

**KADAR BESI SERUM, SATURASI BESI DAN  
TOTAL IRON BINDING CAPACITY PADA TIKUS PUTIH BETINA  
(*Rattus norvegicus*) AKIBAT PEMBERIAN ZAT BESI BERSAMA KALSIMUM**

**Dessy Hermawan**

FKM Universitas Malahayati Bandar Lampung

**ABSTRAK**

Kalsium dan zat besi sering diberikan bersama-sama baik dalam bentuk makanan/minuman ataupun obat-obatan. Padahal penyerapan kalsium di dalam usus menggunakan *divalen metal transferer 1* (DMT 1) yang juga digunakan oleh zat besi, sehingga dapat menimbulkan hambatan kompetitif diantara keduanya. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji seberapa besar kadar kalsium terendah yang menyebabkan penyerapan besi terhambat, sehingga akan berdampak pada kadar besi serum, TIBC & saturasi besi.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen sederhana : *pre post test group control design*. Subyek penelitian adalah tikus putih betina (*Strain Wistar Rattus norvegicus*) yang berumur 8 minggu dengan BB 125-150 mg. Sebelum diberikan perlakuan, tikus diukur profil besi darahnya, kemudian dibuat menjadi anemia defisiensi besi dengan diambil darahnya secara rutin 2 kali seminggu selama 1 bulan. Kemudian sampel dibagi menjadi 5 kelompok dan diberi perlakuan selama 7 hari. Sebelum dan sesudah perlakuan, tikus diukur kadar besi serum, saturasi besi & *total iron binding capacity*.

Kesimpulan dari penelitian ini adalah pada kondisi tikus yang mengalami anemia defisiensi besi, kadar kalsium 50 mg/hari sudah mulai terjadi penghambatan penyerapan besi dan tampak sangat nyata pada kadar 75 mg/hari (1 ½ kali dari angka kecukupan normal). Semakin tinggi kadar kalsium yang diberikan peroral, maka akan semakin rendah besi yang dapat diserap oleh usus, sehingga tidak akan mampu meningkatkan kadar besi serum, saturasi besi dan menurunkan TIBC.

**Key Words:** Besi, Kalsium, Besi Serum, Saturasi Besi, TIBC

## PENGANTAR

Anemia defisiensi besi dan kekurangan kalsium merupakan masalah yang umum terjadi pada wanita, terutama pada masa pertumbuhan, hamil dan menyusui. Kalsium adalah mineral yang sangat dibutuhkan tubuh. Kebutuhan kalsium sangat tinggi, terutama pada kelompok wanita umur 11–24 tahun, wanita hamil serta menyusui, yaitu sebanyak 1000 – 1500 mg/hari<sup>1</sup>, sedangkan kebutuhan kalsium normal adalah 600–800 mg/hari.

Masalah yang juga mengancam wanita pada masa pertumbuhan, hamil dan menyusui adalah anemia defisiensi besi<sup>2</sup>. Oleh karena itu, wanita dianjurkan untuk meningkatkan asupan kalsium dan zat besi. Kondisi ini merupakan peluang bagi produsen minuman & makanan, untuk memproduksi minuman yang mengandung zat besi dan kalsium dengan kadar yang tinggi. Pemberian secara bersamaan zat besi dan kalsium dapat menimbulkan hambatan penyerapan pada salah satu zat tersebut. Hal ini disebabkan zat besi dan kalsium adalah ion divalen yang penyerapannya sama-sama menggunakan *divalent metal transporter 1* (DMT1)<sup>3,4</sup>.

Permasalahannya adalah seberapa besar kadar kalsium terendah yang menyebabkan terhambatnya penyerapan besi ?, sedangkan tujuan pada penelitian ini adalah untuk mengkaji seberapa besar kadar kalsium terendah yang menyebabkan penyerapan besi terhambat.

Kalsium merupakan mineral terbanyak di dalam tubuh manusia. Tubuh orang dewasa berisi kurang lebih 1 sampai dengan 2 kg kalsium<sup>5</sup>. Kalsium yang dimakan diserap oleh tubuh di duodenum dan bagian proksimal jejunum dengan proses transport aktif. Asupan kalsium berlebih (di atas 2500 mg/hari) akan menimbulkan dampak negatif, yaitu terganggunya penyerapan besi dan ion-ion lain yang bermuatan 2 positif, hal ini dikarenakan di mukosa usus transporter yang digunakan untuk kalsium dan besi adalah sama.

Besi adalah unsur yang sangat penting untuk pembentukan hemoglobin dalam sel darah merah<sup>6</sup>. Jumlah total besi dalam tubuh manusia rata-rata 4–5 gram<sup>7</sup>. Besi lebih mudah diserap dalam bentuk fero, tetapi besi yang dimakan berada dalam bentuk feri, sehingga perlu direduksi sebelum diserap<sup>4</sup>. Besi heme dan non heme diserap dengan jalan/cara yang berbeda<sup>3,4</sup>. Besi heme akan melalui heme transporter

sedangkan besi non heme akan lewat DMT 1 yang tidak khusus untuk besi saja<sup>4</sup>. Menurut Ganong<sup>3</sup> transporter tersebut juga digunakan untuk perpindahan ion  $Zn^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$  dan  $Pb^{2+}$ .

Profil besi darah digunakan untuk menggambarkan keadaan cadangan besi dalam tubuh dan untuk menggambarkan adanya suatu kondisi anemia defisiensi besi. Profil besi darah terdiri dari kadar besi serum, *Total Iron-Binding Capacity* (TIBC) dan saturasi besi<sup>8</sup>.

Hipotesis penelitian ini adalah kadar kalsium 1 ½ kali dari angka kecukupan normal adalah kadar kalsium terendah yang dapat menyebabkan terhambatnya penyerapan besi di mukosa usus.

## CARA PENELITIAN

Penelitian ini adalah penelitian eksperimen sederhana *Pre post test group control design*. Sedangkan subyek penelitian ini adalah tikus putih betina (Strain *Wistar Rattus Norvegicus*) yang didapat dari UPHP UGM Yogyakarta. Sampel diambil secara random sebanyak 30 ekor yang berumur 8 minggu, memiliki berat badan antara 125–150 gram. Kalsium yang digunakan adalah tablet kalsium laktat, sedangkan besinya adalah hidrat sulfat ferrosus. Keduanya dihaluskan, kemudian ditimbang sesuai kebutuhan dan dilarutkan dalam aquabides 2 cc.

Jalannya penelitian adalah sebagai berikut : Sampel yang telah dipilih dilakukan pengukuran profil besi darahnya. Selama penelitian tikus diberi pakan tanpa dibatasi/sepuasnya, pakan yang digunakan adalah pakan yang tersedia di UPHP UGM. Setiap hari Senin dan Kamis selama 4 minggu, tikus diambil darahnya melalui periorbita sebanyak 1.5 cc untuk membuat tikus menjadi anemia defisiensi zat besi. Setelah diambil darahnya selama 4 minggu, diukur lagi profil besi darahnya, kemudian sampel dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan (K), yaitu : K1 :hanya minum tablet besi saja sebanyak 5 mg perhari; K2 :minum kalsium 25 mg/hari bersama dengan 5 mg tablet besi; K3 :minum kalsium 50 mg/hari bersama dengan 5 mg tablet besi; K4 :minum kalsium 75 mg/hari bersama dengan 5 mg tablet besi; dan K5 kelompok pembanding/kontrol (Aquabides 2 ml/hari). Sampel diberi perlakuan selama 7 hari dan pada hari ke 8, sampel diperiksa profil besinya kembali (besi serum, TIBC dan saturasi besi).

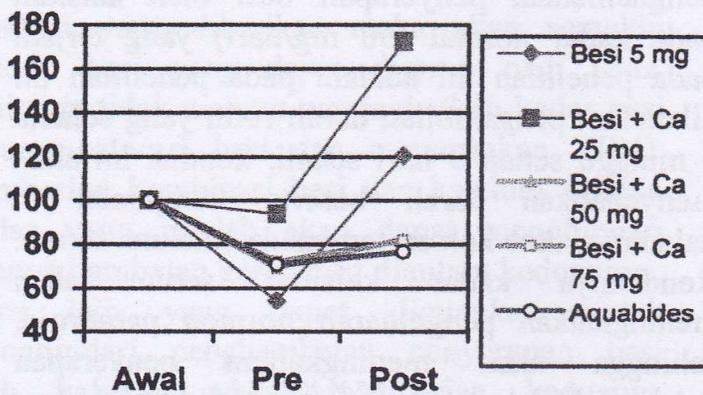
Analisis data dengan uji ANAVA satu jalur (taraf kepercayaan 95%) untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan yang bermakna pada setiap kelompok akibat dari perlakuan yang diberikan. Pengujian selanjutnya membandingkan hasil pemeriksaan profil darah sebelum perlakuan dan sesudah perlakuan dengan menggunakan uji  $t^9$ .

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### 1. Hasil

#### Besi Serum

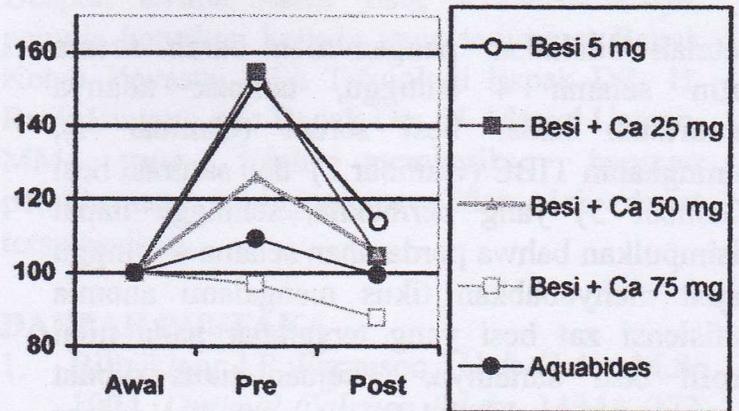
Pada gambar 1 tampak ada penurunan kadar besi serum pada setiap kelompok akibat dari pengambilan darah secara rutin selama 4 minggu. Hal ini hampir sama dengan yang pernah dilakukan Triawanti<sup>10</sup>, yang menurunkan kadar besi darah tikus dengan memberi pakan rendah besi selama 7 minggu. Adanya penurunan kadar besi serum menunjukkan bahwa sampel mengalami anemia. Hasil uji Anava satu jalan untuk kadar besi serum menunjukkan ada perbedaan yang bermakna akibat dari perlakuan yang diberikan.



Gambar 1. Perubahan persentasi kadar besi serum selama penelitian

#### Total Iron Binding Capacity (TIBC)

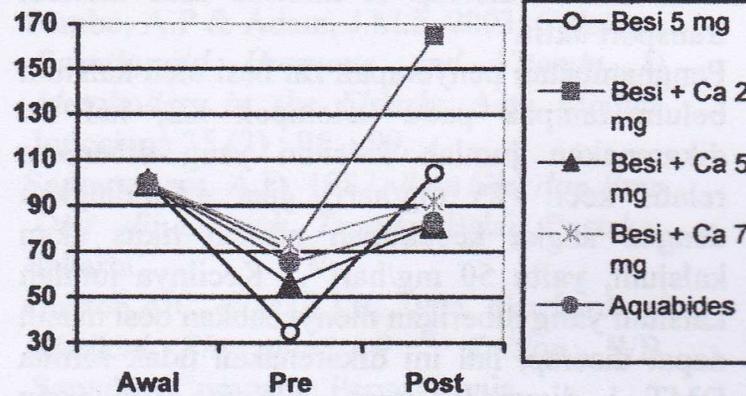
Pada Gambar 2, tampak ada peningkatan TIBC setelah dilakukan perdarahan selama 4 minggu. Hal ini menunjukkan bahwa apotransferin tidak mendapatkan besi yang cukup sehingga tidak berikatan dengan besi. Apotransferin yang tinggi menyebabkan kemampuan pengikatan besi total oleh apotransferin (TIBC) akan meningkat<sup>8,11,12</sup>.



Gambar 2. Perubahan persentasi TIBC pada setiap kelompok selama perlakuan

Nilai uji Anava satu jalan untuk nilai TIBC pada setiap kelompok menunjukkan nilai  $F = 12.75$  ( $p < 0.05$ ), hal ini membuktikan bahwa ada perbedaan nilai TIBC bermakna antar kelompok yang diakibatkan oleh pemberian perlakuan.

#### Saturasi Besi



Gambar 3. Peningkatan persentasi saturasi besi pada setiap kelompok selama perlakuan

Pada gambar 3, tampak adanya penurunan saturasi besi pada setiap kelompok setelah pengambilan darah secara rutin selama 4 minggu, hal ini menunjukkan persentasi besi yang rendah di dalam transferin. Kemudian setelah diberi perlakuan saturasi besi tampak meningkat. Peningkatan yang paling nyata tampak pada kelompok K1 dan K2.

Nilai uji anava satu jalan untuk peningkatan saturasi besi pada setiap kelompok perlakuan menunjukkan nilai  $F = 24.05$  ( $p < 0.05$ ), hal ini membuktikan bahwa ada perbedaan saturasi besi yang bermakna antar kelompok yang diakibatkan oleh pemberian perlakuan.

## 2. Pembahasan

Setelah dilakukan pengambilan darah secara rutin selama 4 minggu, tampak adanya penurunan kadar besi serum (Gambar 1), peningkatan TIBC (Gambar 2) dan saturasi besi (Gambar 3) yang bermakna, sehingga dapat disimpulkan bahwa perdarahan selama 4 minggu dapat menyebabkan tikus mengalami anemia defisiensi zat besi yang tergambar pada nilai profil besi darahnya. Tujuan tikus dibuat mengalami anemia defisiensi zat besi, agar penyerapan zat besi di mukosa ususnya meningkat, hal ini sesuai dengan yang disampaikan oleh Harbert<sup>13</sup> yang menyatakan bahwa dalam kondisi anemia, penyerapan zat besi akan meningkat sampai 30%. Peningkatan penyerapan ini dikarenakan adanya perbedaan gradien konsentrasi yang relatif tinggi antara kadar besi di dalam darah yang rendah dan di saluran pencernaan yang relatif tinggi, sehingga besi akan mudah diserap di mukosa usus melalui transport aktif.

Penghambatan penyerapan zat besi oleh kalsium belum tampak pada kelompok K2, hal ini dikarenakan jumlah kalsium yang diberikan relatif kecil (25 mg/hari), jika dibandingkan dengan angka kecukupan normal tikus akan kalsium, yaitu 50 mg/hari<sup>14</sup>. Kecilnya jumlah kalsium yang diberikan menyebabkan besi masih dapat diserap, hal ini dikarenakan tidak semua DMT 1 digunakan oleh kalsium. Besi yang diserap akan berikatan dengan apotransferin menjadi transferin. Berkurangnya jumlah apotransferin akan menyebabkan kemampuan pengikatan besi total (TIBC) akan menurun. Peningkatan kadar besi serum dan saturasi besi dikarenakan ada cukup besi yang berikatan dengan transferin. Semakin banyak besi yang diserap, maka akan semakin banyak besi yang diikat oleh transferin sehingga kadar besi dan saturasinya makin meningkat.

Penghambatan penyerapan zat besi oleh kalsium mulai tampak pada kelompok K3 dan sangat tampak pada kelompok K4. Hal ini dikarenakan kalsium yang digunakan relatif tinggi yaitu 1 ½ kali dari nilai normal, sehingga hambatan kompetitif dalam penggunaan DMT 1 sudah tampak jelas. Akibatnya besi yang diserap sangat sedikit, sehingga nilai TIBC tetap tinggi, sedangkan kadar besi serum dan saturasi besi masih tetap rendah. Kondisi ini sesuai dengan pernyataan bahwa hanya kadar kalsium tinggi

yang menyebabkan penyerapan besi terhambat<sup>3,4,15,16</sup>

Pada penelitian ini, pemberian kalsium kadar normal (50 mg/hari) sudah mulai tampak adanya penghambatan terhadap penyerapan zat besi. Hal ini dikarenakan pemberian perlakuan hanya selama 7 hari, sesuai yang disampaikan oleh Wauben & Atkinson<sup>17</sup> bahwa efek penghambatan maksimal penyerapan besi oleh kalsium kadar tinggi akan tampak pada 2 minggu pertama perlakuan. Setelah dua minggu perlakuan, mekanisme penghambatan itu akan berkurang karena terjadi adaptasi di mukosa usus, walaupun demikian penghambatan itu akan terus ada, selama kalsium dan zat besi masih diberikan secara bersama-sama. Mekanisme adaptasi ini juga dijelaskan oleh Minihane & Tait<sup>18</sup> bahwa dalam kondisi asupan besi ke dalam plasma darah yang rendah akan menyebabkan terjadinya modifikasi perkembangan sel enterosit kriptas villi intestinal, dengan cara merangsang produksi protein spesifik yang lebih efisien menyerap besi ke dalam usus.

Alasan lain untuk menerangkan terjadinya penghambatan penyerapan besi oleh kalsium pada kadar normal (50 mg/hari) yang terjadi pada penelitian ini adalah: pada penelitian ini dilakukan pengambilan darah rutin yang selama 4 minggu setiap 3 hari sekali, kondisi ini akan menyebabkan darah beserta komponen di dalamnya ikut keluar termasuk kalsium serum. Rendahnya kadar kalsium serum akan meningkatkan pengeluaran hormon paratiroid, sehingga akan meningkatkan penyerapan kalsium di dalam usus<sup>3,7,19,20</sup>. Kondisi ini akan menyebabkan sebagian besar DMT 1 akan digunakan kalsium untuk meningkatkan kadar kalsium serum sehingga zat besi banyak yang tidak terserap oleh usus. Akibatnya darah tidak mendapat cukup zat besi untuk meningkatkan kadar besi serum, saturasi besi dan menurunkan TIBC.

Pada kelompok kontrol (K1) yang hanya diberi besi 5 mg/hari tanpa diberi kalsium, tampak bahwa kebutuhan akan besi sudah terpenuhi. Hal ini terlihat dari adanya peningkatan kadar besi serum, saturasi besi dan penurunan nilai TIBC yang bermakna. Besi dapat diserap lewat DMT 1 tanpa ada hambatan kompetitif dari kalsium, sehingga penyerapannya dapat optimal. Hal ini juga diperkuat dengan adanya kondisi anemia defisiensi zat besi yang dialami tikus akibat

perdarahan, sehingga penyerapan besi makin ditingkatkan<sup>13</sup>.

Pada kelompok kontrol (K5) yang hanya diberi aquabides 2 cc/hari, tampak tidak adanya perbaikan pada nilai profil besi darahnya. Hal ini meyakinkan bahwa tidak ada cukup besi pada makanan dan minuman yang disediakan untuk tikus. Akibatnya apotransferin masih banyak yang tidak berikatan dengan besi sehingga kapasitas pengikatan besi total/TIBC-nya masih sangat tinggi. Tidak adanya asupan besi yang cukup membuat kadar besi serum dan saturasi besinya masih tetap rendah.

Dalam penelitian ini didapatkan hasil bahwa penghambatan penyerapan besi oleh kalsium mulai tampak pada pemberian besi dalam kadar normal (5 mg/hari) bersamaan dengan kadar kalsium normal (50 mg/hari). Kondisi ini jika dikonversikan pada manusia, maka pemberian zat besi bersamaan dengan kalsium 800 mg/hari akan menyebabkan zat besi tidak terserap maksimal. Terlebih jika pemberian kalsium melebihi dari kebutuhan normal (1 ½ kali kebutuhan normal) maka mekanisme penghambatan penyerapan zat besi oleh kalsium akan tampak nyata. Semakin tinggi kadar kalsium yang diberikan maka akan semakin rendah besi yang dapat diserap oleh usus, sehingga tidak mampu meningkatkan kadar besi serum, saturasi besi dan menurunkan TIBC. Pemberian kombinasi besi dan kalsium dengan kadar yang rendah akan dapat menghindari adanya hambatan kompetitif diantara keduanya. Cara lain yang dapat digunakan untuk menghindari penghambatan penyerapan besi oleh kalsium adalah pemberian keduanya diselisihkan waktunya pemberiannya kira-kira 5 jam atau dengan cara lainnya yaitu salah satu diberikan secara injeksi.

#### KESIMPULAN

Kesimpulan penelitian ini adalah kadar kalsium sekitar 50 mg/hari (angka kecukupan normal) adalah kadar kalsium terendah yang mulai menghambat penyerapan besi dan tampak sangat nyata pada kadar 75 mg/hari (1 ½ kali angka kecukupan normal).

Saran: untuk menghindari adanya penghambatan kalsium terhadap zat besi, maka pemberian kalsium jangan terlalu tinggi, atau pemberiannya dapat diselisihkan waktunya kira-kira 5 jam. Cara yang lainnya adalah dengan menghindari pemberian keduanya secara peroral.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya, penulis haturkan kepada yang terhormat Bapak Ketua Yayasan Alih Teknologi Bapak DR. H. Rusli Bintang dan Bapak Drs. H. Marsal Usman, MM yang telah memberikan bantuan pembiayaan sehingga penelitian ini dapat terselesaikan.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. Bilizikian, J.P.; Ferguson, J.H & Calvo, M.S, 1994, *Optimal Calcium Intake*, JAMA 272 (24) : 1942 – 8.
2. WHO, 2000, *Women of South East Asia A Health Profile*, WHO Region Office for South East Asia, New Delhi.
3. Ganong, W.F, 2001, *Review of Medical Physiology 20 edition*, The Graw – Hill Companies, San Francisco.
4. Murray, R.K, 2003, *Harper's Illustrated Biochemistry Twenty Sixth Edition*, The McGraw Hill Companies, India.
5. Sambo, A.P & Adam, J.M.F, 2003, *Calcium, Parathyroid Hormone and Vitamin D Metabolism in the Elderly*, Acta Medica Indosiana 35 (2) : 95 – 99.
6. Sadioetama, A.D, 1987, *Ilmu Gizi dan Ilmu Diet di Daerah Tropik*, Balai Pustaka, Jakarta.
7. Guyton, A.C & Hall, J.E, 1996, *Textbook of Medical Physiology 9<sup>th</sup> Edition*, WB Saunders Company, Pennsylvania.
8. Jandl, J.H, 1996, *Blood Textbook of Hematology Second Edition*, Library of Congress Cataloging in Publication Data, New York.
9. Sujana, 2001, *Metoda Statistika*, Tarsito, Bandung.
10. Triawanti, 2002, *Pengaruh Pemberian Zat Besi dan Kalsium dengan Kombinasi Dosis terhadap Kadar Besi Serum : Tinjauan pada tikus Rattus Norvegicus yang mengalami anemia defisiensi besi*, Berkala Kedokteran 2(2) : 9 – 17.
11. Tamboen, I, 1991, *Defisiensi Besi*, Medika 11(7) : 885 – 891
12. Koepke, J.A; Martin, E.A.S & Steinger, C.A.L, 1992, *Clinical Hematology Principles, Procedures, Collerations Second Edition*, Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia.
13. Harbert, V, 1987, *Recommended Dietary Intake of Iron in Humans*, Am J Clin Nutr (45) : 679 – 86.

14. McCoy,R.H, 1971, Dietary Requirements Of The Rat. Dalam. *The Rat In Laboratory Investigation*, eds. Farris. E.J & Griffith . J. Q, Hafner Publishing Company, New York, pp 68 – 103.
15. Budiman, H, 2003, *Kalsium Vitamin D dan Osteoporosis*, Maj. Kedokt. Atma Jaya 2 (3) : 213 – 21.
16. Rangan, A.M., Aitkin, I & Blight, G.D, 1997, *Factors Affecting Iron Status in 15-30 Years Old Female Students*, Asia Pacific J Clin Nutr 6 (4) : 291 – 295.
17. Wauben,I.P.M & Atkinson,S.A, 1999, *Calcium Does Not Inhibit Iron Absorption or Alter Iron Status in Infant Piglets Adapted to High Calcium Diet*, J. Nutr. (129) : 707 – 11.
18. Minihane, A.M & Tait,S.F, 1998, *Effect of Calcium Supplementation on Daily Nonheme-iron Absorpsi and Long-term Iron Status*, Am J Clin Nutr (68) : 96 – 102.
19. Mayes,P.A., Granner,D.k., Rodwel,V.W & Martin,D.W, 1985, *Harper's Review of Biochemistry edition 20*, Lange Medical Publications, San Francisco.
20. Greenspan, F.S & Baxter. J.D, 1994, *Basic And Clinical Endocrinology 4<sup>th</sup> Edition*, Publishing Division of Prentice Hall, California.