



Bali Medika Jurnal Vol 9 No 3, 2022: 277-285

Bali Medika Jurnal.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License. (CC BY 4.0)



Submitted 2 November 2022

Reviewed 2 December 2022

Accepted 29 December 2022

Pengaruh pemberian pakan rendah besi dan induksi natrium nitrit terhadap potensi anemia defisiensi besi pada tikus

The effect of low iron feeding and sodium nitrite induction on the potential of iron deficiency anemia in rats

Windya Nazmatur Rahmah^{1*}, Fitria Hariati Ramdhani¹, Al Hidayani¹

Prodi Analis Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Palangkaraya, Indonesia

windy.nazmatur@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian-penelitian terkait anemia sebenarnya sudah banyak dilakukan, hewan coba yang banyak digunakan untuk meneliti anemia defisiensi besi adalah mencit atau tikus. Namun, saat ini mencit diketahui telah berevolusi untuk mampu mempertahankan besi di dalam tubuh dibandingkan dengan tikus. Mayoritas pemberian diet rendah besi membutuhkan waktu yang lama yaitu sekitar 4-8 minggu. Penelitian ini bertujuan untuk menemukan model protokol laboratorium terbaru *animal model* anemia defisiensi besi dengan menggunakan tikus putih strain *wistar* dalam waktu yang lebih cepat. Tikus dibagi ke dalam tiga kelompok, yaitu dengan pemberian pakan rendah besi, induksi NaNO_2 dengan

* How to Cite

Rahmah, W. N., Ramdhani, F. H. ., & Hidayani, A. . Pengaruh pemberian pakan rendah besi dan induksi natrium nitrit terhadap potensi anemia defisiensi besi pada tikus: The effect of low iron feeding and sodium nitrite induction on the potential of iron deficiency anemia in rats. Bali Medika Jurnal, 9(3), 277–285. <https://doi.org/10.36376/bmj.v9i3.293>

dosisi 25g/200 BB tikus, serta kombinasi antara pakan rendah besi dan induksi NaNO_2 . Hasil data pengukuran pada KP1, KP2 dan KP3 didapatkan kadar hemoglobin dengan kisaran 12,2-15,7 g/dL; 12,8-13,7 g/dL dan 12,7-15,4 g/dL, dimana kadar hemoglobin tersebut masih dalam kisaran normal. Uji *Kruskal-Wallis* pada hasil pengukuran selama 21 hari tampak tidak ada pengaruh yang signifikan dengan nilai berturut-turut 0,051; 0,550 ; 0,051 ($p < 0,05$). Pemberian pakan rendah besi maupun induksi senyawa NaNO_2 yang bersifat karsinogenik pada tikus jantan *Wistar* yang telah diberi perlakuan untuk bisa menjadi *animal model* anemia defisiensi besi dapat digunakan namun memerlukan waktu pelakuan yang lebih lama agar terjadi kerusakan pada siklus hematopoiesis.

Kata kunci: *Animal model, anemia defisiensi besi, pakan rendah besi, induksi NaNO_2*

ABSTRACT

Many types of research related to anemia have been carried out, and the experimental animals that are widely used to study iron deficiency anemia are mice or rats. However, rats are currently known to have evolved to retain iron in the body compared to mice. The majority of low-iron diets require a long time, which is about 4-8 weeks. This study aims to find the latest laboratory protocol model, an animal model of iron deficiency anemia using Wistar strain white rats in a faster time. Rats were divided into three groups: low iron feed, induction of NaNO_2 at a dose of 25g/200 BW rats, and a combination of low iron feed and induction of NaNO_2 . The measurement data results on KP1, KP2, and KP3 obtained hemoglobin levels in the range of 12.2-15.7 g/dL; 12.8-13.7 g/dL, and 12.7-15.4 g/dL, where the hemoglobin levels were still in the normal range. The Kruskal-Wallis test on the measurement results for 21 days did not appear to have a significant effect with successive values of 0.051; 0.550; 0.051 ($p < 0.05$). Giving low iron feed or induction of carcinogenic NaNO_2 compounds in male Wistar rats that have been treated to become animal models of iron deficiency anemia can be used but require a longer treatment time to damage the hematopoietic cycle.

Keywords: *Animal model, iron deficiency anemia, low iron feed, NaNO_2 induction*

PENDAHULUAN

Anemia hingga saat ini masih menjadi permasalahan global yang menyebabkan penurunan kualitas hidup seseorang. Angka kejadian anemia di Indonesia saja terbilang masih cukup tinggi dengan prevalensi anemia pada remaja sebesar 32%, artinya 3-4 dari 10 remaja menderita anemia. Selain itu, pada ibu hamil angka kejadian anemia juga mengalami peningkatan yaitu 37,1% pada tahun 2013 menjadi 48,9% pada tahun 2018. Anemia yang terjadi pada wanita di Indonesia dipengaruhi oleh asupan gizi yang tidak optimal dan kurangnya aktifitas fisik. Berbagai upaya telah dilakukan pemerintah Indonesia untuk menurunkan angka kejadian anemia, mulai dari pemberian tablet tambah darah dan upaya penanggulangan dengan pemberian edukasi dan promosi gizi seimbang, fortifikasi

zat besi pada bahan makanan serta penerapan hidup bersih dan sehat (Kemenkes RI, 2018).

Penelitian-penelitian terkait anemia sebenarnya sudah banyak dilakukan, baik dengan menggunakan model hewan coba (*animal model*) maupun langsung kepada manusia. Penggunaan hewan coba memiliki banyak keuntungan, diantaranya membantu peneliti dalam mempelajari patofisiologi penyakit dan memudahkan peneliti untuk menguji berbagai jenis terapi yang sulit diaplikasikan langsung kepada manusia. Hewan coba yang banyak digunakan untuk meneliti anemia defisiensi besi adalah jenis hewan kecil seperti mencit atau tikus. Namun, saat ini mencit diketahui telah berevolusi untuk mampu mempertahankan besi di dalam tubuh dibandingkan dengan tikus. Tikus putih (secara umum) lebih rentan untuk mengembangkan anemia defisiensi besi dibandingkan dengan beberapa jenis tikus laboratorium lainnya (Wang *et al.*, 2019).

Mayoritas peneliti menggunakan prosedur berupa pemberian diet rendah besi pada mencit atau tikus untuk memicu terjadinya anemia defisiensi besi. Akan tetapi, prosedur seperti ini membutuhkan waktu yang lama yaitu sekitar 4-8 minggu, sehingga apabila peneliti menggunakan model hewan coba ini dalam meneliti anemia defisiensi besi maka waktu yang diperlukan hingga penelitian selesai menjadi lebih lama lagi (Rineau *et al.*, 2021; Elshemy, 2018; Wang *et al.*, 2018; Asperti *et al.*, 2018). Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Azkiyah pada tahun 2021, diketahui untuk induksi menggunakan natrium nitrit, volume yang diberikan kepada mencit secara oral adalah 20 ml/kg. Jadi, apabila mencit memiliki berat badan 20 gram maka natrium nitrit yang diberikan adalah sebanyak 0,4 ml/ekor/hari selama 14 hari. Sedangkan untuk tikus jantan (*Rattus norvegicus*) strain *wistar* pemberian induksi natrium nitrit (NaNO₂) diberikan sebanyak 125 gr/KgBB selama 3 (tiga) minggu (Hermayanti & Syafitri, 2020).

Oleh sebab itu, perlu dilakukan suatu penelitian untuk menemukan model protokol laboratorium terbaru terutama dengan menggunakan tikus putih strain *wistar* dengan harapan *animal model* anemia defisiensi besi dapat diperoleh dalam waktu lebih cepat dibandingkan dengan menggunakan prosedur yang lama.

METODE PENELITIAN

Lokasi Penelitian

Penelitian telah dilaksanakan di Laboratorium Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Palangkaraya

Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan mulai bulan Juli-September 2022.

Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian *True Experimental Research*, yang bertujuan untuk mempelajari hubungan pemberian perlakuan (pakan, induksi natrium nitrit, dan kombinasi) dalam perkembangan anemia defisiensi besi dengan

mengendalikan lingkungan hewan coba, pakan dan induksi yang diberikan dan mengukur parameter hematologi setiap minggunya.

Desain Penelitian

Penelitian ini telah disetujui oleh Komite Etik, Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung dengan Nomor: 373/IX/2022/Komisi Bioetik. Penelitian ini adalah penelitian *Post Test Only Control Group Design*, dimana kelompok perlakuan setiap minggu dilakukan evaluasi terhadap parameter hematologi hingga didapatkan profil anemia defisiensi besi.

Populasi dan Sample

Pada penelitian ini objek yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Wistar* sebanyak 24 ekor jenis kelamin jantan dalam kondisi sehat, bobot awal 110-130 gram dan umur rata-rata adalah 2 (dua) bulan. Pengkelompokan dibagi atas 3 (tiga) perlakuan, yaitu kelompok pemberian pakan rendah besi (KP1) dengan komposisi protein 20,3 gram, karbohidrat 63,9 gram, lemak 7 gram, kasein 200 gram, tepung maizena 397,5 gram, sukrosa 100 gram, minyak keledai 70 gram, mineral mix 35 gram, kelompok perlakuan induksi NaNO_2 sebanyak 25g/200 BB tikus yang dilarutkan dalam 3 mL akuades (KP2), serta kelompok kombinasi dari pemberian pakan rendah besi dan induksi NaNO_2 (KP3). Ketiga kelompok itu diadaptasikan selama 7 hari dan selanjutnya pada hari ke-8 diberikan perlakuan selama 21 hari. Pengukuran kadar hemoglobin dilakukan 4 (empat) kali, yaitu pada hari ke-7 untuk pre hasil, ke-14, ke-21, dan ke-28 untuk post hasil perlakuan untuk mengetahui perkembangan penurunan kadar hemoglobin dengan sampel yang digunakan berupa darah vena latelaris yang diukur menggunakan alat meter (POCT).

Pengumpulan dan Analisa Data

Data-data hasil penelitian yang terkumpul selanjutnya dianalisis menggunakan uji normalitas dengan menggunakan uji *Saphiro-Wilk* karena jumlah sampel >50 . Data dinyatakan normal apabila nilai $p > 0,05$. Setelah dilakukan uji normalitas dilanjutkan dengan uji homogenitas dengan menggunakan *Levene's Test*. Data dikatakan homogen apabila nilai $\text{sig} > 0,05$. Dari data penelitian didapatkan data tidak berdistribusi normal maka dilanjutkan dengan uji non-parametrik, yaitu uji *Kruskal-Wallis* dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Mann-Whitney*.

HASIL DAN DISKUSI

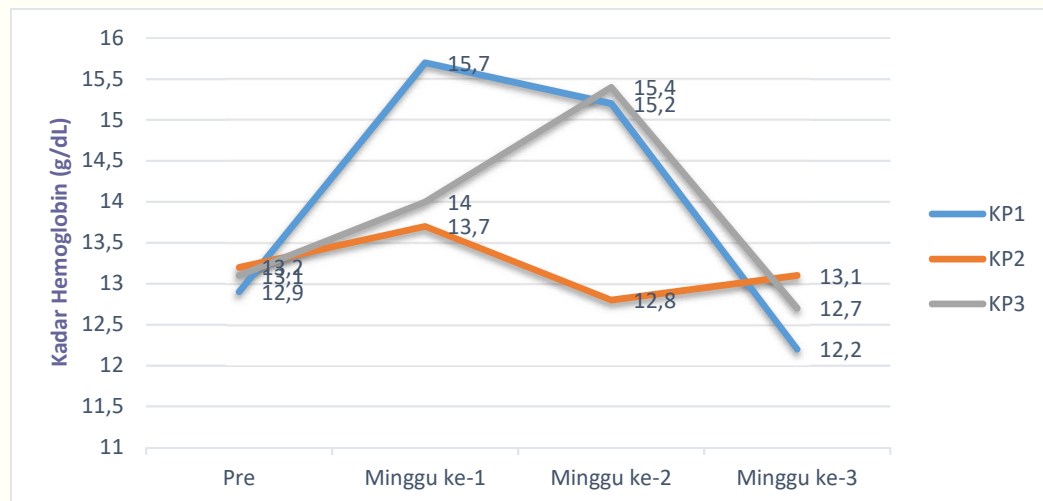
Hasil Penelitian

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian pakan rendah besi dan induksi natrium nitrit terhadap potensi anemia defisiensi besi pada *animal model* tikus jantan *Wistar* dengan perlakuan selama 21 hari. Hasil pengukuran rerata kadar hemoglobin dari setiap kelompok perlakuan terlihat pada Tabel 1 seperti berikut.

Tabel 1. Hasil pengukuran rerata kadar hemoglobin

Kelompok perlakuan	Kadar Hemoglobin Darah (g/dl)			
	Pre	Minggu ke-1	Minggu ke-2	Minggu ke-3
KP1	12,9	15,7	15,2	12,2
KP2	13,2	13,7	12,8	13,1
KP3	13,1	14,0	15,4	12,7

Hasil rerata kadar hemoglobin dari setiap perlakuan diatas agar lebih jelas menggambarkan tingkat pengaruh pemberian pakan rendah besi, induksi NaNO₂ dan kombinasi selama 21 hari disajikan dalam bentuk diagram garis seperti Gambar 1 dibawah ini.



Gambar 1 Hasil Pengukuran Kadar Hemoglobin (KP1 : Pemberian pakan rendah besi, KP2 : Induksi NaNO₂, KP3 : Kombinasi (pemberian pakan rendah besi dan induksi NaNO₂))

Berdasarkan Tabel 1 menunjukkan hasil rerata pengukuran kadar hemoglobin selama 21 hari dari 3 kelompok perlakuan, dengan hasil pengukuran kadar hemoglobin pada KP1 secara berturut-turut dari pre hingga minggu ke-3 perlakuan adalah 12,9 g/dL; 15,7 g/dL; 15,2 g/dL; 12,2 g/dL. Pada KP2 menunjukkan hasil pengukuran hemoglobin secara berturut-turut adalah 13,2 g/dL; 13,7 g/dL; 12,8 g/dL; 13,1 g/dL, sedangkan hasil pada KP3 menunjukkan kadar hemoglobin secara berturut-turut adalah 13,1 g/dL; 14,0 g/dL; 15,4 g/dL; 12,7 g/dL.

Diskusi Hasil

Pada penelitian ini terlihat terjadi peningkatan kadar hemoglobin pada KP1, KP2 serta KP3 di minggu pertama perlakuan yang dapat disebabkan oleh adanya kompetisi antara O₂ dan NO yang berikatan dengan hemoglobin sehingga kebutuhan O₂ untuk metabolisme tubuh menjadi meningkat. Peningkatan kebutuhan O₂ disebabkan karena O₂ yang dapat berikatan dengan hemoglobin berkurang. Kebutuhan O₂ tersebut direspon oleh tubuh tikus dengan meningkatkan kadar hemoglobin pada kondisi subkornis (Widyastuti, 2013).

Hemoglobin merupakan salah satu parameter untuk mengetahui adanya keadaan anemia. Berdasarkan hasil data penelitian pada KP1, KP2 serta KP3 selama 21 hari tampak tidak ada pengaruh yang signifikan dengan nilai berturut-turut 0,051; 0,550 ; 0,051 ($p < 0,05$). Pada KP1 dan KP3 didapatkan kadar hemoglobin dengan kisaran 12,2-15,7 g/dL dan 12,7-15,4 g/dL, dimana kadar hemoglobin tersebut masih dalam kisaran normal. Pada kelompok perlakuan tersebut telah dapat menurunkan kadar hemoglobin di minggu ke-3 namun belum dapat dikategorikan sebagai kondisi anemia pada tikus. Hal ini dapat dipengaruhi oleh sifat bioavailabilitas zat besi dalam penyerapan. Zat besi yang berasal dari pakan hanya sekitar 10% yang diabsorpsi. Absorpsi besi sendiri merupakan proses kompleks yang terjadi di duodenum dan jejunum bagian proksimal. Pada pH asam di lambung, heme terurai dari hemoprotein, sedangkan besi non-heme stabil dalam bentuk tereduksi (Fe²⁺). Besi non-heme ditangkap, namun beberapa kompleks yang dapat mempengaruhi absorpsinya seperti *plant derived phytaes* atau tannin (Abramowski SW, 2014).

Peningkatan kadar hemoglobin yang terjadi pada minggu ke-3 pada KP2 disebabkan oleh mekanisme NaNO₂ bekerja dengan cara menghambat distribusi O₂ yang menyebabkan terbentuknya methemoglobin. Adanya reaksi antara NO dari NaNO₂ dengan hemoglobin membentuk nitrosohemoglobin yang mengakibatkan kadar hemoglobin menjadi berkurang sehingga kemampuan eritrosit tidak adekuat dalam menjalankan fungsinya untuk membawa O₂ ke seluruh tubuh (Widyastuti, 2013). Pada keadaan ketersediaan O₂ yang kurang dapat menyebabkan hati mengeluarkan banyak globulin, di sisi lain ginjal juga menghasilkan faktor-faktor eritropoetin yang akan berinteraksi dengan globulin. Interaksi antara faktor eritropoetin dengan globulin dapat merangsang terjadinya eritropoesis sehingga akan ada peningkatan sintesis hemoglobin (Farikhah A, *et al*, 2019).

Pada penelitian ini pada KP2 didapatkan kadar hemoglobin berkisar antara 12,8-13,7 g/dL, hasil tersebut masih berada pada kisaran normal dengan hasil tidak ada pengaruh yang signifikan dengan nilai $p < 0,05$. Kadar hemoglobin pada tikus putih dikatakan normal jika berada pada kisaran 11,6-16,1 g/dL (Douglas dan Wardrop, 2010). Hasil ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Hermayanti, *et al* (2020) yaitu perlakuan dengan induksi pakan rendah zat besi selama 21 hari belum menunjukkan penurunan kadar hemoglobin pada hewan coba. Secara fisiologis akan terjadi anemia jika cadangan besi yang ada di dalam tubuh tidak cukup untuk digunakan pada proses eritropoesis.

Tikus yang telah diberi perlakuan terlihat menunjukkan hasil perkembangan dengan adanya penurunan kadar hemoglobin. Metabolisme NaNO₂ yang bersifat

radikal bebas sehingga menyebabkan keadaan hipoksia pada organ-organ tikus. Radikal bebas yang terbentuk dapat mempengaruhi membran eritrositik yang dapat menyebabkan gangguan pada proses hematopoiesis dan kerusakan eritrosit. Kerusakan eritrosit yang terjadi adalah lisisnya eritrosit yang menyebabkan berkurangnya kadar hemoglobin (Dewi *et al.*, 2022). Berdasarkan penelitian Sandy, *et al* (2021) penggunaan NaNO_2 selama 60 hari dapat digunakan untuk mencegah proses pembentukan profil hematologi dengan menyebabkan peningkatan ROS di siklus hematopoiesis sehingga terjadi penurunan kadar hemoglobin. Tapi hal tersebut tidak berlaku jika masih terdapat cadangan zat besi yang cukup di dalam tubuh hewan coba. Kenaikan maupun penurunan kadar hemoglobin pada kondisi akut maupun subkronis tidak berbeda nyata antar perlakuan.

Berdasarkan uji statistik yang digunakan yaitu uji *Post-hoc Mann-Whitney* terhadap kadar hemoglobin tikus didapatkan nilai $p > 0,05$ yang menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan diantara KP1, KP2, serta KP3. Kadar hemoglobin tikus yang tidak berbeda secara signifikan menunjukkan bahwa proses hematopoiesis di dalam tubuh tikus tetap dalam kondisi normal (Indrianti *et al.*, 2015).

SIMPULAN

Pemberian pakan rendah zat besi dan induksi senyawa NaNO_2 yang bersifat karsinogenik pada tikus jantan *Wistar* yang telah diberi perlakuan untuk bisa menjadi animal model dengan kondisi anemia defisiensi besi dapat digunakan namun memerlukan waktu pelakuan yang lebih lama agar terjadi kerusakan pada siklus hematopoiesis. Dengan memperpanjang waktu perlakuan dan pemberian dosis yang bertingkat dapat mempercepat proses penurunan kadar hemoglobin.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada Universitas Muhammadiyah Palangkaraya yang telah memberikan dukungan secara pendanaan dan menyediakan fasilitas yang dapat digunakan seperti laboratorium yang memadai. Terimakasih juga kepada seluruh pihak peneliti yang terlibat pada penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Abramowski SW, Waeber G, Gassner C, et al, 2014, Physiology of Iron Metabolism, Transfus Med He mother, Vol.41(3): 213-221. <https://doi.org/10.1159/000362888>
- Asperti, M., Gryzik, M., Brilli, E., Castagna, A., Corbella, M., Gottardo, R., ... Poli, M. (2018). Sucrosomial® iron supplementation in mice: Effects on blood parameters, hepcidin, and inflammation. *Nutrients*, 10(10), 1–12. <https://doi.org/10.3390/nu10101349>
- Dewi I., Adi A. A., dan Setiasih N. L. E. (2022). Fluktuasi Profil Hematologi Tikus

- Putih Hewan Model Fibrosarkoma yang Diinduksi Benzo(a)piren. *Indonesia Medicus Veterinus*, 11(2), 267-281. <https://doi.org/10.19087/imv.2022.11.2.267>.
- Douglas JW, Wardrop KJ. (2010). Schalm's Veterinary Hematology. 6th ed. New Jersey, United States. *Wiley-Blackwell*. 852-887.
- El Shemy, M. (2018). Iron Oxide Nanoparticles Versus Ferrous Sulfate In Treatment of Iron Deficiency Anemia In Rats. *Egyptian Journal of Veterinary Sciences*, 49(2), 103–109. <https://doi.org/10.21608/ejvs.2018.3855.1039>
- Farikhak A., Indrini F., Yulianti A., Restuti A.N.S. (2019). Intervensi Bubuk Kakao Terhadap Kadar Hemoglobin Tikus Putih Galur Wistar Anemia. Seminar Nasional INAHCO (Indonesia Anemia & Healthy Conference) 2019. <https://doi.org/10.14710/jgi.8.2.79-84>
- Hermayanti, D., & Syafitri, F. (2020). Efektifitas Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* lam) Dalam Memperbaiki Profil Serum Iron, Saturasi Transferin, dan Total Iron Binding Capacity Tikus Putih Jantan Diet Rendah Zat Besi. *Herb-Medicine Journal*, 3(1), 1. <https://doi.org/10.30595/hmj.v3i1.6365>
- Indrianti M.D., Tana, S., dan Mardiati, S.M. (2015). Hematologi Kelinci (*Lepus* sp.) setelah Perlakuan Implantasi Material Stainless Steel Aisi 316L Selama 2,5 Bulan. *Buletin Anatomi dan Fisiologi*, 23(2): 79-87.
- Kemenkes RI. (2018). Laporan Nasional Riskesdas 2018. *Badan Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan*, pp. 1–198. Retrieved from http://labdata.litbang.kemkes.go.id/images/download/laporan/RKD/2018/Laporan_Nasional_RKD2018_FINAL.pdf
- Rineau, E., Gueguen, N., Procaccio, V., Geneviève, F., Reynier, P., Henrion, D., & Lasocki, S. (2021). Iron deficiency without anemia decreases physical endurance and mitochondrial complex I activity of the oxidative skeletal muscle in the mouse. *Nutrients*, 13(4). <https://doi.org/10.3390/nu13041056>
- Sandy E. N., liliawanti., Kurnia W.(2021) Pengaruh pemberian ekstrak rumput laut coklat (*Sargasum duplicatum*) terhadap peningkatan kadar hemoglobin pada darah tikus jantan (*Rattus Norvegicus*) galur Wistar anemia yang diinduksi NaNO₂. *Ocean Biomedicina Journal*, Vol. 4 No. 1 <https://doi.org/10.30649/obj.v4i1.51>
- Wang, X., Flores, S. R. L., Ha, J. H., Doguer, C., Woloshun, R. R., Xiang, P., ... Collins, J. F. (2018). Intestinal DMT1 is essential for optimal assimilation of dietary copper in Male and female mice with iron-deficiency anemia. *Journal of Nutrition*, 148(8), 1244–1252. <https://doi.org/10.1093/jn/nxy111>
- Wang, X., Garrick, M. D., & Collins, J. F. (2019). *Animal models of Normal and Disturbed Iron and Copper Metabolism. Journal of Nutrition*, 149(12), 2085–2100. <https://doi.org/10.1093/jn/nxz172>
- Widyastuti, D. A. (2013). Profil Darah Tikus Putih Wistar pada Kondisi Subkronis

Pemberian Natrium Nitrit. *Jurnal Sain Veteriner*, 31(2), 0126-0421.
<https://doi.org/10.22146/jsv.34697>