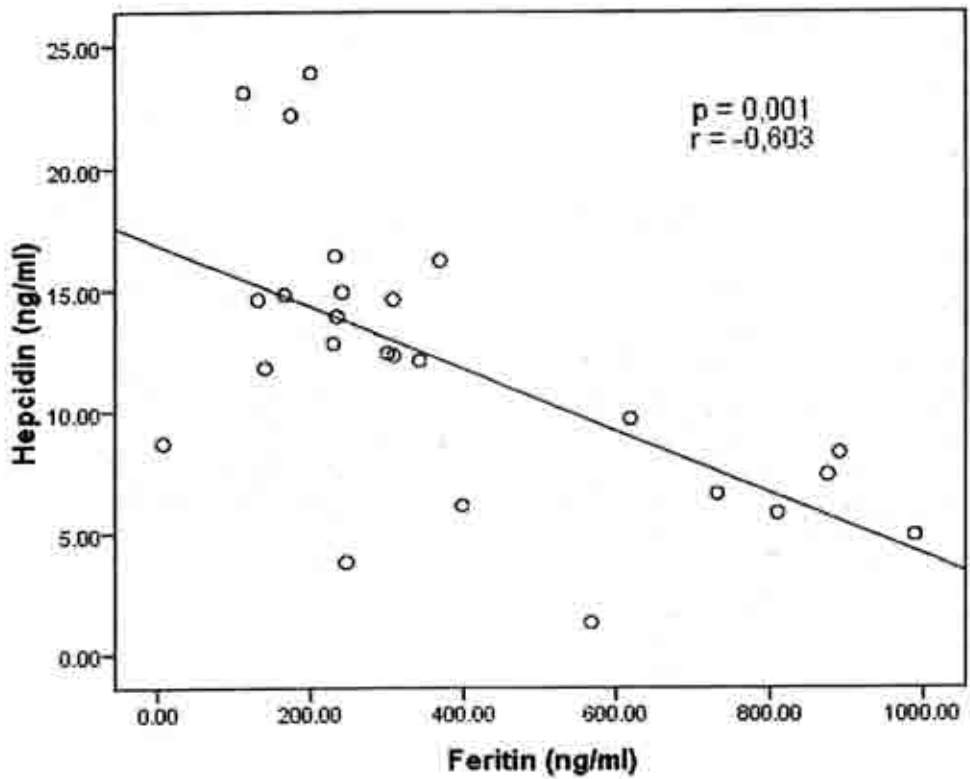
Pada penelitian ini didapatkan rerata persentase saturasi transferin $11,74 \pm 4,52$ %. Rerata kadar feritin adalah $385,22 \pm 277,69$ ng/ml. Sedangkan rerata kadar hepcidin $11,94 \pm 5,86$ ng/ml.

Tabel 4.2. Kadar Hb, saturasi transferin, feritin, dan hepcidin

Variabel	Rerata	Standar Deviasi
Hb (g/dl)	8,46	1,54
Saturasi transferin (%)	11,74	4,52
Feritin (ng/ml)	385,22	277,69
Hepcidin (ng/ml)	11,94	5,86

4.3. Hubungan hepcidin dengan feritin serum pasien anemia defisiensi besi pada PGK.

Pada penelitian ini memperlihatkan hubungan kadar hepcidin dengan feritin. Terdapat korelasi negatif dan korelasi kuat yang bermakna secara statistik antara kadar hepcidin dengan feritin serum pasien anemia defisiensi besi pada PGK ($p = 0,001$ dan $r = - 0,603$).



Gambar 4.2. Hubungan hepcidin dengan ferritin

4.4. Hubungan *hepcidin* dengan derajat anemia pasien anemia defisiensi besi pada PGK.

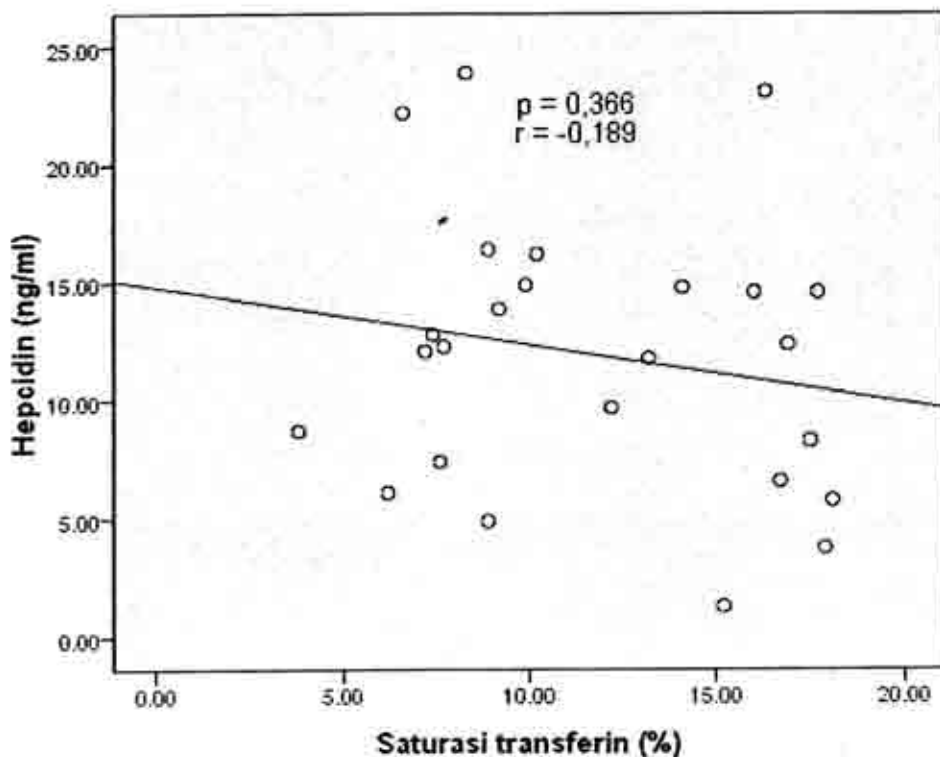
Pada penelitian ini didapatkan rerata kadar *hepcidin* dengan anemia ringan $12,44 \pm 5,57$ ng/ml dan kadar *hepcidin* dengan anemia sedang - berat $10,88 \pm 6,71$ ng/ml. Terdapat korelasi positif dan tidak bermakna secara statistik antara kadar *hepcidin* serum dengan derajat anemia pasien anemia defisiensi besi pada PGK ($p = 0,580$, $p > 0,05$).

Tabel 4.3. Hubungan hepcidin dengan derajat anemia

Variabel	Derajat anemia	n	Rerata (ng/ml)	Standar deviasi	Nilai P
Hepcidin	Anemia ringan	17	12,44	5,57	0,580
	Anemia sedang – berat	8	10,88	6,71	

4.5. Hubungan *hepcidin* dengan saturasi transferin pasien anemia defisiensi besi pada PGK.

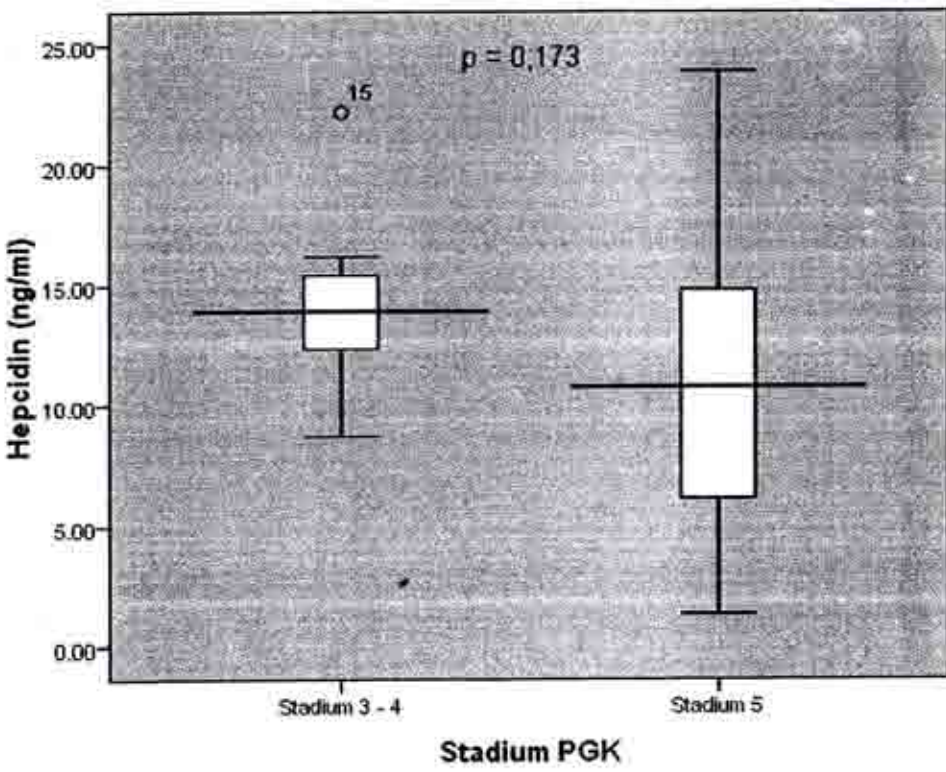
Penelitian ini memperlihatkan hubungan kadar *hepcidin* dengan saturasi transferin. Terdapat korelasi negatif dan korelasi lemah yang tidak bermakna secara statistik antara kadar *hepcidin* dengan saturasi transferin pasien anemia defisiensi besi pada PGK ($p = 0,366$ dan $r = -0,189$).



Gambar 4.3. Hubungan *hepcidin* dengan saturasi transferin

4.6. Hubungan *hepcidin* dengan stadium PGK pasien anemia defisiensi besi pada PGK.

Penelitian ini memperlihatkan hubungan kadar *hepcidin* dengan stadium PGK. Terdapat korelasi positif dan tidak bermakna secara statistik antara kadar *hepcidin* dengan stadium PGK pasien anemia defisiensi besi pada PGK ($p = 0,173, p > 0,05$).



Gambar 4.4. Hubungan *hepcidin* dengan stadium PGK

BAB V

PEMBAHASAN

5.1. Karakteristik Pasien PGK

Berdasarkan distribusi jenis kelamin didapatkan perempuan sebesar 56 % sedangkan laki-laki 44 %. Suega (2005) melaporkan perempuan (69 %), sedangkan laki-laki 31 % pada pasien PGK non dialisis. Data registrasi ginjal Indonesia (2007) melaporkan pasien HD, didapatkan jenis kelamin laki-laki 56,3 %, dan perempuan 43,7 %. Sebaliknya data registrasi ginjal Indonesia (2007) melaporkan pada pasien HD, didapatkan jenis kelamin laki-laki 56,3 %, dan perempuan 43,7 %.^{58,59}

Pada penelitian ini umur yang terbanyak adalah ≥ 60 tahun sebesar 32 %. Rentang umur berkisar antara 14 – 87 tahun dan rerata umur pasien PGK adalah 51,5 tahun. Suega dkk (2005) melaporkan hasil yang sama pada pasien non dialisis adalah berumur 50 - 59 tahun sebesar 30,7 %. Data registrasi ginjal Indonesia (2007) mendapatkan umur yang terbanyak pada pasien HD adalah 51 – 60 tahun sebesar 25,3 %.^{58,59}

Penyebab PGK pada penelitian ini adalah hipertensi (36 %), diabetes DM 28 %, PNC 20 %, GNC 8 %, gout dan LES masing-masing 4 %. Afshar dkk (2009) melaporkan penyebab dari PGK adalah DM (49,1%), hipertensi (28,3 %), penyakit glomerular (17,1 %) dan penyakit ginjal polikistik (5,6 %).⁶⁰ Data registrasi ginjal Indonesia (2007) melaporkan penyebab PGK yang menjalani HD yang terbanyak adalah GNC (26,6 %), DM (22,3 %), Hipertensi (21,3 %).⁵⁹

Klasifikasi stadium PGK berdasarkan LFG dengan menggunakan formula *Cockcroft-Gault*, didapatkan stadium 5 sebesar 68 % dan stadium 3 – 4 (32 %). Anemia terjadi pada awal perkembangan penyakit ginjal dan sejalan dengan

gangguan fungsi ginjal. Beberapa penelitian yang menunjukkan hubungan antara kadar Hb dengan fungsi ginjal dan anemia mulai terjadi bila LFG < 60 ml/menit/1,73 m².^{2,3}

Pada penelitian ini didapatkan kadar CRP positif sebesar 84 %, sedangkan CRP negatif (16 %). Malyszko dkk (2007) melaporkan bahwa peningkatan kadar CRP pada pasien PGK dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu kondisi uremia, penyakit yang mendasari, penurunan fungsi ginjal.⁴⁷

5.2. Kadar Hb, saturasi transferin, feritin, dan hepcidin

Anemia pada penelitian ini berdasarkan kriteria KDOQI dan NKF. Kadar Hb berkisar antara 5,3 g/dl – 11 g/dl dengan rerata kadar Hb 8,46 ± 1,54 g/dl. Suega dkk (2005) melaporkan diantara 52 pasien PGK didapatkan rerata kadar Hb 9,3 ± 2,7 g/dl.⁵⁷ Afshar dkk (2009) melaporkan anemia pada pasien HD dan non dialisis, didapatkan rerata kadar Hb adalah 10,27 g/dl dan 11,11 g/dl.⁶⁰

Pada penelitian didapatkan rerata persentase saturasi transferin 11,74 ± 4,52 %. Berdasarkan kriteria KDOQI dan NKF dapat dibedakan anemia defisiensi besi pada pasien PGK dengan kadar saturasi transferin < 20 %. Salah satu penelitian besar, *The Third National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES III) (1988 - 1994, memeriksa lebih dari 15.000 orang pada populasi umum di AS, 38,3 % dari 3453 pasien anemia dengan LFG antara 20 – 60 ml/menit/1,73 m² memiliki saturasi transferin < 20 %. Prevalensi anemia dengan LFG 30 – 59 ml/menit/1,73 m² sebesar 1 %, LFG 15 - 29 ml/menit/1,73 m² (9 %), dan LFG < 15 ml/menit/1,73 m² masing-masing 33 % pada laki-laki dan 67 % perempuan.³

Kazmi dkk (2001) menemukan serum kreatinin pada pasien PGK ≤ 2 mg/dl adalah sebesar 45 %. Prevalensi defisiensi besi (saturasi transferin < 20 %) adalah 54 %. Tiga puluh delapan persen pasien PGK dengan serum kreatinin $3,2 \pm 1,6$ mg/dl (LFG $22,3 \pm 8,9$ ml/menit/ $1,73$ m²) dengan hematokrit 30 % pada kunjungan pertama dengan konsultan ginjal.⁴

Rerata kadar feritin adalah $385,22 \pm 277,69$ ng/ml. Peningkatan kadar feritin pada penelitian ini dipengaruhi oleh adanya infeksi atau inflamasi. Rambod dkk (2008) melakukan penelitian terhadap 789 pasien HD rutin, didapatkan kadar feritin > 500 ng/ml yang berhubungan dengan inflamasi.⁶¹

Pada penelitian ini didapatkan rerata kadar *hepcidin* adalah normal ($11,94 \pm 5,86$ ng/ml). Hal ini berhubungan dengan anemia, dan hipoksia. Pada penelitian ini derajat anemia dibagi menjadi anemia ringan, anemia sedang, dan anemia berat. Rerata kadar *hepcidin* dengan anemia sedang-berat lebih rendah dibandingkan kadar *hepcidin* dengan anemia sedang, walaupun tidak bermakna secara statistik.

5.3. Hubungan *hepcidin* dengan feritin serum pasien anemia defisiensi besi pada PGK.

Pada penelitian ini memperlihatkan hubungan kadar *hepcidin* dengan feritin. Terdapat korelasi negatif dan korelasi kuat yang bermakna secara statistik antara kadar *hepcidin* dengan feritin serum pasien anemia defisiensi besi pada PGK. Kadar *hepcidin* didapatkan dalam batas normal, sedangkan kadar feritin lebih tinggi dari nilai standar. Pada pasien PGK terjadi peningkatan kadar *hepcidin* yang dipengaruhi oleh cadangan besi meningkat, keadaan inflamasi, penurunan LFG.¹³ Sedangkan kadar *hepcidin* menurun pada kondisi anemia, hipoksia, pemberian ESAs. Mekanisme pengaturan hipoksia melalui beberapa reseptor

hypoxia inducible factor (HIF) yang terdapat pada *hepcidin promoter* yang menghambat proses transkripsi mRNA *hepcidin* pada hepatosit.³⁰

Pada anemia penyakit kronik seperti anemia pada PGK terjadi gangguan metabolisme besi yang khas yaitu hipoferemia dengan cadangan besi sumsum tulang normal atau meningkat. Keadaan dimana besi yang tersedia tidak mencukupi kebutuhan untuk eritropoiesis sedangkan cadangan besi normal atau meningkat yang disebut defisiensi besi fungsional. Hal ini terjadi karena terdapat hambatan pada sistem retikulo-endotelial yang disebabkan oleh adanya infeksi atau inflamasi. Infeksi dan inflamasi akan menginduksi pelepasan sitokin dalam sirkulasi seperti *Interleukin-1* (IL-1), *Tumor Necrosis Factor- α* (TNF- α) dan *Interleukin-6* (IL-6).⁴⁸

Ashby dkk (2010) melaporkan penekanan ekspresi *hepcidin* disebabkan oleh karena proses eritropoesis karena meningkatnya aktivitas sumsum tulang. Selama 1 minggu penelitian, subjek penelitian yang sehat mendapat injeksi eritropoetin subkutan dosis tunggal 5000 unit dan terjadi penurunan kadar *hepcidin* 24 jam setelah penyuntikan. Penelitian sebelumnya, Ashby dkk (2009) menunjukkan pemberian eritropoetin pada pasien PGK juga menurunkan kadar *hepcidin* serum.^{62,63}

Dallalio dkk (2003) melakukan penelitian kadar *hepcidin* menggunakan pemeriksaan *Western blot*. Spesimen yang digunakan berasal dari punksi sumsum tulang dan serum untuk menentukan kadar feritin serum yang dibandingkan dengan kadar *hepcidin* serum. Dari kedua spesimen, terdapat korelasi positif yang kuat antara kadar feritin dengan kadar *hepcidin* serum.¹⁰

Malyszko dkk (2006) memperlihatkan hubungan *hepcidin* dengan fungsi ginjal, status besi dan hsCRP pada pasien PGK yang diterapi secara konservatif, pasien HD, dan pasien yang menjalani transplantasi ginjal. Pada ketiga kelompok pasien, didapatkan korelasi yang bermakna antara *hepcidin* dengan fungsi ginjal. Kadar feritin dan *hepcidin* lebih tinggi pada pasien HD, transplantasi ginjal dan PGK dibandingkan dengan pasien kontrol. Tidak terdapat korelasi antara kadar *hepcidin* dengan feritin dan saturasi transferin. Peningkatan kadar *hepcidin* pada pasien PGK bukan hanya karena gangguan fungsi ginjal, tetapi juga pengaruh inflamasi.¹¹

Tomosugi dkk (2006) melakukan pemeriksaan *hepcidin* serum secara semikuantitatif menggunakan metode *surface enhanced laser desorption ionization time of flight mass spectrometry* (SELDI-TOF MS). Pada studi yang dilakukan tersebut mendapatkan peningkatan kadar *hepcidin-25* pada pasien HD. Kadar *hepcidin-25* berhubungan dengan feritin serum dan IL-6. Kadar *hepcidin* juga mengalami peningkatan pada kadar feritin normal. Peningkatan kadar *hepcidin* pasien HD 2 – 3 kali lipat lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol. Kadar *hepcidin-25* berkurang selama HD pada beberapa pasien, tetapi penyebabnya belum jelas.¹²

Kemna dkk (2008) menjelaskan hubungan antara *hepcidin* dan feritin serum pada penyakit ginjal kronik yaitu kadar dari kedua parameter tersebut terjadi peningkatan tetapi pada kondisi defisiensi besi keduanya akan menurun. Diantara keunggulan dari *hepcidin* serum adalah dapat mencerminkan ketersediaan besi dan kebutuhan eritropoesis, dan lebih mencerminkan homeostasis besi dibandingkan dengan masing-masing parameter seperti saturasi transferin, reseptor transferin dan CRP.¹⁵

5.4. Hubungan *hepcidin* dengan derajat anemia pasien anemia defisiensi besi pada PGK.

Pada penelitian ini didapatkan rerata kadar *hepcidin* dengan anemia ringan $12,44 \pm 5,57$ ng/ml dan kadar *hepcidin* dengan anemia sedang - berat $10,88 \pm 6,71$ ng/ml. Terdapat korelasi positif yang tidak bermakna secara statistik antara kadar *hepcidin* serum dengan derajat anemia yang mengalami anemia defisiensi besi pada PGK.

Détivaud dkk (2005) melaporkan hubungan kadar Hb dan ekspresi mRNA *hepcidin* pada manusia, yang menyokong hipotesis bahwa efek dari anemia atau hipoksia terhadap ekspresi mRNA *hepcidin* yang diteliti pada tikus. Anemia dan hipoksia mengurangi ekspresi *hepcidin* di hati.^{9,30}

Nicholas dkk (2002) melakukan penelitian terhadap tikus percobaan yang menunjukkan bahwa tikus yang mengalami anemia terjadi penurunan kadar mRNA *hepcidin*. Selain itu hipoksia dapat menurunkan transkripsi kadar *hepcidin* pada sel hepatoma HepG2 dan Hep3B manusia. Peningkatan absorpsi besi di usus pada kondisi anemia dan hipoksia^a berhubungan dengan penurunan kadar *hepcidin*.³⁰

Pada studi Nicolas dkk (2002) dibuatlah model tikus percobaan transgenik dengan ekspresi *hepcidin* berlebihan. Model transgenik tersebut menunjukkan kadar besi tubuh dan anemia mikrositik yang berat, sedangkan fetusnya mati pada masa perinatal dengan anemia defisiensi besi yang berat. Sehingga peneliti menyimpulkan bahwa *hepcidin* merupakan suatu pengaturan negatif ambilan besi di usus serta pelepasan besi dari makrofag (sehingga terjadi retensi besi di makrofag).⁶⁴

Pak dkk (2006) melakukan penelitian terhadap tikus percobaan yang dibagi menjadi 3 kelompok yaitu kelompok 1 yang diberikan penghambat eritropoetin, kelompok 2 yang dilakukan plebotomi, dan kelompok 3 yang diberikan eritropoetin. Pada tikus percobaan, *hepcidin-1* dihambat oleh plebotomi dan pemberian eritropoetin tetapi penghambat eritropoetin bekerja sebaliknya. Penurunan kadar *hepcidin* diperlukan dalam proses eritropoesis. Proses ini secara tidak langsung diperantarai oleh anemia, hipoksia, dan eritropoetin.⁶⁵

5.5. Hubungan *hepcidin* dengan saturasi transferin pasien anemia defisiensi besi pada PGK.

Penelitian ini memperlihatkan hubungan kadar *hepcidin* dengan saturasi transferin. Terdapat korelasi negatif dan korelasi lemah yang tidak bermakna secara statistik antara kadar *hepcidin* dengan saturasi transferin pasien anemia defisiensi besi pada PGK. Berdasarkan pemeriksaan-pemeriksaan dapat dibedakan anemia defisiensi besi pada pasien PGK. Anemia defisiensi besi fungsional bila didapatkan saturasi transferin < 20% dan kadar ferritin serum normal atau meningkat.

Pada penelitian Zaritsky dkk (2009) melaporkan bahwa pada PGK stadium 2 – 4, kadar ferritin dan reseptor transferin berbanding lurus dengan kadar *hepcidin*. Sedangkan pada PGK stadium 5, saturasi transferin dan ferritin dapat menentukan kadar *hepcidin*.¹³

Zaritsky dkk (2010) menyimpulkan bahwa persentase saturasi transferin dapat memprediksi kadar *hepcidin* pada pasien PGK yang menjalani dialisis peritoneal.³⁸

5.6. Hubungan *hepcidin* dengan stadium PGK pasien anemia defisiensi besi pada PGK.

Penelitian ini memperlihatkan hubungan kadar *hepcidin* dengan stadium PGK. Terdapat korelasi positif dan tidak bermakna secara statistik kadar *hepcidin* dengan stadium PGK pasien anemia defisiensi besi pada PGK.

Zaritsky dkk (2009) menemukan hubungan yang terbalik antara kadar *hepcidin* dengan LFG pada pasien PGK stadium 2 – 4. *Hepcidin* diekskresikan melalui urin dan dimetabolisme oleh ginjal. Gangguan pada kedua proses tersebut terjadi pada keadaan LFG yang menurun sehingga menyebabkan penumpukan *hepcidin* di ginjal.¹³

Peters dkk (2010) melaporkan 83 pasien PGK non dialisis, dan 48 pasien HD, tidak terdapat korelasi kadar *hepcidin*-25 dengan LFG ($p = 0,30$ dan $r = -0,12$). Kadar *hepcidin* pada pasien HD lebih tinggi dibandingkan dengan kadar *hepcidin* pasien PGK non dialisis. LFG bukan merupakan faktor utama yang menentukan kadar *hepcidin* pada pasien PGK.¹⁴

Panichi dkk (2001) melaporkan bahwa produksi kadar *hepcidin* meningkat dan berkorelasi negatif dengan LFG dan penurunan fungsi ginjal dan dipengaruhi oleh peningkatan molekul inflamasi, seperti *C-reactive protein* (CRP) atau IL-6.⁴⁴

Taes dkk (2004) melaporkan bahwa penumpukan *hepcidin* pada penyakit ginjal berhubungan dengan klirens ⁵¹Cr-EDTA ($r = -0,44$; $p = 0,05$), klirens kreatinin, kreatinin serum, β -trace protein, dan *cystatin C*.⁴⁵

5.7. Keterbatasan Penelitian

Pada penelitian ini tidak dilakukan pemeriksaan kadar eritropoetin sebagai parameter anemia defisiensi eritropoetin yang merupakan penyebab anemia terbanyak pada PGK.

BAB VI

PENUTUP

6.1. Kesimpulan

1. Pada pasien anemia defisiensi besi pada PGK didapatkan rerata kadar *hepcidin* normal sedangkan kadar feritin lebih tinggi dari nilai standar.
2. Terdapat korelasi negatif dan korelasi kuat yang bermakna secara statistik antara kadar *hepcidin* dengan feritin serum pasien anemia defisiensi besi pada PGK.
3. Terdapat korelasi positif yang tidak bermakna secara statistik antara kadar *hepcidin* serum dengan derajat anemia pasien anemia defisiensi besi pada PGK.
4. Terdapat korelasi negatif dan korelasi lemah yang tidak bermakna secara statistik antara kadar *hepcidin* dengan saturasi transferin pasien anemia defisiensi besi pada PGK.
5. Terdapat korelasi positif dan tidak bermakna secara statistik antara kadar *hepcidin* dengan stadium PGK pasien anemia defisiensi besi pada PGK.

6.2. Saran

1. Pemberian pemeriksaan kadar feritin serum dalam penatalaksanaan anemia defisiensi besi pada PGK.
2. Perlu penelitian lebih lanjut dengan jumlah sampel yang lebih besar untuk mengetahui lebih jelas peran *hepcidin* dalam patogenesis anemia defisiensi besi pada PGK.

DAFTAR PUSTAKA

1. Perhimpunan Nefrologi Indonesia (Pemefri). Konsensus manajemen anemia pada pasien gagal ginjal kronik, 2001.
2. Artz AS, Fergusson D, Drinka PJ et al. Mechanisms of unexplained anemia in the nursing home. *J Am Geriatr Soc* 2004;52:423–427.
3. Astor BC, Muntner P, Levin A et al. Association of kidney function with anemia: the Third National Health and Nutrition Examination Survey (1988–1994). *Arch Intern Med* 2002 ;162:1401–1408
4. Kazmi WH, Kausz AT, Khan S et al. Anemia: an early complication of chronic renal insufficiency. *Am J Kidney Dis* 2001; 38: 803–812.
5. Garneata L. Intravenous iron, inflammation, and oxidative stress : is iron a friend or an enemy of uremic patients. *J of Ren Nutrit*, Vol 18, No 1 (January), 2008: 40 – 45.
6. Pigeon C, Ilyin G, Courselaud B et al . A new mouse liver specific gene, encoding a protein homologous to human antimicrobial peptide hepcidin is overexpressed during iron overload. *J Biol Chem* 2001;276:7811-7819.
7. Park CH, Valore EV, Waring AJ et al. Hepcidin, a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver. *J Biol Chem* 2001; 276: 7806-7810.
8. Krause A Neitz S, Magert HJ Et al. LEAP-1 a novel highly disulfide-bonded human peptide exhibits antimicrobial activity. *FEBS Lett* 2000;480:147-150.
9. Détivaud L, Nemeth E, Boudjema K et al. Hepcidin levels in humans are correlated with hepatic iron stores, hemoglobin levels, and hepatic function, *Blood*, 2005; 106: 746 – 748.
10. Nicolas G. The gene encoding the iron regulatory peptide hepcidin is regulated by anemia, hypoxia, and inflammation. *J Clin Invest* 2002; 110: 1037-1044.
11. Malyszko J, Malyszko JS, Pawlak K et al. Hepcidin, iron status, and renal function in chronic renal failure, kidney transplantation and hemodialysis. *Am J Hematol* 2006; 81: 832-837.
12. Tomosugi N, Kawabata H, Wakatabe R et al. Detection of serum hepcidin in renal failure and inflammation by using ProteinChip system. *Blood* 2006;108:1381-1387.
13. Zaritsky J, Young B, Wang HJ et al. Hepcidin a potential novel biomarker for iron status in chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009;4:1051 – 1056.

14. Peters HPE, Laarakkers CMM, Swinkels DW et al. Serum hepcidin-25 levels in patients with chronic kidney disease are independent of glomerular filtration rate. *Nephrol Dial Transplant* 2010; 25: 848–853
15. Kemna EHJM, Kartikasari AER, Van Tits LHJ et al. Regulation of hepcidin: insight from biochemical analysis on human serum sample. *Blood Cells Mol Dis* 2007;40:339-346
16. National Kidney Foundation. NKF-K/DOQI clinical practice guidelines for anemia of chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 2006;47(suppl 3):S1–S145.
17. Fleming RE, Sly WS. Hepcidin : a putative iron regulatory hormone relevant to hereditary hemochromatosis and the anemia of chronic disease. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2001; 98: 8160-8162.
18. Andrews NC. Iron deficiency and related disorders. In: Greer GM, Paraskevas F, Glader B, editors. *Wintrobe's Clinical Hematology*. 11th ed. Philadelphia: Lippincott, Williams, Wilkins 200 : 947-1009.
19. Brittenham GM. Disorders of iron metabolism iron deficiency and overload. In: Hoffman R Benz EJ, Shattil SJ, Fune B et al, editors. *Hematology: basic principles and practice* 2nd edn. New York: ChurchillLivingstone-1995 : 492-517.
20. Andrews NC. Disorders of iron metabolism. *N Engl J Med* 1999;341:1986-1995.
21. Agustriadi O, Suega K. Hepcidin pada anemia of chronic disease. *Buletin Penyakit Dalam FK Unud*, Volume 7, Nomor 2, Mei 2006.
22. Beaumont C, Vaulont S. Iron homeostasis. *Handbook : Disorders erythropoiesis, erythrocytes and iron metabolism* 2009 : 488-511.
23. Ganz T. Hepcidin, a key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation. *Blood* 2003;102:783-788.
24. Bayele HK, Sray SKS. Genetic variation in hepcidin expression and its implications for phenotypic differences in iron metabolism. *Haematologica* 2009; 94(8): 1185 – 1188.
25. Domenico ID, Ward DM, Kaplan J et al. Hepcidin regulating : ironing out the details. *J Clin invest* 2007; 117: 1755 – 1758
26. Silvestri L, Pagani A, Nai A et al. The serine protease matriptase-2 (TMPRSS6) inhibits hepcidin activation by cleaving membrane hemojuvelin. *Cell Metab*. 2008 ; 8 :502–511.
27. Fleming MD. The Regulation of Hepcidin and Its effects on systemic and cellular iron metabolism. *Americ Soc Hematol* 2008 : 151 – 158.

28. Wang RH. A role of SMAD 4 in iron metabolism through the positive regulation of hepcidin expression. *Cell Metab* 2005;2:399 – 409.
29. Babitt JL. Bone morphogenetic protein signaling by hemojuvelin regulates hepcidin expression. *Nat Genet* 2006;38:531-539.
30. Nicolas G. The gene encoding the iron regulatory peptide hepcidin is regulated by anemia, hypoxia, and inflammation. *J Clin Invest* 2002; 110: 1037-1044.
31. Hunter HN, Fulton DB, Ganz T et al. The solution structure of human hepcidin, a peptide hormone with antimicrobial activity that is involved in iron uptake and hereditary hemochromatosis. *J Biol Chem* 2002;277:37597-37603.
32. Kulaksiz H, Gehrke SG, Janetzko A et al. Pro hepcidin : expression and cell specific localisation in the liver and its regulation in hereditary haemochromatosis, chronic renal insufficiency, and renal anemia. *Gut* 2004;53:735-743.
33. Nicolas G. Lack of hepcidin gene expression and severe tissue iron overload in upstream stimulatory factor 2 (USF2) knockout mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001;98:8780-8785.
34. Kautz L, Fournier CB, Meynard D et al. Iron overload induces BMP6 expression in the liver but not in the duodenum. *Haematolog* 2011; 96 (2): 199 – 203.
35. Cui Y, Wu Q, Zhou Y. Iron refractory iron deficiency anemia : new molecular mechanism. *Kidney International* 2009 ; 79 : 1137 – 1141.
36. Papanikolaou G, Tzilianos M, Christakis JI et al. Hepcidin in iron overload disorders. *Blood* 2005 ; 105 : 4103 – 4105.
37. Nemeth E, Rivera S, Gabayan V, et al. IL-6 mediates hypoferraemia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin. *J Clin Invest* 2004;113:1271–1276.
38. Elmonem EA, Tharwa ES, Farag MA et al. Hepcidin mRNA level as a parameter of disease progression in chronic hepatitis C and hepatocellular carcinoma. *J of the Egyptian Nat. Cancer Inst.* 2009, 21 (4) : 333-342
39. Girelli D, Pasino M, Goodnough JB et al. Reduced serum hepcidin levels in patients with chronic hepatitis C. *J of Hepatol* 2009 ; 51: 845–852.
40. Eijk LVT, Kroot JJC, Tromp M et al. Inflammation-induced hepcidin-25 is associated with the development of anemia in septic patients: an observational study. *Critical Care* 2011; 15: 1-6.

41. Darshan D, Frazer DM, Wilkins SJ et al. Severe iron deficiency blunts the response of the iron regulatory gene *Hamp* and pro-inflammatory cytokines to lipopolysaccharide. *Haematologica* 2010; 95(10) : 1660 – 1668.
42. Zaritsky J, Young B, Gales B et al. Reduction of Serum Heparin by Hemodialysis in Pediatric and Adult Patients. *Clin J Am Soc Nephrol* 2010; 5: 1010–1014
43. Brătescu LO, Bărsan L, Munteanu D et al. Is Heparin-25 a Clinically Relevant Parameter for the Iron Status in Hemodialysis Patients? *J of Ren Nutrition* September 2010 ;20 (5): S77–S83
44. Nemeth E, Valore EV, Territo M et al. Heparin, a putative mediator of anemia of inflammation is a type II acute phase protein. *Blood* 2003 ; 101 : 2461 – 2463.
45. Panichi V, Migliori M, De Pietro S et al. C-reactive protein in patients with chronic renal disease. *Ren Fail* 2001; 23:551-562.
46. Taes YE, Wuyts B, Boelaert JR et al. Proheparin accumulates in renal insufficiency. *Clin Chem Lab Med* 2004;42:387-389.
47. Malyszko J, Mysliwiec M. Heparin in anemia inflammation in chronic kidney disease. *Kidney Blood Press Res* 2007;30:15–30
48. Bandiara R. Penatalaksanaan anemi defisiensi besi pada pasien yang menjalani hemodialisis. Workshop : Registrasi Unit Dialisis SeJabar, Bandung, 2003.
49. Suega K. Hubungan besi dengan produksi sitokin. *J Peny Dalam* 2006 ; 150 (7) : 149-158
50. Sipahi T, Akar N, Egin Y et al Serum interleukin-2 and interleukin-6 levels in iron deficiency anemia. *Pediatr hematol Oncol* 1998;15(I):69-73.
51. Weiss G, Goodnough LT. Anemia of chronic disease, *N Engl J Med* 2005;352:1011-1023.
52. Kuvibidila S, Kitchen D, Baliga BS. In vivo and in vitro iron deficiency reduces protein kinase C activity and translocation in murine splenic and purified T cells. *J Cell Biochem* 1999;74:468-478.
53. Torti FM, Torti SV. Regulation of ferritin genes and protein. *Blood* 2002 ; 99: 3505 – 3516.
54. Hillman RS, Ault KA, Rinder HM. Hematology in clinical practice : a guide to diagnosis and management, The Mc Graw-Hill Companies, Inc, 4th edit, 2005.

55. Adamsom JW. Iron deficiency and other hypoproliferative anemias. In : Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL et al (edit), Harrison's Principles of internal medicine, 15th edition, New York: Mc Graw-Hill : 660-664.
56. KDOQI ; National Kidney Foundation: II. Clinical practice guidelines and clinical practice recommendations for anemia in chronic kidney disease in adults. *Am J Kidney Dis* 2006 ;47[5 Suppl 3]: S16–S85.
57. Rodriguez AMF, Casasús MCG, Labarta TM et al. Diagnosis of iron deficiency in chronic renal failure. *Americ J of Kid Dis*, September 1999 ; 34 (3): 508-513.
58. Perhimpunan Nefrologi Indonesia (Pernefri). Registrasi ginjal Indonesia, 2007.
59. Suega K, Bakta M, Dharmayuda TG et al. Profile of anemia in chronic renal failure patients. *Acta Med Indones* 2005 ; 37(4) : 190-194.
60. Afshar R, Sanavi S, Salimi J et al. Hematological profile of chronic kidney disease (CKD) patients in Iran, in predialysis stages and after Initiation of hemodialysis, *Saudi J Kidney Dis Transpl* 2009; 20 (1): 368-371.
61. Rambod M, Kovesdy CP, Zadeh KK et al Combined high serum ferritin and low iron saturation in hemodialysis patients : the role of inflammation. *Clin J Am Soc Nephrol* 2008; 3 :1691-1701.
62. Ashby DR, Gale DP, Busbrige M et al. Erythropoietin administration in humans causes a marked and prolonged reduction in circulating hepcidin. *Haematologica* 2010 ; 95 (3): 505 – 509.
63. Ashby DR, Gale DP, Busbridge M et al. Plasma hepcidin levels are elevated but responsiveto erythropoietin therapy in renal disease. *Kidney Int.* 2009;75(9):976-981.
64. Nicolas G, Bennoun M, Porteu A et al. Severe iron deficiency anemia in transgenic mice expressing liver hepcidin. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2002; 99: 4596-4601.
65. Pak M, Lopez MA, Gabayan V et al. Suppression of hepcidin during anemia requires erythropoietic activity. *Blood* 2006; 108: 3730 – 3735