



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar Unand.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Unand.

# **PENGARUH PEMBERIAN KALSIUM VITAMIN D DAN ZAT BESI TERHADAP KADAR KALSIUM SERUM TIKUS PUTIH (*rattus novergicud*) GALUR WISTAR**

**TESIS**



**ERINA MASRI  
06212002**

**PROGRAM STUDI ILMU BIOMEDIK  
PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS ANDALAS  
PADANG 2009**

**Pengaruh pemberian kalsium vitamin D dan zat besi terhadap kadar kalsium serum tikus putih (*Rattus novergicus*) galur wistar**

oleh: Erina Masri

(Dibawah bimbingan Prof. dr. Rahmatina B Herman, PhD, AIF)

UNIVERSITAS ANDALAS  
RINGKASAN

Defisiensi kalsium merupakan salah satu penyebab dari osteoporosis. Penyebab potensial defisiensi kalsium dan demineralisasi tulang adalah karena tidak adanya vitamin D yang berfungsi dalam pemeliharaan kalsium plasma (homeostasis) dan mempunyai efek yang kuat dalam meningkatkan absorpsi kalsium dari saluran pencernaan. Vitamin D eksogen dan endogen (pre vitamin D) menjadi bentuk aktif yaitu 1,25-dihidroksivitamin D melalui reaksi hidroksilasi di dalam hati dan ginjal. Proses hidroksilasi vitamin D tersebut membutuhkan tiga komponen system enzim dari zat besi yaitu *flavoprotein*, *iron sulfur protein* dan sitokrom P-450. Kombinasi sitokrom P-450 pada mitokondria renal dengan *ferredoksin (iron sulfur protein)*, *NADPH* dan *ferredoksin reductase* akan mengubah 25 hidroksivitamin D, membentuk 1,25-dihidroksivitamin D yang berfungsi meningkatkan absorpsi kalsium sehingga kadar kalsium plasma meningkat. Kondisi defisiensi besi diduga mengganggu aktifasi vitamin D yang akan mengganggu absorpsi kalsium. Bila kadar kalsium darah turun dibawah normal, tubuh akan mengambilnya dari tulang untuk menjaga keseimbangan kalsium darah tersebut. Pengambilan kalsium dari tulang dalam waktu lama akan menyebabkan pengeroposan tulang atau osteoporosis. Penelitian ini adalah untuk mempelajari pengaruh pemberian kalsium, vitamin D dan zat besi terhadap kadar kalsium serum.

Jenis penelitian adalah *eksperimental static group comparison* dengan model rancangan *Pretest-posttest Design* untuk mengetahui perbedaan rata-rata kadar kalsium darah sebelum dan sesudah pemberian kalsium, vitamin D dan zat besi pada kelompok sampel, dan dibandingkan dengan kelompok kontrol. Sampel pada

penelitian adalah tikus putih galur Wistar yang dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok kontrol negatif yang hanya diberi makanan, kontrol positif diberi makanan dan kalsium, tiga kelompok perlakuan masing-masing dengan kombinasi kalsium dan vitamin D, kalsium dan zat besi, serta kombinasi kalsium, vitamin D dan zat besi. Penelitian ini dilakukan dua tahap, tahap pertama menjadikan kelompok sample dalam kondisi defisiensi besi. Hal ini dilakukan dengan pemberian makanan rendah zat besi berupa jagung selama 14 hari, kemudian diperiksa kadar besi serumnya. Kondisi defisiensi besi ini dibuat dengan tujuan untuk melihat efek pemberian zat besi pada kombinasi kalsium dan vitamin D pada hewan coba yang mengalami defisiensi besi terhadap kadar kalsium serum. Tahap kedua adalah perlakuan dengan pemberian kalsium, vitamin D dan zat besi. Kalsium, vitamin D dan zat besi diberikan secara oral satu kali sehari selama 14 hari dengan dosis kalsium 14,4 mg/hr, vitamin D 0,09 µg/hari dan zat besi 0,15 mg/hari pada tikus yang sudah mengalami defisiensi besi.

Pemberian makanan rendah zat besi berupa jagung telah menurunkan kadar besi serum secara bermakna. Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa terdapat peningkatan kadar kalsium serum secara bermakna setelah pemberian kombinasi kalsium dan vitamin D ( $p < 0,05$ ) dan kombinasi kalsium, vitamin D dan zat besi ( $p < 0,05$ ). Pemberian kombinasi kalsium, vitamin D dan zat besi ternyata meningkatkan kadar kalsium serum lebih banyak dibandingkan dengan pemberian kombinasi kalsium dan vitamin D saja ( $p = 0,000$ ). Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian kalsium tanpa vitamin D tidak dapat meningkatkan absorpsi kalsium. Penambahan zat besi pada kondisi anemia defisiensi besi dapat meningkatkan absorpsi kalsium dan kadar kalsium serum melalui perannya dalam aktivasi 1,25 dihidroksivitamin D.

## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis ucapkan kehadirat Allah SWT, yang telah melimpahkan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini. Tesis ini ditulis berdasarkan hasil penelitian yang berjudul **"Pengaruh Pemberian Kalsium Vitamin D dan Zat Besi Terhadap Kadar Kalsium Serum pada Tikus Putih (*Rattus novergicus*) Galur Wistar"**

Penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada Yth:

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Novirman Jamarun, MSc sebagai Direktur Pascasarjana Universitas Andalas
2. Bapak Dr.dr. Adnil Edwin Nurdin, SpKj sebagai Ketua Program Studi Ilmu Biomedik Pascasarjana Universitas Andalas
3. Ibu Prof.dr. Rahmatina B Herman, PhD, AIF sebagai pembimbing yang telah memberikan pengarahan dan bimbingan selama penelitian dan penulisan tesis ini.
4. Bapak dr. Zulkarnain Edwar, MSc, PhD sebagai penguji I yang telah banyak mengarahkan dan memberi masukan untuk penelitian ini
5. Bapak Dr. dr. Hafni Bachtiar, MPH sebaga penguji II yang telah banyak memberikan saran dan kritik sehingga penulisan tesis ini terwujud.
6. Bapak Prof. dr. Fadil Oenzil, PhD, SpGK sebagai penguji III yang telah banyak mengarahkan dan memberi masukan untuk penelitian ini
7. Kepala dan petugas Laboratorium Farmasi dan Laboratorium Biokimia Universitas Andalas Padang.

Akhirnya penulis berharap semoga hasil penelitian yang ditulis dalam bentuk tesis ini akan bermanfaat dalam pengembangan ilmu pengetahuan dalam pencegahan gangguan kesehatan akibat gangguan homeostasis kalsium.

Padang, Februari 2009

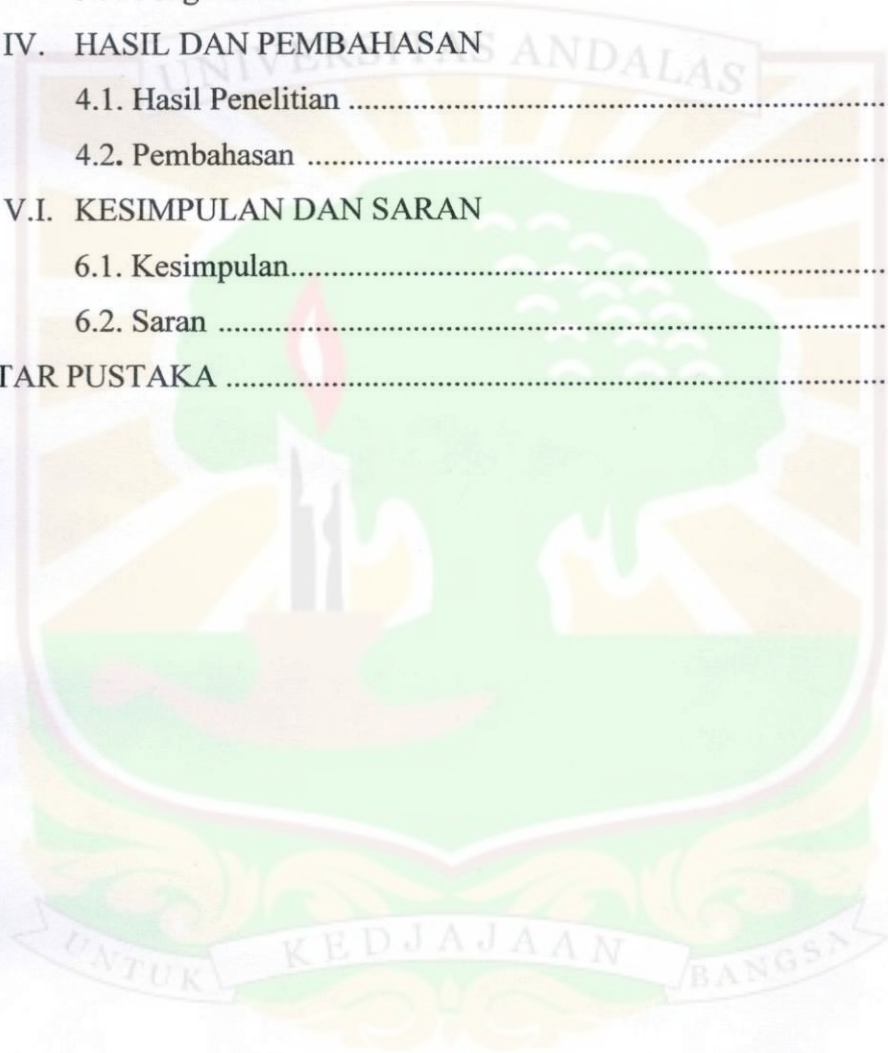
Penulis

## DAFTAR ISI

Halarnan

KATA PENGANTAR .....	i
DAFTAR ISI .....	ii
DAFTAR TABEL .....	iv
DAFTAR GAMBAR .....	v
DAFTAR LAMPIRAN .....	vi
<b>BAB I. PENDAHULUAN</b>	
1.1. Latar Belakang Masalah.....	1
1.2. Rumusan Masalah .....	5
1.3. Tujuan Penelitian .....	6
1.4. Hipotesis .....	6
1.5. Manfaat Penelitian .....	6
<b>BAB II. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1. Kalsium Darah .....	7
2.2. Zat Besi .....	8
2.3. Vitamin D .....	15
2.4. Kalsium .....	19
2.5. Interelasi Zat Besi dengan Vitamin D .....	29
2.6. Efek Hormonal 1,25- Dihidroksivitamin D terhadap Kalsium .....	32
2.7. Kalsium dan Osteoporosis .....	32
2.8. Kerangka Teori .....	37
2.9. Kerangka konsep .....	38
<b>BAB III. METODOLOGI PENELITIAN</b>	
3.1. Tempat dan Waktu Penelitian .....	39
3.2. Disain Penelitian .....	39
3.3. Populasi dan sampel .....	39
3.4. Variabel Penelitian dan Defenisi Operasional .....	41

3.5. Alat dan Bahan .....	42
3.6. Alur Penelitian .....	44
3.7. Prosedur Kerja .....	45
3.8. Validasi Alat .....	47
3.9. Pengolahan dan Analisa Data.....	47
<b>BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
4.1. Hasil Penelitian .....	49
4.2. Pembahasan .....	53
<b>BAB V.I. KESIMPULAN DAN SARAN</b>	
6.1. Kesimpulan.....	60
6.2. Saran .....	61
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>62</b>

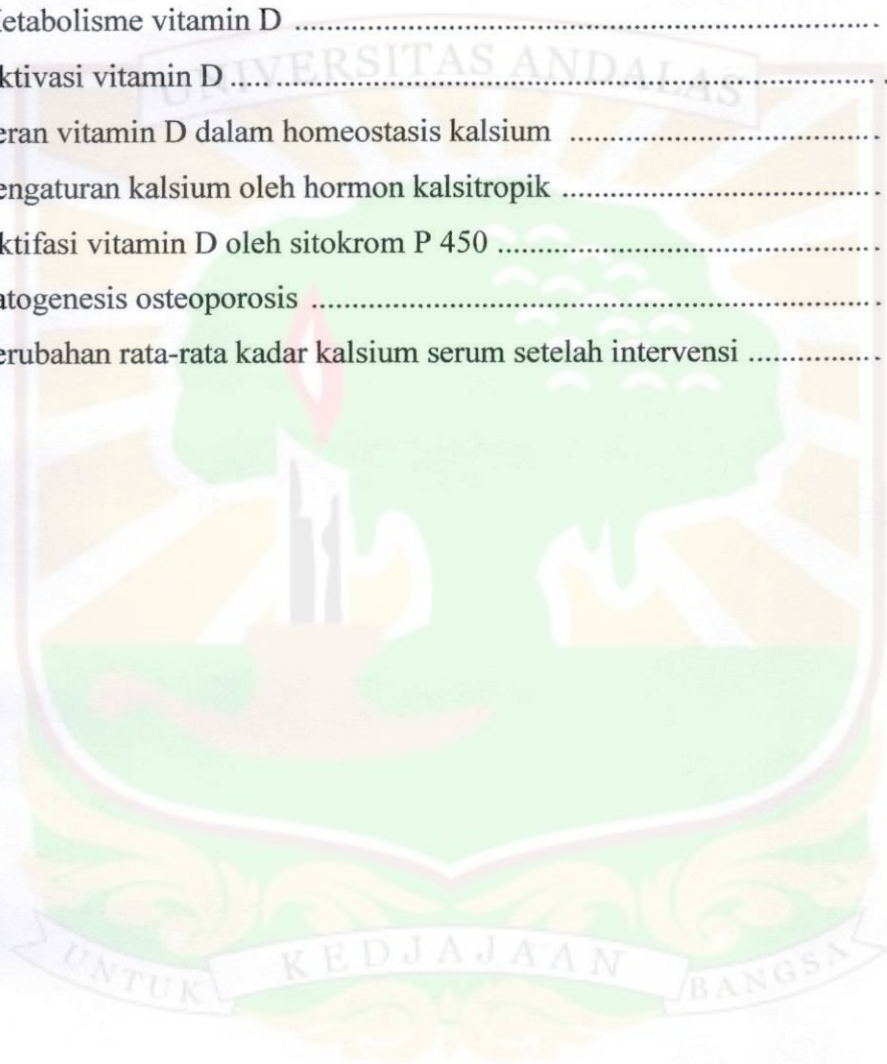


**DAFTAR TABEL**

Nomor	Halaman
1. Kompartemen zat besi dalam tubuh .....	12
2. Senyawa besi dan fungsinya dalam tubuh .....	14
3. Angka Kecukupan Zat Besi yang Dianjurkan .....	14
4. Angka Kecukupan Vitamin D .....	19
5. Angka Kecukupan Kalsium yang Dianjurkan .....	20
6. Makanan Sumber Kalsium .....	21
7. Kadar besi serum setelah perlakuan khusus untuk penurunan kadar besi .....	50
8. Kadar kalsium serum sebelum dan setelah intervensi .....	50
9. Perbedaan Selisih Rata-Rata Kadar Kalsium Antar kelompok Intervensi .....	52

**DAFTAR GAMBAR**

Nomor	Halaman
1. Photobiogenesis Vitamin D .....	16
2. Metabolisme vitamin D .....	17
3. Aktivasi vitamin D .....	18
4. Peran vitamin D dalam homeostasis kalsium .....	24
5. Pengaturan kalsium oleh hormon kalsitropik .....	27
6. Aktifasi vitamin D oleh sitokrom P 450 .....	31
7. Patogenesis osteoporosis .....	34
8. Perubahan rata-rata kadar kalsium serum setelah intervensi .....	52





**DAFTAR LAMPIRAN**

Nomor	Halaman
1. Hasil Pengolahan Data .....	66
2. Surat Keterangan Penelitian .....	72
3. Dokumentasi Penelitian .....	77



# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Pembangunan menuju Indonesia sehat 2010 bertujuan untuk meningkatkan kesadaran, kemajuan dan kemampuan hidup bagi setiap orang agar terwujud derajat kesehatan yang optimal dengan meningkatkan mutu sumber daya manusia. Dalam Undang-Undang RI No.23 tentang kesehatan menyatakan bahwa setiap keluarga harus melakukan dan mengembangkan kesehatan keluarganya (Depkes RI, 2001).

Di dunia osteoporosis termasuk masalah kesehatan di seluruh dunia dan menjadi masalah kesehatan utama di negara berkembang (Linder M, 1992; Kalim dan Suryana, 2002). Osteoporosis merupakan suatu penyakit sistemik tulang yang salah satunya disebabkan oleh gangguan ketidakseimbangan kalsium. Penyakit ini ditandai dengan berkurangnya densitas massa tulang dan kerusakan mikroarsitektur jaringan tulang, sehingga tulang akan menjadi rapuh dan mudah patah (Sambo P dan Adam MFJ: 2002). Massa tulang yang berkurang akan menyebabkan tulang semakin tipis dan rapuh sehingga mudah patah pada trauma yang ringan (Suheimi, HK, 2003).

Resiko terjadinya fraktur akibat penyakit osteoporosis sebanyak 40% pada wanita kulit putih usia 50 tahun. Menurut kriteria WHO diperkirakan 15% dewasa muda kulit putih mengalami osteopenia (berkurangnya massa tulang) dan kira-kira 6% mengalami osteoporosis. Pada usia 60-70 tahun 1 diantara 3 wanita kulit putih akan mengalami osteopenia, sedangkan pada usia 70- 80 tahun 70% akan mengalami osteoporosis.

Meningkatnya prevalensi osteoporosis dengan fraktur merupakan problem kesehatan masyarakat yang menyebabkan tingginya biaya perawatan (Kalim dan Suryana, 2002). Penderita osteoporosis akan mengalami ketidak berdayaan atau ketergantungan pada orang lain (Blake dan Fogelmean, 1999). Menurut hasil penelitian yang dilakukan oleh Pusat Penelitian dan Pengembangan (Puslitbang) Gizi Departemen Kesehatan pada 14 propinsi menunjukkan bahwa masalah osteoporosis di Indonesia telah mencapai pada tingkat yang perlu diwaspadai. Penelitian Badan Litbang Kesehatan, Departemen Kesehatan pada tahun 2005 di 14 propinsi menunjukkan 19,7% menderita osteoporosis dan osteopenia 41,7 %. Satu dari tiga perempuan dan satu dari lima laki-laki Indonesia cenderung rawan osteoporosis (Subeno BT, 2006).

Pada tahun 2005 penelitian tentang osteoporosis di Kota Padang menunjukkan hasil yaitu dari 113 orang yang diperiksa densitas tulangnya, 13 11,5% menderita osteoporosis, 31,8% osteopenia dan 56,7% normal (Syahbudin S, 2005). Data yang diperoleh dari Rumah Sakit Umum Dr.M. Djamil Padang, pada tahun 2006 dengan menggunakan alat diagnostik densitometri menunjukkan 6,5% pasien terdeteksi osteoporosis, 41,86% osteopenia dan 51,16% normal. Dengan demikian terdapat hampir separuh pasien yang diperiksa densitas masa tulangnya mengalami gangguan densitas masa tulang.

Kalsium merupakan komponen mineral utama tulang, yang diendapkan pada matriks tulang dalam bentuk kristal hidroksipatit. Tulang terdiri dari matriks organik keras dan diperkuat oleh oleh endapan garam kalsium yang penting untuk proses osteogenesis (Robbins dan Stanley, 1995). Lebih kurang 99% dari keseluruhan kalsium tubuh berada di dalam tulang dan gigi. Asupan kalsium berperan penting

untuk mempertahankan keseimbangan kalsium secara positif sehingga cadangan kalsium tulang tidak diambil untuk menjaga keseimbangan kalsium darah (Cumming, 1997). Bila kadar kalsium darah turun dibawah normal, tubuh akan mengambilnya dari tulang untuk menjaga keseimbangan kalsium darah tersebut. Pengambilan kalsium dari tulang dalam waktu lama akan menyebabkan pengeroposan tulang. Oleh karena adanya kalsium yang harus selalu hilang melalui tinja dan urin, maka intake dan absorpsi kalsium yang adekuat penting untuk menjaga keseimbangan kalsium yang positif (Robbins MD, 1995).

Penyebab potensial defisiensi kalsium dan demineralisasi tulang adalah karena tidak adanya vitamin D, tidak adanya kalsium dari makanan dan tingginya tingkat ekskresi kalsium (Linder M, 1992). Saluran pencernaan, ginjal, hati dan tulang merupakan organ dan jaringan yang berperan dalam mengatur keseimbangan kalsium di dalam darah, dibawah pengaruh hormon-hormon kalsitropik (hormon paratiroid, vitamin D, kalsitonin melalui suatu mekanisme umpan balik yang kompleks (Rudijanto A, 2002). Vitamin D mempunyai efek yang kuat dalam meningkatkan absorpsi kalsium dari saluran pencernaan. Vitamin D eksogen (makanan) dan endogen bukan bentuk aktif (pre vitamin D) yang mempunyai efek langsung untuk absorpsi kalsium, tapi vitamin D tersebut harus dirubah melalui serangkaian reaksi di dalam hati dan ginjal menjadi bentuk aktif yaitu 1,25-dihidroksivitamin D atau yang disebut 1,25 dihidroksikolekalsiferol (kalsitriol) (Guyton dan Hall, 1997). Proses aktivasi pre vitamin D (25 hidroksivitamin D atau *calcidiol*) menjadi vitamin D aktif (1,25-dihidroksivitamin D) adalah melalui proses hidroksilasi. Proses hidroksilasi vitamin D tersebut membutuhkan tiga komponen sistem yaitu *flavoprotein*, *iron sulfur protein* dan sitokrom P-450. Kombinasi

sitokrom P-450 pada mitokondria renal dengan *ferredoksin (iron sulfur protein)*, *NADPH dan ferredoksin reductase* akan merubah 25 hidroksivitamin D, membentuk 1,25-dihidroksivitamin D. Oleh sebab itu proses hidroksilasi tergantung pada zat besi, dimana zat besi dalam enzim tersebut berfungsi untuk transpor elektron dan oksidasi (Deluca, 1996). Enzim pokok untuk metabolisme vitamin D adalah vitamin D3 25-hydroxylase (CYP27A1), 25-hidroksivitamin D3 *1 $\alpha$ -hydroxylase* (CYP27B1) dan *1 $\alpha$  25-dihydroxyvitamin D3, 24-hydroxylase* (CYP24A1), enzim- enzim tersebut adalah jenis- jenis dari cytochrome P450 (Sakaki T, 2005).

Vitamin D berfungsi dalam pemeliharaan kalsium plasma (homeostasis) sehubungan dengan hormone paratiroid. Regulasi kalsium akan berpengaruh terhadap berbagai fungsi biologi tubuh termasuk proses ekstraselular, seperti pembekuan darah, adhesi interselular dan integritas tulang. Proses intraselular, seperti regulasi sekresi hormonal pembelahan sel dan motilitas sel (Arsana PM, 2002). Vitamin D mempunyai efek yang kuat dalam mengabsorpsi kalsium dari saluran pencernaan (Guyton dan Hall, 1997). Fungsi ini esensial untuk metabolisme tulang dalam jangka panjang dan untuk pemeliharaan fungsi- fungsi sel dan saraf (Linder M, 1992).

Defisiensi Vitamin D dan hipokalsemia dapat menyebabkan konvulsif secara tiba-tiba (Linder, 1992). Vitamin D dapat memperlambat penurunan densitas tulang, karena vitamin D mampu memelihara kesehatan tulang dengan cara meningkatkan penyerapan kalsium dalam intestin dan mengurangi ekskresi kalsium melalui ginjal.

Berdasarkan deskripsi diatas diduga defisiensi zat besi berpengaruh terhadap aktifasi 25- hidroksivitamin D menjadi bentuk vitamin D aktif (1,25-dihidroksivitaminD), yang pada akhirnya akan berpengaruh terhadap metabolisme

kalsium. Berdasarkan deskripsi diatas maka peneliti ingin meneliti mengenai pengaruh zat besi terhadap kalsium darah yang akan dilakukan pada tikus putih galur wistar.

## **1.2 Perumusan Masalah**

Dilatarbelakangi oleh tingginya angka kejadian salah satu penyakit akibat ketidakseimbangan kalsium yaitu osteoporosis, maka diperlukan inovasi baru dengan pemanfaatan zat besi (Fe) untuk mengaktifasi vitamin D menjadi bentuk aktif 1,25-dihidroksivitamin D yang berperan dalam peningkatan absorpsi kalsium. Dengan demikian dapat dirumuskan permasalahan pada penelitian ini “Apakah pemberian kalsium (Ca), vitain D dan zat besi (Fe) berpengaruh terhadap kadar kalsium serum pada tikus putih galur wistar”.

## **1.3 Tujuan Penelitian**

### **1.3.1 Tujuan Umum**

Untuk mengetahui pengaruh pemberian kalsium, vitamin D dari zat besi terhadap kadar kalsium serum pada tikus putih.

### **1.3.2 Tujuan Khusus**

- 1.3.2.1 Diketuhiunya kadar besi serum sampel penelitian sebelum perlakuan
- 1.3.2.2 Diketuhiunya kadar kalsium serum sampel penelitian kelompok kontrol
- 1.3.2.3 Diketuhiunya kadar kalsium serum sampel penelitian sebelum dan setelah pemberian kalsium dan vitamin D

1.3.2.4 Diketuainya kadar kalsium serum sampel penelitian sebelum dan setelah pemberian kalsium dan zat besi

1.3.2.5 Diketuainya kadar kalsium darah sampel penelitian sebelum dan setelah pemberian kalsium, vitamin D dan zat besi

1.3.2.6 Diketuainya perbedaan kadar kalsium serum antara kelompok perlakuan

#### **1.4 Hipotesis**

Pemberian kalsium, vitamin D dan zat besi berpengaruh terhadap kadar kalsium serum.

#### **1.5 Manfaat Penelitian**

1.5.1 Memberikan informasi tentang peranan zat besi terhadap peningkatan absorpsi kalsium

1.5.2 Memberikan informasi pengaruh anemia defisiensi besi terhadap kalsium darah yang pada akhirnya berpengaruh terhadap kesehatan tulang

1.5.3 Meningkatkan pengetahuan dan kemampuan peneliti dalam pengembangan penelitian berikutnya.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Kalsium Darah**

Kadar kalsium dalam darah diatur oleh hormon paratiroid, kalsitonin dan vitamin D. Hormon paratiroid dan vitamin D meningkatkan kalsium darah dengan cara sebagai berikut :

- a. Vitamin D mengakselerasi absorpsi kalsium dari usus halus
- b. Vitamin D dan hormon paratiroid merangsang pelepasan kalsium dari tulang ke dalam darah.
- c. Vitamin D dan hormon paratiroid menunjang reabsorpsi di dalam ginjal.

Kalsitonin menghambat resorpsi tulang tetapi tidak berperan seperti hormon paratiroid dan vitamin D yang bekerja secara terus menerus dalam melakukan regulasi keseimbangan kalsium (Panusunan, 2004). Konsentrasi kalsium dalam serum dan cairan ekstra sel diatur supaya berada diantara 8,5% - 10,5% mg/dL. Ini merupakan kadar normal kalsium serum normal pada orang dewasa. Secara teratur kalsium masuk dan keluar dalam darah melalui tiga organ yaitu tulang, ginjal dan usus halus (Panusunan, 2004).

Total kalsium dipertahankan dalam skala yang sempit guna memberi pengaruh yang optimal terhadap bekerjanya stabilitas membrane sel, bermacam-macam fungsi sel di berbagai jaringan, hantaran syaraf, koagulasi darah maupun struktur tulang (Delfos LJ, 1998). Asupan kalsium berperan penting untuk mempertahankan keseimbangan kalsium positif sehingga cadangan kalsium tulang tidak diambil untuk menjaga keseimbangan kalsium darah (Syahbudin S, 2004).



Bila kadar kalsium darah turun dibawah normal, tubuh akan mengambilnya dari tulang untuk menjaga keseimbangan kalsium darah tersebut. Pengambilan kalsium dari tulang dalam waktu lama akan menyebabkan pengeroposan tulang (Robbins dan Stanley, 1995).

Lebih dari 98% kalsium dalam tubuh ada di dalam tulang, 1% diantaranya merupakan kalsium yang secara bebas dapat bertukar (*exchangeable*) dengan kalsium ekstrasel. Dari 1% *exchangeable calcium* berada dalam bentuk terionisasi, dan merupakan bentuk kalsium yang secara biologis paling aktif terikat dengan protein. Protein yang mengikat kalsium tersebut adalah albumin dan globulin. Gangguan yang menyebabkan kadar albumin turun akan menurunkan kadar kalsium serum total, tetapi hanya sedikit berpengaruh terhadap kadar *ionized calcium* (Soedmadji W, 2002).

## 2.2 Zat Besi

Zat besi adalah mikroelemen esensial yang paling banyak dalam tubuh manusia. Sebagian besar zat besi terdapat terkonyugasi dengan protein dan terdapat dalam bentuk  $Fe^{++}$  atau  $Fe^{+++}$ . Kelebihan khusus zat besi dari mineral lain adalah dengan mudah berubah diantara dua bentuk, sehingga dapat sebagai katalisator dalam reaksi redoks dengan memberi dan menerima elektron (Bowman R, 2001).

Zat besi diperlukan dalam pembentukan darah (hemopoiesis) dari sintesa hemoglobin, proses metabolisme, mengangkut oksigen ke jaringan, sintesis (DNA), mangangkut elektron-elektron yang dibutuhkan sel dan sebagai kofaktor enzim-enzim pada respirasi mitokondria, proliferasi dan aktifasi dari sel T, berperan pada mekanisme oksidase seluler (fungsi sistem sitokrom) (Fairbanks V F, 1998).

Orang dewasa mengandung antara 2,5-4 gr, dimana 2-2,5 gr berada dalam sirkulasi yakni dalam sel darah merah sebagai komponen Hb. Sebanyak kira-kira 300 mg erat hubungannya dengan beberapa enzim, terutama heme yang mengandung sitokrom dan dalam kompleks Fe-S-protein (*iron sulfur protein*) dalam transport elektron dan oksidasi fosforilasi dalam sel, disamping enzim-enzim hati, katalase dan oksigenase triptofan (Linder M, 1992).

### 2.1.1. Aspek Metabolisme Zat Besi.

Metabolisme besi bersifat kompleks, yang terdiri dari absorpsi, distribusi, ekskresi dan penyimpanan.

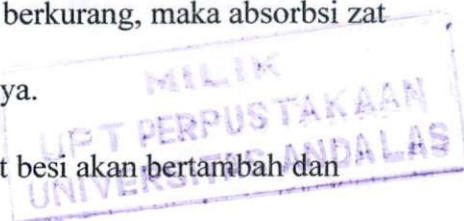
#### a. Absorpsi besi

Zat besi diabsorpsi dalam bentuk ion  $Fe^{++}$  (ferro). Sebelum zat besi diabsorpsi, zat besi ferri diubah menjadi besi ferro melalui proses reduksi. Asam berupa HCL yang secara normal terdapat di dalam lambung dan vitamin C berperan dalam perubahan bentuk besi tersebut (Linder M, 1992). Tubuh menggunakan beberapa mekanisme untuk mengatur absorpsi besi. Pengendalian absorpsi penting karena tubuh tidak dengan mudah menghilangkan besi yang berlebih. Absorpsi besi dipengaruhi oleh kandungan besi pangan, bioavailabilitas besi pangan, kebutuhan tubuh akan besi dan berbagai faktor lain (Yip and Dalman, 1996).

Menurut Fairbanks VF (1998) faktor-faktor yang mempengaruhi absorpsi zat besi:

#### 1). Faktor endogen.

- Bila jumlah zat besi yang disimpan dalam depot berkurang, maka absorpsi zat besi akan bertambah dan demikian pula sebaliknya.
- Bila aktivitas eritropoiesis naik, maka absorpsi zat besi akan bertambah dan



demikian pula sebaliknya.

- Bila kadar Hemoglobin berkurang, maka absorpsi zat besi akan bertambah dan demikian pula sebaliknya.

## 2). Faktor eksogen.

- Komposisi zat besi dalam bentuk  $Fe^{++}$  (ferro) atau  $Fe^{+++}$  (ferri) yang didapati dalam sumber makanan.
- Sifat kimiawi makanan yang dapat menghambat atau mempermudah absorpsi zat besi.

Vitamin C mempermudah absorpsi zat besi karena dapat mereduksi dari bentuk ferri ke bentuk ferro, Vitamin E menaikkan absorpsi zat besi karena dapat merangsang eritropoiesis

## 3). Faktor usus sendiri .

- Sekresi pankreas menghambat absorpsi zat besi.
- Asam lambung mempermudah absorpsi zat besi karena dapat merubah bentuk  $Fe^{++}$  (ferro) menjadi bentuk  $Fe^{+++}$  (ferri), disamping itu asam lambung mencegah terjadinya persenyawaan zat besi dengan fosfat yang dapat larut dalam air, maka pada penderita akhlorhidria dan post gastrektomi selalu dijumpai adanya defisiensi besi.
- Gastroferin, yaitu suatu protein yang berasal dari sekresi lambung dapat mengikat besi. Pada anemia defisiensi besi dan hemokromatosis kadar gastroferinnya berkurang.
- Sel mukosa usus mempunyai kemampuan untuk mengabsorpsi zat besi dengan teori yang dikenal sebagai "*mucosal barrier*", dimana sel mukosa

usus dapat mempertahankan kadar ion ferro dalam sel dengan cara menjaga keseimbangan antara oksidasi-reduksi. Absorpsi zat besi dalam mukosa usus dilakukan oleh suatu protein yang terdapat didalam dinding usus yang disebut apoferritin. Zat besi setelah terikat oleh apoferritin akan menjadi ferritin, jika sel mukosa usus telah jenuh ferritin maka zat besi tidak dapat diserap lagi oleh mukosa usus, sebaliknya pada keadaan anemia defisiensi besi dimana sel mukosa usus belum jenuh dengan ferritin maka akan terjadi peningkatan absorpsi zat besi.

#### b. Distribusi

Dalam sel epitel mukosa, besi ditransfer ke protein sistolik mobilferin dan paraferitin kemudian diangkut ke sel epitel dan lewat melalui membran sel dalam bentuk ferro. Ketika masuk ke kapiler sub endothelial darah dioksidasi oleh seruloplamin menjadi ferri dan kemudian berikatan dengan transferin yang membawanya ke sistem vena porta, lalu ke hati dan ke semua jaringan tubuh (Fairbanks VF, 1998).

Terdapat empat bentuk zat besi dalam tubuh yaitu (Fairbanks V F, 1998):

- a. Zat besi dalam hemoglobin.
- b. Zat besi dalam depot (cadangan) terutama sebagai ferritin dan hemosiderin.
- c. Zat besi yang ditranspor dalam transferin.
- d. Zat besi parenkhim atau zat besi dalam jaringan seperti mioglobin dan beberapa enzim antara lain sitokrom, katalase, dan peroksidase.

**Tabel 2.1. Kompartemen Zat Besi Dalam Tubuh**

Kompartemen	Jumlah Zat Besi (mg)	% Zat Besi
Hemoglobin	2000-2500	67
Ferritin, Hemosiderin	1000-1500	27
Mioglobin	130	3,5
Pool labil	80	2,2
Hem enzim yang mengandung zat besi (sitokrom, katalase)	8	0,2
Transferrin	2,5-3	0,08
Total	4000	100

Sumber: (Fairbanks VF, 1998)

Dari tabel diatas dapat dilihat bahwa sebagian besar zat besi terikat dalam hemoglobin yang berfungsi khusus, yaitu mengangkut oksigen untuk keperluan metabolisme dalam jaringan-jaringan. Sebagian lain dari zat besi terikat dalam sistem retikuloendotelial (*Reticulo Endothelial System = RES*) hepar dan sumsum tulang sebagai depot besi untuk cadangan. Sebagian kecil dari zat besi dijumpai dalam transporting *iron binding protein* (transferin ), sedangkan sebagian kecil didapati dalam enzim-enzim yang berfungsi sebagai katalisator pada proses metabolisme dalam tubuh. Fungsi-fungsi tersebut diatas akan terganggu pada penderita anemia defisiensi besi (Kuswidayati, 1995). Zat besi diabsorbsi dalam bentuk ion  $Fe^{++}$ . Sebagian besar zat besi yang bebas dalam tubuh akan dimanfaatkan kembali (reutilization), dan hanya sebagian kecil sekali yang diekresikan melalui air kemih, feses dan keringat. Zat besi diabsorbsi dalam bentuk ion  $Fe^{++}$  terutama diduodenum dan jejunum, absorpsi akan lebih baik dalam suasana asam.

### c. Ekskresi

Kehilangan zat besi dari tubuh sedikit dan relatif tetap. Ekskresi bias melalui kulit, urin dan feses. Setiap kehilangan zat besi dari tubuh akan diganti dengan penyerapan besi yang berasal dari makanan (Andrews NC, 1999)

### d. Penyimpanan dan Penimbunan

Kelebihan besi dalam tubuh akan disimpan dalam bentuk feritin kompleks protein yang mudah larut atau dalam bentuk hemosiderin kompleks protein yang tidak mudah larut. Feritin dan hemosiderin tidak merupakan besi bebas, karena besi sangat toksik terhadap sel karena dapat mengkatalisis perubahan  $H_2O_2$  menjadi radikal bebas yang merusak membrane sel, protein dan DNA sehingga besi yang disimpan tidak dalam bentuk kation bebas tetapi sebagai kompleks besi (Adamson JW, 2001). Feritin dan hemosiderin terutama berada dalam hati, sumsum tulang, limfa dan otot rangka

## 2.2.1 Fungsi Besi

Fungsi besi berkaitan dengan sifat fisik dan kimia yang dimiliki, terutama keterlibatannya dalam reaksi oksidasi dan reduksi. Secara kimia besi termasuk unsur yang sangat reaktif sehingga dapat merusak sel atau degradasi DNA. Untuk mencegah efek destruktif tersebut besi harus segera bergabung dengan protein tertentu (Fairbanks VF, 1998). Hemoglobin terdapat dalam sel darah merah dan membawa hampir semua oksigen dari paru-paru ke jaringan. Fungsi biologis besi dalam tubuh manusia yaitu senyawa untuk keperluan metabolic-protein dan senyawa untuk transpor sebagaimana table berikut (Krause, 1997):

**Tabel 2.2 Senyawa besi dan fungsinya dalam tubuh**

1. Metabolic Protein		
Hem protein	Hemoglobin	Transpor O <sub>2</sub> dari paru-paru ke jaringan
	Mioglobin	Transpor dan simpanan O <sub>2</sub> dalam otot
Enzim hem	Sitokrom Sitokrom P-450 Katalase	Transport electron Degradasi oksidatif obat Mengubah H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> → O <sub>2</sub> + H <sub>2</sub> O
Enzim non hem	Besi sulfur dan metallo protein	Metabolisme oksidasi
Enzim "iron dependent"	Triptofan pirolase	Oksidasi triptofan
2. Transpor dan simpanan		
	Transferin Feritin Hemosiderin	Transport besi dan mineral lain Simpanan Simpanan

Sumber: Krause, 1997

### 2.2.3 Angka Kecukupan Zat Besi yang Dianjurkan

**Tabel 2.3 Angka kecukupan zat besi yang dianjurkan**

Life Stage Group	EAR (mg/day)		RDA (mg/day)		AI (mg/day)
	Male	Female	Male	Female	
0-6 months					0,27
7-12 month	6,9	6,3	11	11	
1-3 years	3,0	3,0	7	7	
4-8 years	4,1	4,1	10	10	
9-13 years	5,9	5,7	8	8	
14-18 years	7,7	7,9	11	15	
19-30 years	6	8,1	8	18	
31-50 years	6	8,1	8	18	
51-70 rears	6	5	8	8	
Pregnancy		23		27	
Lactation		7		10	

Sumber: Food and Nutrition Board (Powers J,2005)

## 2.3 Vitamin D

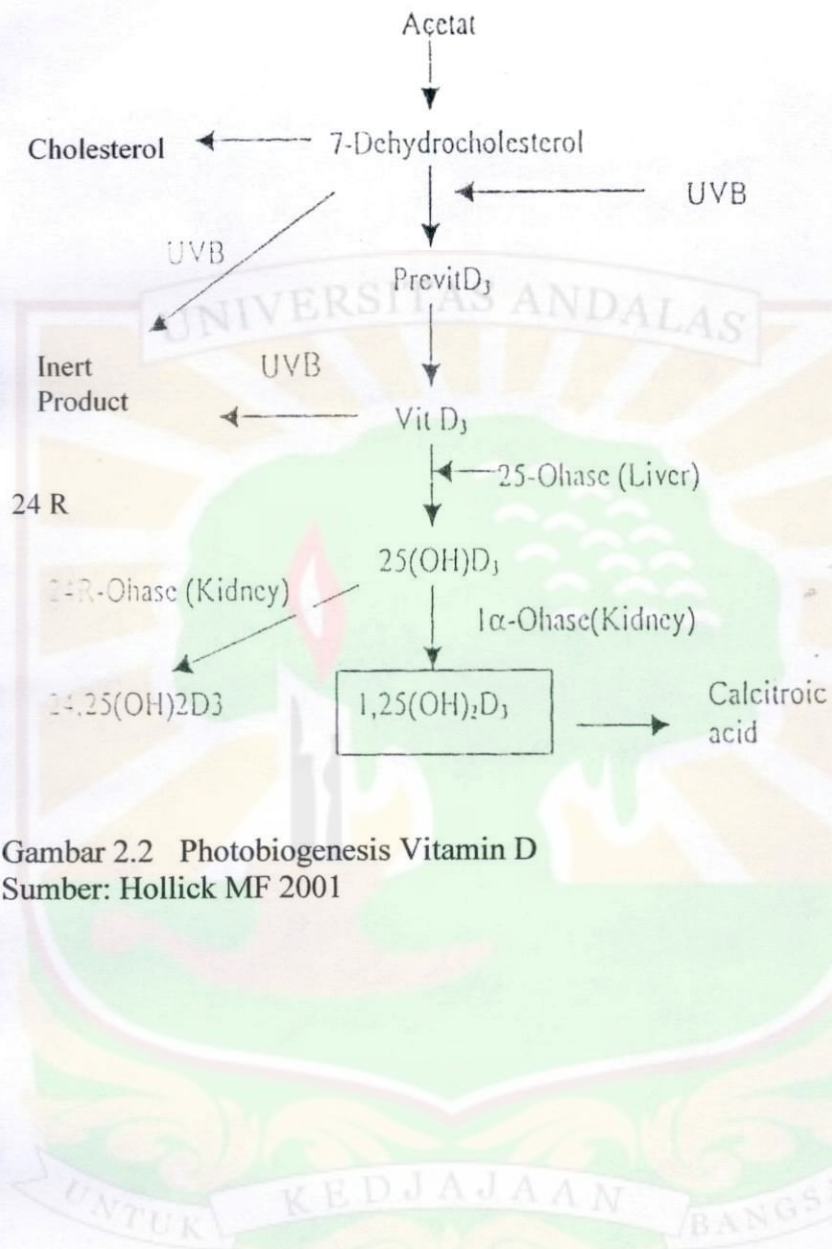
### 2.3.1 Photobiogenesis

Di dalam tubuh vitamin D didapatkan dalam bentuk vitamin D endogen (vitamin D<sub>3</sub>) dan eksogen (vitamin D<sub>2</sub>). Ke dua bentuk tersebut untuk menjadi vitamin D yang aktif memerlukan metabolisme lebih lanjut. Vitamin D larut dalam lemak, dan oleh sebab itu untuk dapat ditransportasikan dalam darah membutuhkan vitamin D-binding protein yang spesifik.

Bentuk vitamin D endogen (*cholecalciferol*) disintesis dalam kulit di bawah pengaruh radiasi ultraviolet (UV) dari metabolit kolesterol (*7-dehydrocholesterol*), sedangkan bentuk eksogen vitamin dari diit. Ketika kulit terpapar oleh sinar matahari, radiasi ultraviolet (UV) memasuki epidermis dan menyebabkan transformasi *7-dehydrocholesterol* (pro vitamin D) menjadi vitamin D<sub>3</sub>. Previtamin D masuk kedalam sirkulasi bersama-sama dengan vitamin D<sub>3</sub> yang diserap dalam saluran cerna, selanjutnya dibawa ke hati.

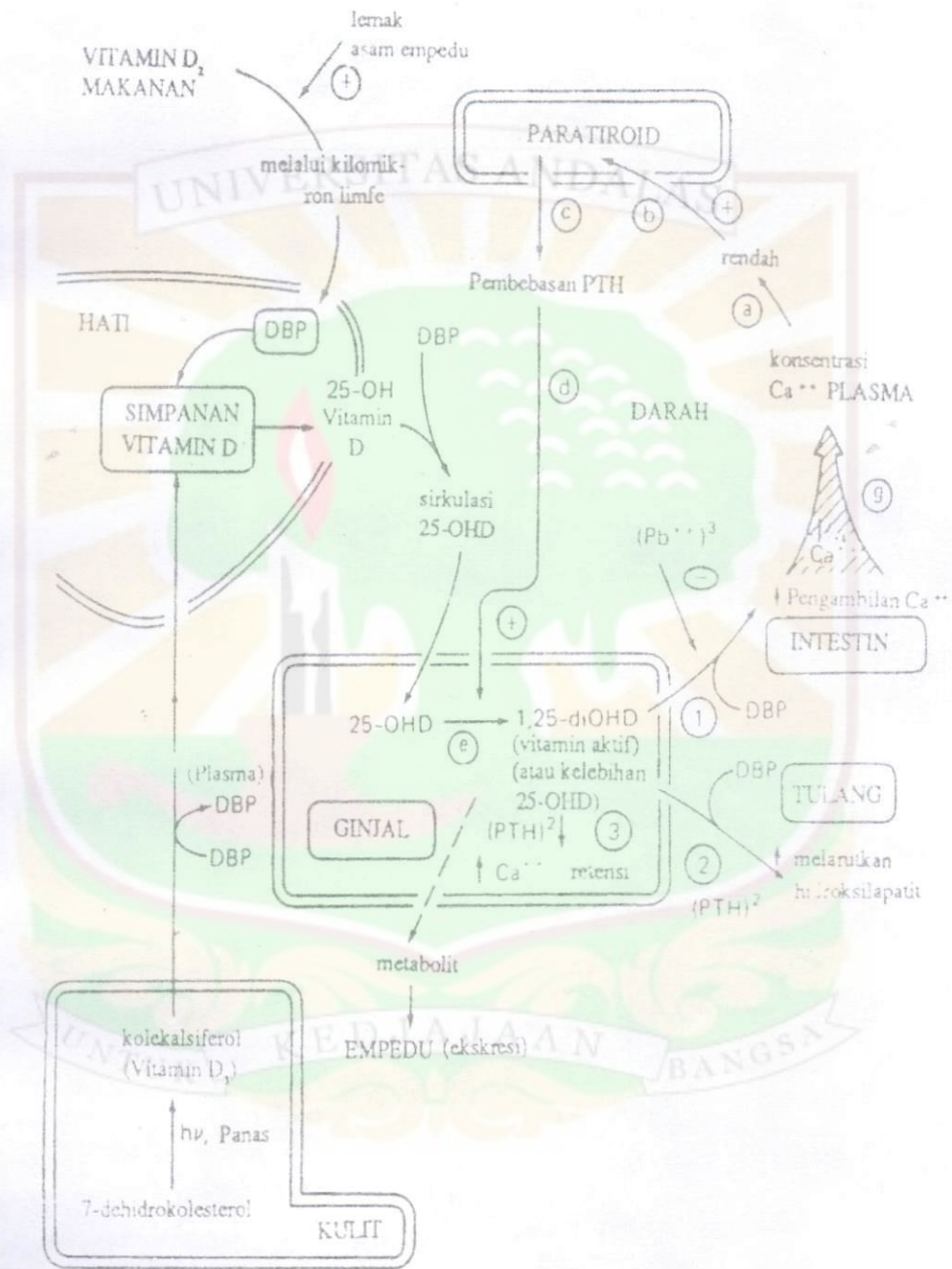
Ketika tubuh terpapar sinar matahari yang cukup kadar vitamin D di dalam darah meningkat setara dengan mengonsumsi vitamin D 10.000- 25.000 IU peroral. Proses aging menurunkan kapasitas kulit memproduksi vitamin D. Pada usia 70 tahun kapasitas tersebut berkurang 4x lipat. Ilustrasi Photobiogenesis vitamin D dapat dilihat pada gambar berikut:





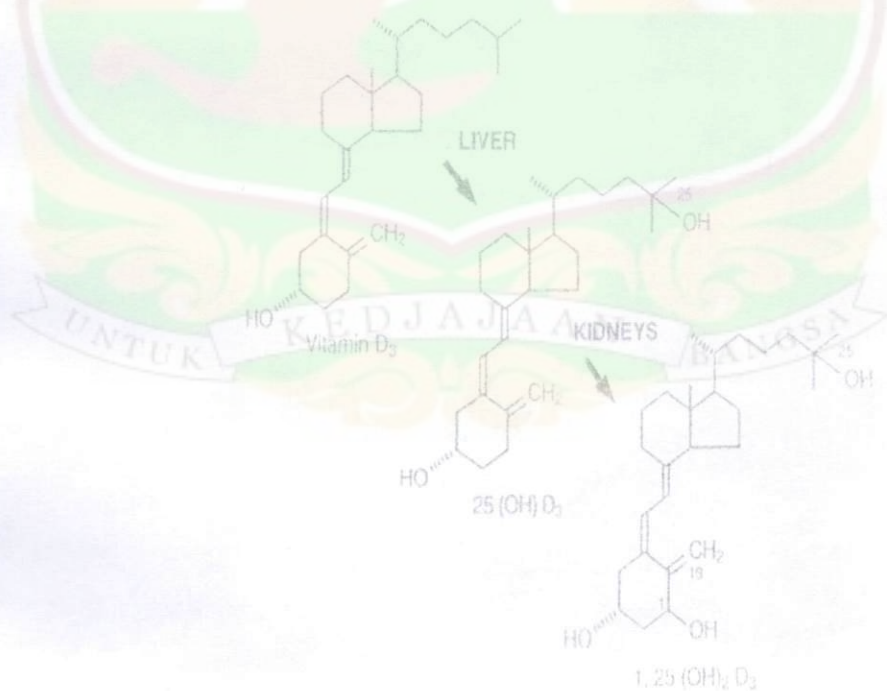
Gambar 2.2 Photobiogenesis Vitamin D  
Sumber: Hollick MF 2001

2.3.2 Metabolisme dan Aktifasi Vitamin D



Gambar 2.3 Metabolisme Vitamin D  
 Sumber: Linder M, 1992

Vitamin D (vitamin D<sub>3</sub> dan D<sub>2</sub>) yang diserap dari makanan masuk sirkulasi darah. Kemudian mengalami hidroksilasi di dalam hati oleh enzim hidrolase diubah menjadi *25-hydroxyvitamin D* [25-(OH)D<sub>3</sub>], bentuk utama fat storage vitamin D. Kadar normal berkisar 15– 50 ng/ml (25- 125 nmol/ml). Setelah dibentuk di hati kemudian *25-hydroxyvitamin D* diikat oleh *vitamin- D binding protein* dan dibawa ke ginjal. Di mitokondria ginjal, 25 (OH)<sub>3</sub> D dengan bantuan enzim *1 $\alpha$ -hydroxylase* menjadi *1,25 dihydroxyvitamin D*, yang merupakan bentuk vitamin D yang paling aktif dan poten. Terakhir akan dibawa ke berbagai organ target, tulang, ginjal, saluran cerna, kelenjer paratiroid dan hipofisis interior. Pada tulang *1,25 dihydroxyvitamin D* dalam jumlah banyak dapat menyebabkan mobilisasi kalsium dan fosfat yang keluar dari tulang. Berikut ilustrasi aktivasi dan metabolisme vitamin D:



Gambar 2.4 Aktivasi Vitamin D  
Sumber: Barbara B, 2001

**Tabel 2.4 Angka kecukupan Vitamin D yang dianjurkan per hari**

Kelompok Umur	Kebutuhan per hari
0-50 tahun (termasuk hamil dan menyusui)	5 µg
51-70 tahun	10 µg
> 70 tahun	70 µg

Sumber: Bowman B, 2001

## 2.4 Kalsium

Kalsium adalah unsur mineral penting terbanyak ke lima dalam tubuh, 99% terdapat pada tulang (Linder, 1992). Kalsium merupakan komponen yang diendapkan pada matriks tulang dalam bentuk kristal hidroksipatit ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ). Tulang merupakan bentuk khusus jaringan ikat yang tersusun oleh kristal-kristal mikroskopik fosfat kalsium di matriks kolagen (Ganong, 2003). Kalsium dalam tubuh terdapat dalam tiga bentuk yaitu sebagai ion bebas, kalsium yang berikatan dengan protein plasma dan dalam bentuk kompleks berikatan dengan asam sitrat.

Kadar protein serum merupakan suatu faktor penting untuk menentukan konsentrasi ion kalsium, sebagian besar kalsium berikatan dengan protein (albumin) (Linder, 1992). Regulasi kalsium dipengaruhi oleh hormon paratiroid, hormon kalsitonin, vitamin D, Cytokine and growth factors (Deftos, LJ, 1998). Selain sebagai komponen utama mineral tulang, kalsium juga berperan dalam proses pembekuan darah dan penyembuhan luka, menghantarkan signal ke dalam sel-sel saraf, mengatur kontraksi otot, membantu transport ion melalui membran (Arsana PM, 2002).

Tabel 2.5 Angka kecukupan kalsium yang dianjurkan per hari

Group	RDA (mg/day) <sup>a</sup>	Optimal Daily Intake (mg/day) <sup>b</sup>
Infant		
• Birth-6 month	400	400
• 6 mths-1 yr	600	600
Children		
• 1-5 yrs	800	800
• 6-10 yrs	800	800-1200
Adolescents/young adults		
• 11-24 yrs	1200	1200-1500
Men		
• 25-65 yrs	800	1000
• Over 65 yrs	800	1500
Women		
• 25-50 yrs	800	1000
• Over 50 yrs (postmenopausal)		
○ On esterogens	800	1000
○ Not on esterogens	800	1500
• Over 65 yrs	800	1500
• Pregnant and Lactating	1200	1200-1500

<sup>a</sup> National research council (1989) Recommended dietary allowances (10<sup>th</sup> edition) National Academy Press.

Sumber: Bowman B,2001

### 2.3.1 Makanan Sumber Kalsium

**Tabel 2. 6 Bahan makanan sumber kalsium**

No	Jenis Pangan (100 gram)	Kandungan Kalsium (mg)
1	Belut	840
2	Teri kering	592
3	Dendeng mujair	587
4	Saga tanpa biji	531
5	Rebon kering	461
6	Susu Kerbau	432
7	Tepung susu skim	390
8	Bungkil kacang tanah	328
9	Teri	302
10	Ikan asin	300
11	Daun pete cina	286
12	Susu sapi	271
13	Tepung susu	261
14	Bayam merah	256
15	Daun Pohan	250
16	Susu Skim tanpa lemak	240
17	Susu bayi	240
18	Yoghurt	234
19	Kacang merah	233
20	Keju	200
21	Biji jambu mete	200
22	Coklat batang	200
23	Susu kambing	196
24	Ikan Peda	195
25	Kepala susu (cream)	194
26	Sawi	191
27	Daun mangkogan	189
28	Bayam segar	189
29	Udang kecil	189
30	Daun singkong	187
31	Sarden	177
32	Kerupuk udang	168
33	Pepes oncom	107

Sumber: (Wira Kusuma, 2001)

### 2.3.2 Metabolisme Kalsium

Jumlah kalsium yang diserap dari makanan setiap hari tergantung pada proporsi relatif dari zat yang mengendapkan kalsium dalam makanan tersebut, hal ini akan menentukan jumlah kalsium yang secara aktual akan tersedia untuk diserap. Selain itu penyerapan dari makanan juga dipengaruhi oleh tingkat stimulasi dari vitamin D aktif terhadap alat-alat penyerap dalam mukosa intestin yang menentukan jumlah kalsium yang akan diambil (Linder M, 1992).

Absorpsi kalsium terjadi di usus halus bagian proksimal. Sebanyak 30- 80% kalsium dari diet diserap, transpor aktif kalsium keluar dari lumen usus terjadi terutama di usus halus bagian atas dan disini juga terjadi sedikit penyerapan melalui difusi pasif. Transpor aktif difasilitasi oleh 1,25 dihidroksivitamin D yang dibentuk di ginjal, 1,25 dihidroksivitamin D adalah bentuk aktif dari vitamin D yang merupakan hormon utama yang mengontrol penyerapan kalsium di usus (Ganong, 2001). Bila terjadi penurunan kalsium darah, sekresi hormon paratiroid meningkat. Hal ini merangsang pembentukan vitamin D aktif yang memberi sinyal pada tubuli ginjal untuk meningkatkan resorpsi kalsium, merangsang pengeluaran kalsium dari kompartemen cairan tulang dan stimulasi penyerapan kalsium dalam intestin dari diet. Sebaliknya dengan meningkatnya konsentrasi kalsium, sekresi hormon paratiroid menurun, sekresi kalsitonin meningkat yang akan meningkatkan mineralisasi tulang (Linder, M, 1992). Kalsium yang difiltrasi di glomerulus sebagian besar diabsorpsi kembali di tubulus renalis proksimal. Hormon paratiroid dan vitamin D menyebabkan penurunan ekskresi kalsium melalui urin, sedangkan menyebabkan peningkatan kalsium di urin. Kalsium yang tidak diabsorpsi akan dikeluarkan dari

tubuh. Pengeluaran ini melalui lapisan kulit, kuku, rambut, keringat, urine dan feses (Ganong, 2001). Beberapa faktor yang dapat meningkatkan absorpsi kalsium adalah:

1. Tingkat kebutuhan

Peningkatan kebutuhan terjadi pada pertumbuhan, masa kehamilan, menyusui, defisiensi kalsium.

2. Vitamin D

Vitamin D merangsang absorpsi kalsium melalui langkah-langkah kompleks.

Vitamin D meningkatkan absorpsi pada mukosa usus dengan cara ,merangsang produksi protein-pengikat kalsium

3. Asam klorida

Asam klorida yang dikeluarkan oleh lambung membantu absorpsi kalsium dengan cara menurunkan pH di bagian atas usus halus.

4. Makanan yang mengandung lemak.

Lemak meningkatkan waktu transit makanan melalui saluran cerna, dengan demikian memberikan waktu lebih banyak untuk absorpsi kalsium. Faktor-faktor yang menghambat absorpsi kalsium adalah:

Kekurangan vitamin D bentuk aktif, makanan yang mengandung asam oksalat seperti bayam dan sayuran lain makanan tinggi serat karena mempercepat waktu transit makanan di dalam saluran cerna.



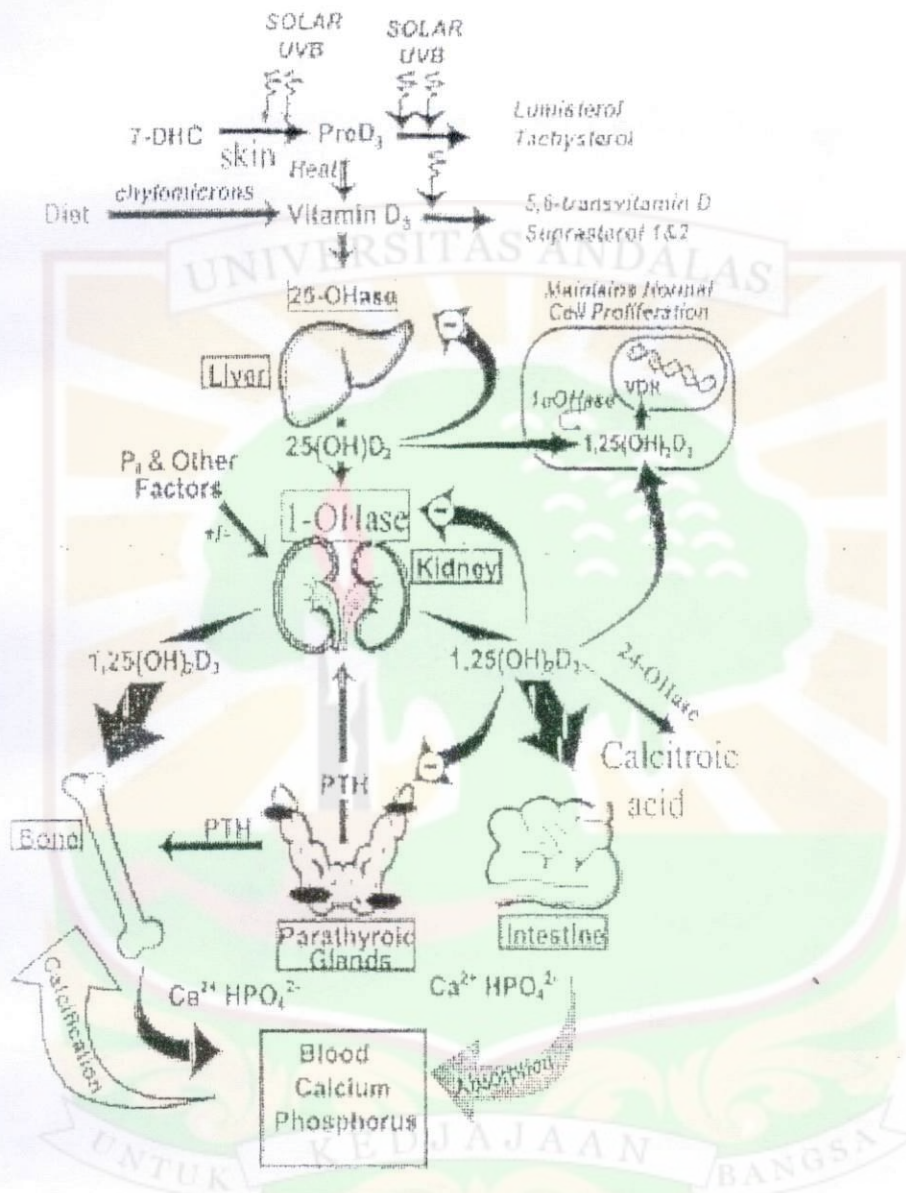
### 2.3.3 Homeostasis Kalsium

Kalsium merupakan salah satu kation divalen utama dalam tubuh. Mineral ini berasal dari diet, diserap di dalam usus dan difiltrasi di dalam glomerulus ginjal, sebagian diserap kembali di dalam tubulus ginjal dan sebagian yang lain dikeluarkan melalui urin. Regulasi kalsium akan berpengaruh terhadap berbagai fungsi biologi tubuh termasuk proses ekstraselular, seperti pembekuan darah, adhesi interselular dan integritas tulang. Proses intraselular, seperti regulasi sekresi hormonal, pembelahan sel dan motilitas sel. Konsentrasi kalsium dalam serum dan cairan ekstra sel dipertahankan dalam skala yang sempit guna memberi pengaruh yang optimal terhadap bekerjanya stabilitas membrane sel, bermacam-macam fungsi sel di berbagai jaringan, hantaran syaraf, koagulasi darah maupun struktur tulang (Delfos LJ, 1998).

Hormon yang berperan dalam metabolisme kalsium adalah *parathyroid hormone (PTH)*, *parathyroid hormone related protein (PTHrP)*, kalsitonin, vitamin D (kalsitriol), *cytokine and growth factors*. Pengendalian kalsium dalam darah diatur oleh hormon paratiroid, kalsitonin dan kelenjar tiroid dan vitamin D. Hormon paratiroid dan vitamin D meningkatkan kalsium darah dengan cara sebagai berikut:

- Vitamin D merangsang absorpsi kalsium oleh saluran cerna
- Vitamin D dan hormon paratiroid merangsang pelepasan kalsium dan tulang ke dalam darah
- Vitamin D dan hormon paratiroid menunjang reabsorpsi kalsium di dalam ginjal.

Pada gambar berikut terlihat secara skematik peran vitamin D dalam homeostasis kalsium



Gambar 2.5 Peran vitamin D dalam Homeostasis kalsium  
Sumber: Syahbudin, 2004

Paparan sinar matahari pada kulit akan mengakibatkan diserapnya sinar ultraviolet oleh 7 dehidrocholesterol (7- DHC) yang mengalami perubahan menjadi pre vitamin D<sub>3</sub>, yang kemudian berubah menjadi vitamin D<sub>3</sub>. Vitamin D<sub>3</sub> bersama

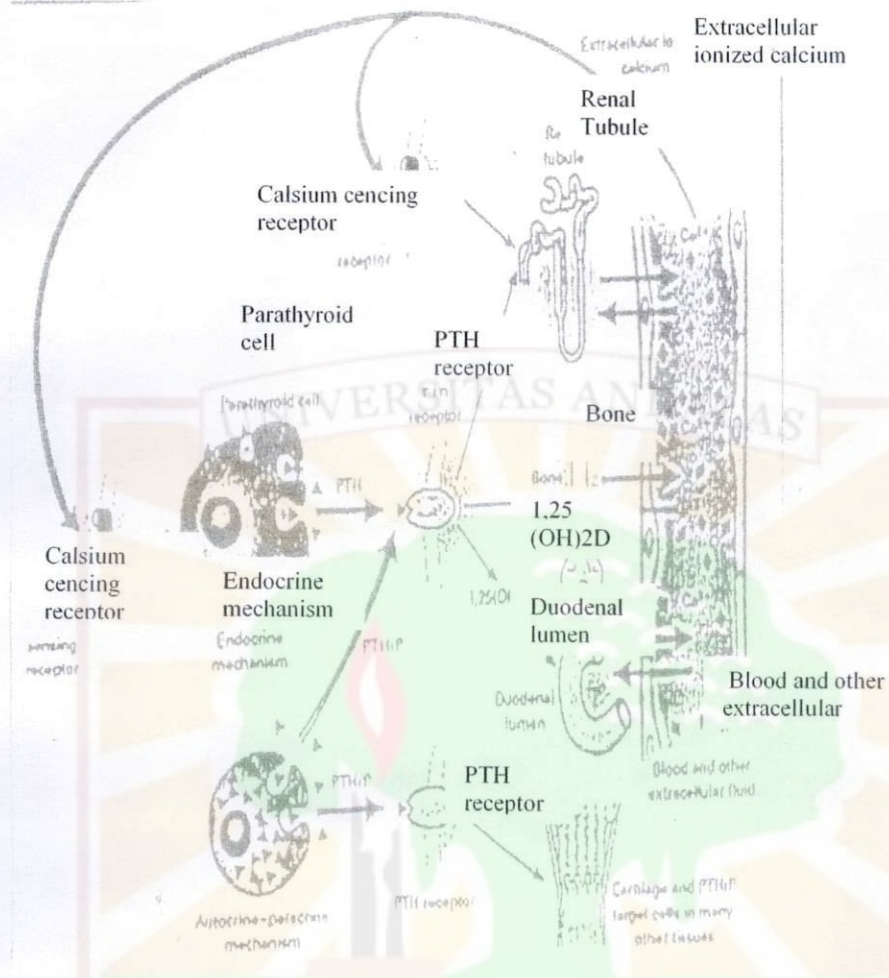
dengan vitamin D<sub>2</sub> yang diserap dari makanan masuk ke sirkulasi darah, kemudian mengalami hidroksilasi di hati oleh vitamin D-25 hidroksilase menjadi 25 hidroksivitamin D (calcidiol). Kemudian 25 hidroksivitamin D masuk sirkulasi dan di ginjal mengalami hidroksilasi lagi oleh D<sub>3</sub>-1 $\alpha$ - hidroksilase menjadi 1,25 dihidroksivitamin D (calcitriol) yang merupakan bentuk aktif dari vitamin D. Calcitriol inilah yang mengatur metabolisme kalsium melalui interaksinya dengan jaringan target utama yaitu tulang dan usus (Syahbudin S, 2004).

Produksi 1,25 dihidroksivitamin D (calcitriol) ditingkatkan oleh stimulasi terhadap enzim D<sub>3</sub>-1 $\alpha$ - hidroksilase oleh keadaan penurunan kadar kalsium plasma (dengan akibat peningkatan PTH) dan juga oleh hipofosfatenia. Calcitriol berikatan dengan reseptor- reseptor intraseluler di jaringan target dan mengatur transkripsi gen. Hasil akhirnya calcitriol berperan dalam mempertahankan kadar kalsium dan fosfat sehingga memungkinkan terjadinya mineralisasi tulang yang baru terbentuk.

### **2.3.3 Keseimbangan Kalsium**

Saluran pencernaan, ginjal, hati dan tulang merupakan organ dan jaringan yang berperan dalam mengatur keseimbangan kalsium di dalam darah, dibawah pengaruh hormon-hormon kalsitropik (hormon paratiroid, vitamin D, kalsitonin melalui suatu mekanisme umpan balik yang kompleks.

Pengaturan keseimbangan kalsium oleh hormon kalsitropik dapat dilihat pada gambar berikut:



Sumber: Rudijanto A, 2002

Gambar 2.6 Pengaturan kalsium Oleh Hormon Kalsitropik

Konsentrasi kalsium di cairan ekstra seluler dipertahankan secara tetap melalui suatu proses penambahan maupun pengeluaran kalsium dari cairan tersebut. Kalsium masuk ke dalam plasma dari hasil penyerapan di dalam saluran pencernaan maupun hasil penyerapan ion dari mineral tulang. Kalsium meninggalkan cairan ekstra seluler melewati saluran pencernaan sebesar 100- 200mg/hari, melewati urine 50- 300mg/hari serta keluar melalui keringat sebesar 100- 200mg/hari, sedangkan deposit di dalam mineral tulang seimbang dengan dikeluarkan dari deposit tersebut

yakni sebesar 500mg/hari. Konsumsi rata-rata orang dewasa sekitar 600-800mg/hari.

### 2.3.4 Gangguan Keseimbangan Kalsium

Terdapat berbagai keadaan yang dapat menimbulkan gangguan keseimbangan kalsium melalui berbagai mekanisme, dan akibatnya timbul hiperkalsemia dan hipokalsemia. Hiperkalsemia merupakan suatu keadaan dimana konsentrasi kalsium total dalam serum melebihi 10,5 mg/dL. Penyebab terbesar hiperkalsemia adalah peningkatan resorpsi yang terjadi pada tulang oleh berbagai sebab seperti neoplasma atau hiperparatiroid. Penyebab lain pemberian vitamin D yang berlebihan dan akibat pengaruh beberapa obat seperti tiazid atau litium. Peningkatan kadar kalsium dapat menyebabkan terjadinya pengendapan kalsium dan fosfat di jaringan yang dapat menyebabkan kerusakan dan disfungsi organ yang luas (Rudijanto A, 2002).

Hipokalsemia merupakan suatu keadaan dimana konsentrasi kalsium total serum < 8,5 mg/dL atau kadar kalsium ion < 1 mmol/L<sup>2</sup>. Keadaan ini dapat diakibatkan oleh ketidakmampuan tubuh menjaga keseimbangan kalsium sebagai akibat terganggunya mekanisme mobilisasi kalsium dari tulang ataupun oleh sekresi abnormal kalsium oleh ginjal, serta meningkatnya protein pengikat sehingga sebagian besar kalsium terdapat dalam bentuk ikatan dan hanya sedikit saja dalam bentuk bebas. Gejala klinis dari gangguan ini terlihat pada terjadinya peningkatan eksitabilitas neuromuscular termasuk kejang otot, tetani dan disfungsi jantung.

## 2.5 Inter Relasi Zat Besi (Fe) dengan Vitamin D

Hemoglobin, myoglobin dan sitokrom merupakan protein hem dengan besi porphyrin prosthetic. Struktur dasar hem terdiri dari satu molekul protoporphyrin tipe IX dengan satu atom besi. Sitokrom merupakan hem yang terdiri dari senyawa-senyawa untuk respirasi dan metabolisme energi yang berperan dalam transpor elektron di mitokondria (Bowman, Russel,2001). Besi erat hubungannya dengan beberapa enzim, terutama hem yang megandung sitokrom dan dalam kompleks Fe-S-Protein (*iron sulfur protein*) dalam transpor elektron dan oksidasi fosforilasi dalam sel (Linder M, 1992). Sitokrom a, b dan c penting untuk produksi energi tingkat seluler melalui fosforilasi oksidatif, dimana sitokrom tersebut sebagai pembawa elektron pada proses perubahan adenosin dispospat (ADP) menjadi adenosin tripospat (ATP). Produksi ATP terjadi dengan oksidasi oleh sistim flavoprotein sitokrom (Bowman, Russel,2001).

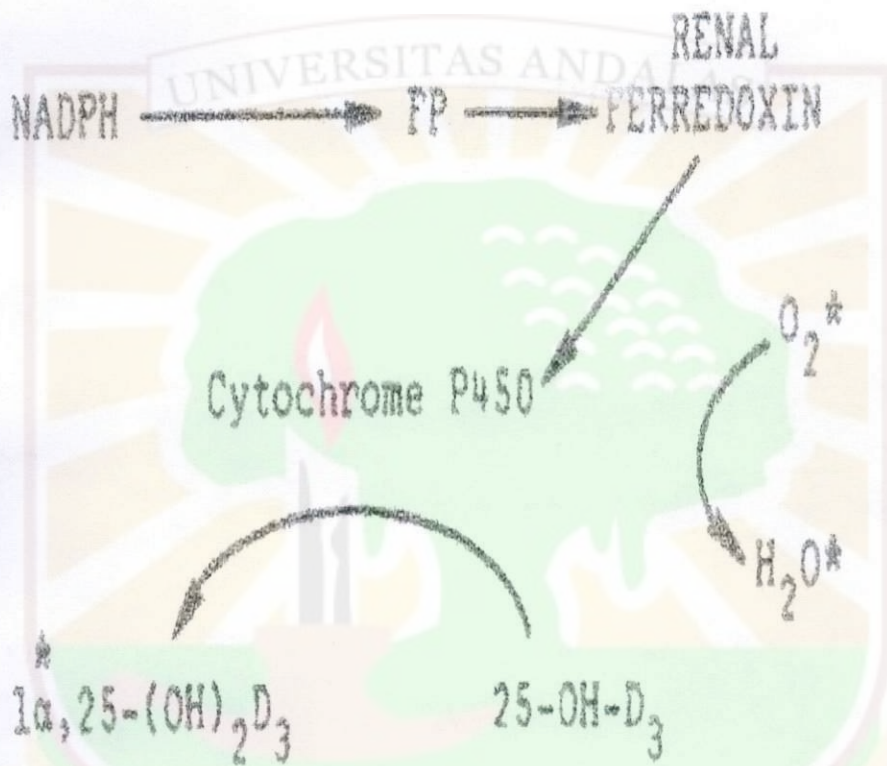
Proses aktifasi pre vitamin D atau calcidiol menjadi vitamin D aktif 1,25-dihidroksivitamin D adalah melalui proses hidroksilasi. Proses hidroksilasi vitamin D tersebut membutuhkan tiga komponen sistem yaitu flavoprotein, iron sulfur protein dan sitokrom P-450. Sistim flavoprotein sitokrom merupakan sistim transpor elektron. Sistim flavoprotein sitokrom adalah sebuah rantai enzim yang memindahkan hidrogen ke oksigen sehingga membentuk air, proses ini terjadi di dalam mitokondria (Ganong, 2001).

Setiap enzim adalah sebuah protein dengan satu gugus tambahan bukan protein yang menempel. Enzim terakhir dalam rantai tersebut adalah sitokrom c oksidase yang memindahkan hidrogen pada O<sub>2</sub> membentuk H<sub>2</sub>O, enzim ini mengandung dua atom Fe dan tiga Cu serta memiliki 13 subunit.

Biosintesis 1,25 dihidroksivitamin D dimulai dengan pengikatan vitamin D<sub>3</sub> oleh protein pengikat vitamin D. Kemudian menggerakkan vitamin D<sub>3</sub> dari kulit dan intestinum ke dalam hati. Di dalam hati vitamin ini akan menjalani reaksi 25-hidroksilasi yaitu reaksi pertama dalam proses memproduksi 1,25 dihidroksivitamin D. Reaksi ini terjadi dalam retikulum endoplasma yang memerlukan NADPH, oksigen molekuler, enzim sitokrom P-450 reduktase yang tergantung pada NADPH dan sitokrom P-450. Senyawa 25 hidroksivitamin D *25(OH)D* akan memasuki sirkulasi kemudian diangkut ke ginjal oleh protein pengikat vitamin D. Senyawa ini merupakan senyawa agonis lemah dan harus dimodifikasi agar mempunyai aktivitas biologik. Proses ini dilaksanakan dalam mitokondria tubulus kontorus proksimal ginjal dalam reaksi monooksigenase yang memerlukan oksigen molekuler, NADPH, enzim flavoprotein, ferredoksin reduktase renal, protein besi sulfur, ferredoksin renal dan sitokrom P-450. Sistem ini menghasilkan vitamin D poten 1,25 dihidroksivitamin D (Granner, 2001).

Semua superfamili Sitokrom P 450 (CYP11A1) adalah enzim pengurai rantai- rantai samping yang paling banyak terlibat dalam biosintesis steroid. Kombinasi sitokrom P-450 pada mitokondria renal dengan ferredoksin (iron sulfur protein), NADPH dan ferredoksin reductase merubah 25 hidroksivitamin D menjadi 1,25-dihydroxyvitamin D melalui transpor elektron. Oleh sebab itu proses hidroksilasi tergantung pada zat besi, dimana zat besi dalam enzim tersebut berfungsi untuk transpor elektron dan oksidasi (Deluca, 1998). Berikut ilustrasi aktifasi vitamin D oleh Sitokrom P 450:

## COMPONENTS OF 25-OH-D<sub>3</sub>-1 $\alpha$ -HYDROXYLASE OF KIDNEY



Gambar 2.7 Aktifasi Vitamin D oleh Sitokrom P 450  
Sumber: Deluca, 1997

Enzim untuk aktivasi vitamin D adalah D3 25-hydroxylase (CYP27A1), 25-hydroxyvitamin, D3 1 $\alpha$ -hydroxylase (CYP27B1) dan 1  $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D3 24-hydroxylase (CYP24A1), enzim- enzim tersebut adalah superfamili dari cytochrome P450 (Sakaki T, 2005). Aktivitas biological vitamin D ditentukan oleh kombinasi level reseptor vitamin D dan aktivitas enzim metabolic CYP27B1 dan CYP24 (Anderson PH, 2003).



## 2.6 Efek Hormonal 1,25-Dihidroksivitamin D Terhadap Absorpsi Kalsium

1,25-dihidroksivitamin D berfungsi sebagai hormon yang dapat meningkatkan absorpsi kalsium dalam usus. 1,25-dihidroksivitamin D meningkatkan pembentukan suatu protein pengikat kalsium pada sel epitel usus dalam waktu kira-kira 2 hari. Protein ini berfungsi pada brush border sel epitel usus untuk mengangkut kalsium ke dalam sitoplasma sel, dan kalsium ini selanjutnya bergerak melewati membrane basolateral sel dengan cara difusi pasif. Kecepatan absorpsi kalsium secara langsung sebanding dengan jumlah protein pengikat kalsium. Selanjutnya protein ini tetap ada di dalam sel selama beberapa minggu sesudah 1,25-dihidroksivitamin D dikeluarkan dari tubuh, sehingga menimbulkan pemanjangan efek absorpsi kalsium.

Efek lain dari 1,25-dihidroksivitamin D adalah menyebabkan terbentuknya ATPase yang dirangsang kalsium dalam brush border sel epitel. Selain itu 1,25-dihidroksivitamin D juga menyebabkan pembentukan fosfatase alkali di dalam sel-sel epitel (Guyton, Hall, 1997).

## 2.7 Kalsium dan Osteoporosis

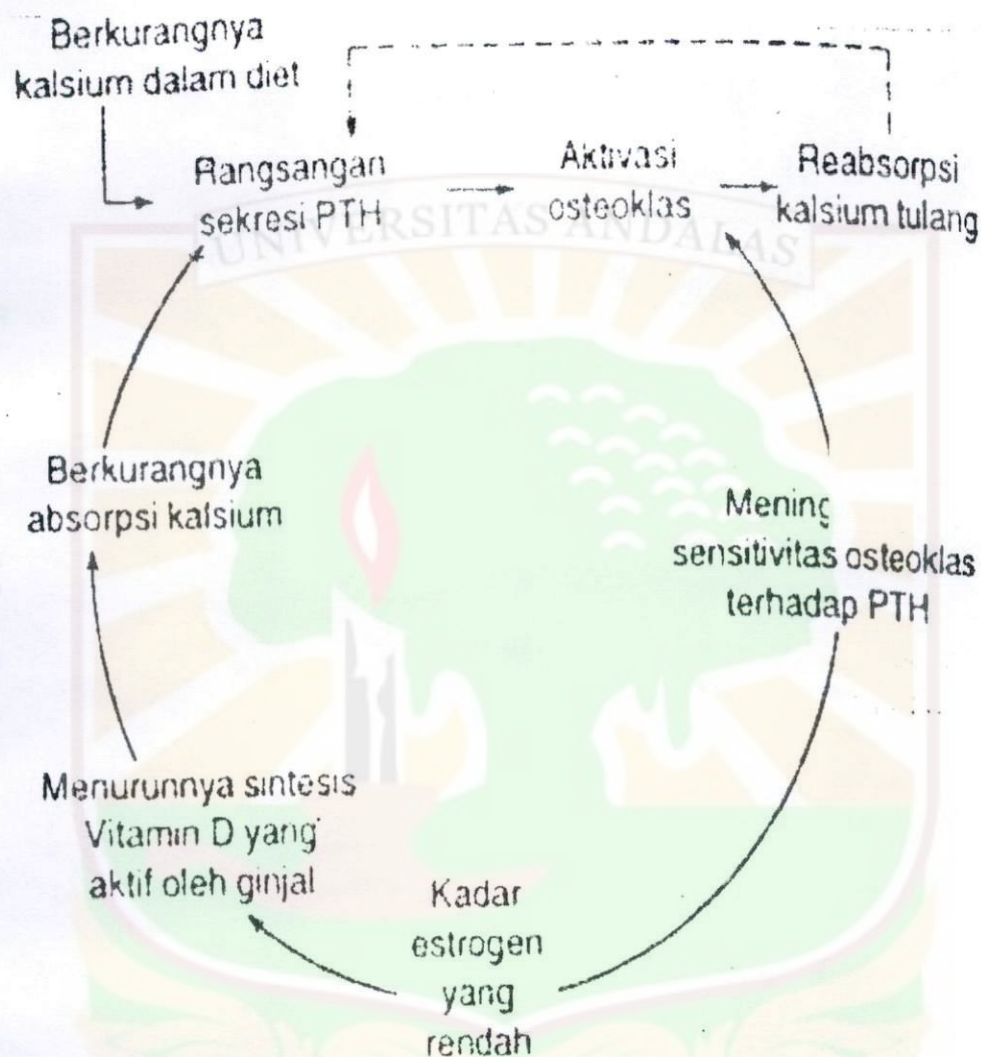
Kalsium merupakan komponen yang diendapkan pada matriks tulang dalam bentuk kristal hidroksipatit ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ). Tulang terdiri dari matriks organik keras yang sangat diperkuat oleh endapan garam kalsium, sehingga penting untuk proses osteogenesis (Robbins MD, 1995).

Pembentukan tulang yang baru dan reabsorpsi terjadi selama hidup. Untuk penambahan massa tulang osteogenesis harus melebihi reabsorpsi. Kalsium merupakan komponen mineral utama dari tulang, sangat penting untuk osteogenesis.

Asupan kalsium berperan penting untuk mempertahankan keseimbangan kalsium positif sehingga cadangan kalsium tulang tidak diambil untuk menjaga keseimbangan kalsium darah. Oleh karena adanya kalsium yang hilang melalui tinja dan urin maka sangat diperlukan asupan dan absorpsi yang adekuat untuk mendapatkan balans kalsium positif (Syahbudin, 2004). Bila kadar kalsium darah turun dibawah normal, tubuh akan mengambilnya dari tulang untuk menjaga keseimbangan kalsium darah tersebut. Pengambilan kalsium dari tulang dalam waktu lama akan menyebabkan pengeroposan tulang (Robbins MD, 1995).



Pada skema berikut terlihat pengaruh kalsium sebagai salah satu penyebab osteoporosis.



Gambar 2.8 Skema patogenesis osteoporosis  
Sumber: Robins MD (1995)

### Tikus Putih (*Rattus Novergicus*) Galur Wistar

Hewan coba merupakan kunci kemajuan yang diperoleh dalam dunia kesehatan. Suatu senyawa yang baru ditemukan terlebih dahulu diuji dengan serangkaian uji farmakologik maupun uji praklinik pada hewan. Bila ditemukan

suatu aktivitas farmakologik yang mungkin bermanfaat, maka akan diteliti lebih lanjut. Sebelum calon obat baru ini dicobakan pada manusia, dibutuhkan waktu beberapa tahun untuk meneliti sifat farmakodinamik, farmakokinetik dan efek toksiknya pada hewan coba. Dalam studi farmakokinetik ini tercakup juga pengembangan teknik analisis untuk mengukur kadar senyawa tersebut metabolitnya dalam bentuk cairan biologis. Semua ini diperlukan untuk memperkirakan dosis efektif dan memperkecil resiko penelitian pada manusia.

Hewan coba yang biasa dipakai dalam penelitian farmakologik ialah mencit, tikus, marmot, kelinci, kucing, anjing dan kerbau. Walaupun demikian tidak menutup kemungkinan untuk menggunakan hewan lain, yang terpenting konversi perhitungan dosis antar jenis hewan tersebut dengan manusia diketahui.

Dosis yang diberikan pada subjek uji farmakologik harus mempertimbangkan dosis efektif pada manusia. Laurence dan Bacharach (1964) telah merumuskan suatu tabel konversi dosis atau perhitungan dosis antar jenis hewan dan manusia berdasarkan ratio permukaan badan hewan coba tersebut. Konversi perhitungan dosis antar jenis subjek uji bisa dilihat pada tabel berikut.

**Tabel 2.7 Konversi perhitungan dosis antar jenis subjek uji**

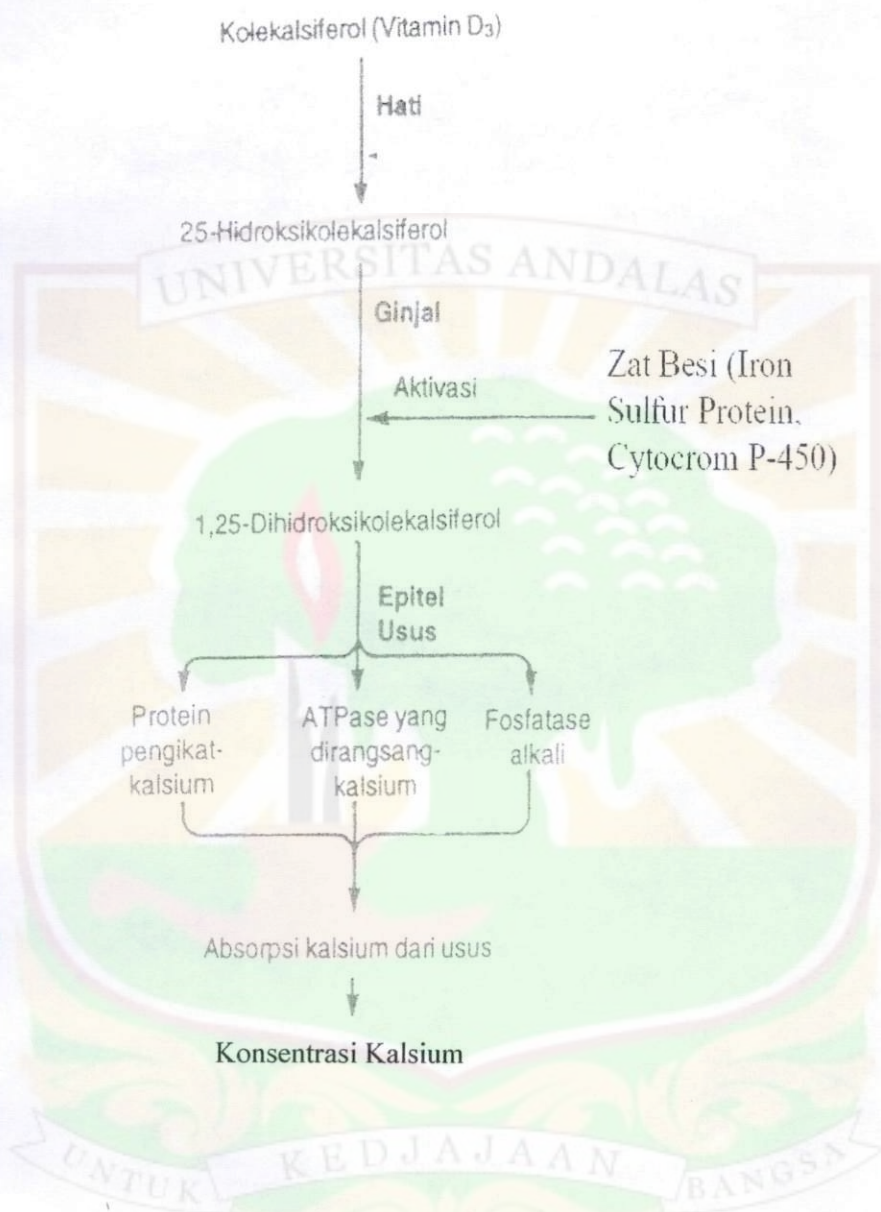
Dicari Diket	20gr Mencit	200gr Tikus	400gr Marmot	1.5kg Kelinci	2.0kg Kucing	4.0kg Kera	12.0kg Anjing	70.0kg Manusia
20 gr Mencit	1.0	7.0	12.29	27.8	29.7	4.1	124.2	387.9
200 gr Tikus	0.14	1.0	1.74	3.3	4.2	9.2	17.8	56.0
400 gr Marmot	0.08	0.57	1.0	2.25	2.4	5.2	10.2	31.5
1.5 kg Kelinci	0.04	0.25	0.44	1.0	1.06	2.4	4.5	14.2
2.0 kg Kucing	0.03	0.23	0.41	0.92	1.0	2.2	4.1	13.0
4.0 kg Kera	0.016	0.11	0.19	0.42	0.45	1.0	1.9	6.1
12.0 kg Anjing	0.008	0.018	0.031	0.07	0.013	0.16	0.32	1.0
70.0 kg Manusia	0.0026	0.018	0.031	0.07	0.013	0.16	0.32	1.0

Sumber : Tim Farmakologi, Penuntun Pratikum Farmakologi I, Jurusan Farmasi Fakultas MIPA, Universitas Andalas Padang 2003.

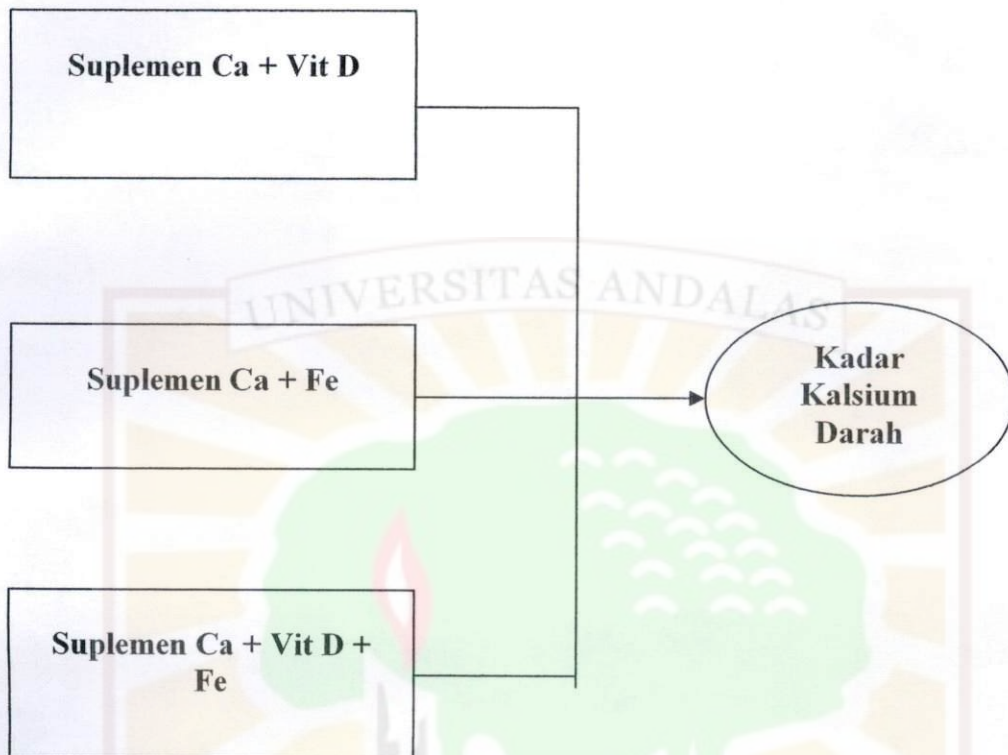
Pada penelitian ini digunakan tikus putih, karena tikus merupakan hewan coba yang cocok untuk penelitian nutrisi. Tikus mempunyai ukuran tubuh yang lebih besar daripada mencit dan tidak pernah muntah (Kusumawati D, 2004).



## 2.8 Kerangka Teori



## 2.9 Kerangka Konsep



## BAB III

### BAHAN DAN METODOLOGI

#### 3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi dan Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, pada bulan Desember 2008 sampai Januari 2009

#### 3.2 Desain Penelitian

Jenis penelitian pada penelitian ini adalah *eksperimental static group comparison* dengan model rancangan *Pretest-posttest Design*. Desain ini merupakan penelitian untuk mengetahui perbedaan rata-rata kadar kalsium darah sebelum dan sesudah pemberian kalsium, vitamin D dan zat besi pada kelompok sample (tikus putih), dibandingkan dengan kelompok kontrol.

#### 3.3 Populasi dan Sampel

##### 3.3.1 Populasi

Populasi pada penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus Novergicus*) galur Wistar

##### 3.3.2 Sampel

Uji coba dilakukan pada tikus putih galur Wistar yang memenuhi kriteria inklusi sebagai berikut:

- Betina
- Sehat



- Berumur 2 bulan
- Berat Badan tikus 200- 250 gram

Sampel dibagi menjadi 5 kelompok:

Kelompok I (P-1) : Kelompok kontrol negatif

Kelompok II (P-2) : Kelompok yang diberi kalsium (kontrol positif)

Kelompok III (P-3) : Kelompok yang diberi kalsium dan vitamin D

Kelompok IV (P-4) : Kelompok yang diberi kalsium dan zat besi (Fe)

Kelompok IV (P-5) : Kelompok yang diberi kalsium vitamin D dan zat besi (Fe)

Perkiraan besar sampel minimal dihitung dengan menggunakan rumus Fraenkle and

Wallen:  $(np-1) - (p-1) \geq p$

Ket:  $p$  = jumlah kelompok hewan coba

$n$  = jumlah hewan coba dalam tiap kelompok

$p = 5$

$n = \dots?$

$$(np-1) - (p-1) \geq p$$

$$(n5-1) - (5-1) \geq 5$$

$$(5n - 1) - 5 \geq 25$$

$$5n \geq 30$$

$$n \geq 6$$

Dari perhitungan di atas didapatkan jumlah minimal hewan coba pada tiap kelompok adalah 6 ekor. Dengan mempertimbangkan jumlah sampel drop out dari tiap kelompok 20%, maka tiap kelompok dijadikan 8 ekor tikus.

### 3.4 Variabel Penelitian dan Defenisi Operasional

#### 3.4.1 Variabel Penelitian

Variabel Independen : Pemberian Kalsium, Vitamin D dan zat besi

Variabel Dependen : Kadar kalsium serum

#### 3.4.2 Defenisi Operasional

- Suplemen kalsium: Sejumlah kalsium yang diberikan secara oral satu kali sehari selama 2 minggu dengan dosis 14,4 mg/hr yang diperoleh dari konversi dengan angka 0,018 dari kebutuhan harian kalsium manusia 800 mg/hari.

Alat Ukur : Timbangan Digital

Hasil Ukur : mg

Skala : Rasio

- Suplemen vitamin D: Vitamin D eksogen yang diberikan secara oral satu kali sehari selama 2 minggu dengan dosis 0,09  $\mu\text{g}$ / hari yang diperoleh dari konversi dengan angka 0,018 dari kebutuhan harian vitamin D manusia 5  $\mu\text{g}$ / hari .

Alat Ukur : Timbangan Digital

Hasil Ukur :  $\mu\text{g}$

Skala : Rasio

- Suplemen Besi (Fe): Tablet besi yang diberikan secara oral dengan dosis 0,15 mg/ hari selama 2 minggu

Alat Ukur : Timbangan Digital

Hasil Ukur : mg

Skala : Rasio

- Kadar Besi Serum: Kadar zat besi dalam serum yang paling sensitif terhadap kekurangan zat besi ringan dengan kadar minimal 181  $\mu\text{g}/\text{dl}$

Alat Ukur : Spectrophotometer

Hasil Ukur :  $\mu\text{g}/\text{dl}$

Skala : Rasio

- Kadar Kalsium Darah : Kadar kalsium dalam darah setelah pemberian pemberian kalsium, vitamin D dan zat besi selama 2 minggu

Alat Ukur : Spectrophotometer

Hasil ukur :  $\text{mg}/\text{dl}$

Skala : Rasio

### 3.5 Alat dan Bahan

#### 3.5.1 Alat-Alat

- Tempat pemeliharaan tikus
- Jarum oral dan spet
- Timbangan digital merk sartorius
- Sentrifuge PLC 04 Rotor A- 1015 merk GEMMY
- Tabung reaksi pyrex 10 ml
- Spectrophotometer Microlab 300
- Timbangan tikus Denver Instrument company TR
- Mikropipet dan Centrifuge Rotofix 32

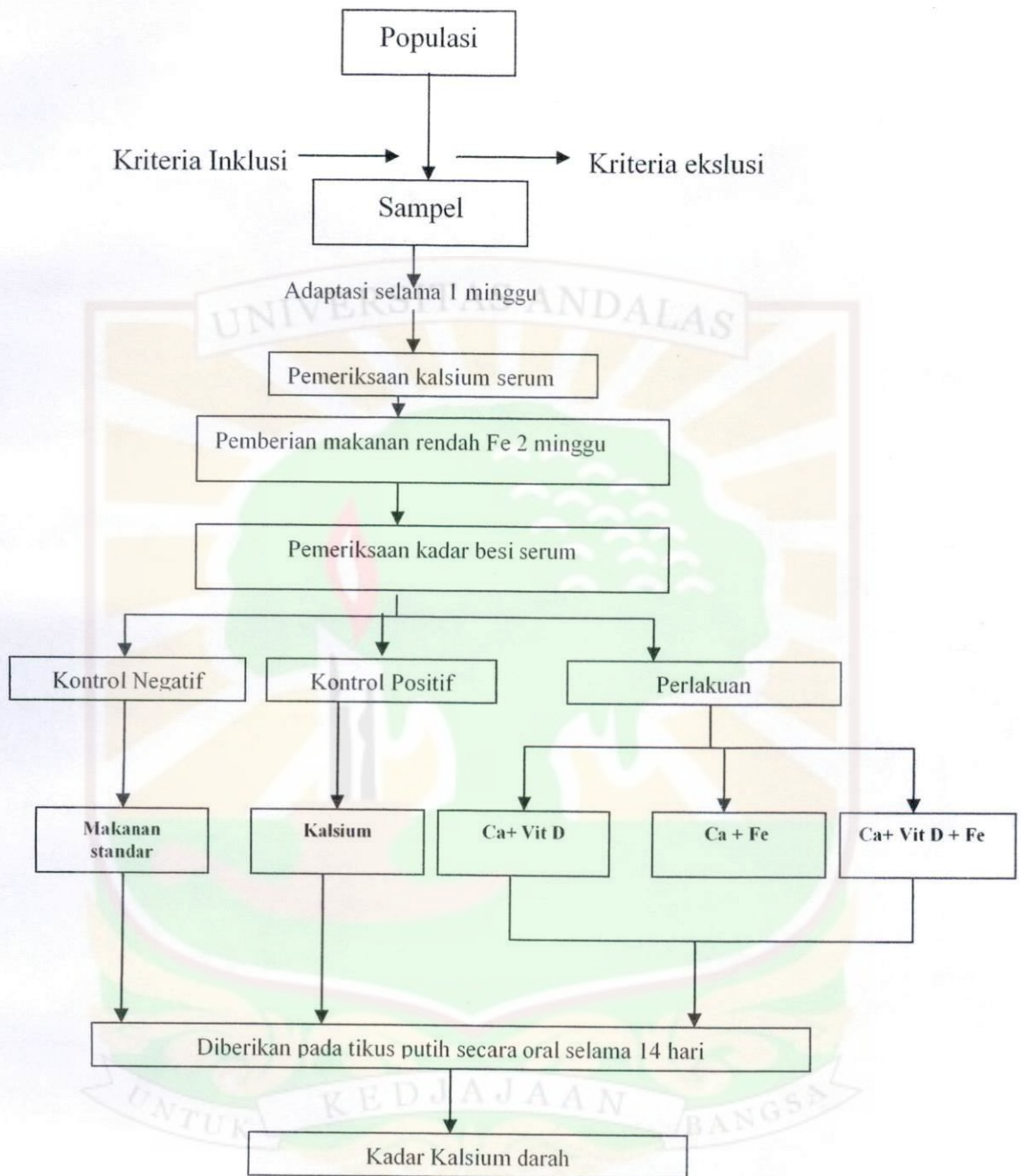
#### 3.5.2 Bahan- Bahan

- Tikus putih galur wistar betina 40 ekor, umur 2 bulan, berat 200 gr

- Makanan tikus berupa pelet dan jagung
- Kandang tikus
- Reagensia Ca CPC, Ca Liquicolor, Iron Liquicolor Wiesbaden Germany
- Kalsium laktat, Vitamin D merk IPI, tablet besi ( $\text{Fe}_2\text{SO}_4$ ), Aquadest



### 3.6 Alur Penelitian



### 3.7 Prosedur Kerja

Penelitian ini dibagi dalam dua tahapan, yaitu tahap persiapan dan tahap pelaksanaan

#### 3.7.1 Tahap Persiapan

Tahap persiapan meliputi pemilihan sampel dan adaptasi sample tikus galur Wistar selama 1 minggu di Laboratorium Farmasi Universitas Andalas dengan pemberian makanan dan minuman secukupnya. Hewan dinyatakan sehat jika selama pemeliharaan tidak mengalami perubahan berat badan  $> 10\%$  dan secara visual tidak terdapat gejala penyakit.

#### 3.7.2 Tahap Pelaksanaan

Sebelum perlakuan dilakukan penimbangan berat badan hewan percobaan. Sampel yang berjumlah 40 ekor tersebut dikelompokkan kedalam 5 kelompok yaitu kelompok kontrol negatif, kontrol positif dan 3 kelompok perlakuan. Tiap kelompok terdiri dari 8 ekor tikus diletakkan dalam kandang yang terpisah.

- Kelompok P I (kontrol negatif)  
→Kelompok yang hanya diberi makan dan minum standar
- Kelompok P II (kontrol positif) : Kelompok yang diberi kalsium
- Kelompok P III : Kelompok yang diberi kalsium dan vitamin D
- Kelompok P IV : Kelompok yang diberi kalsium dan zat besi
- Kelompok P V : Kelompok yang diberi kalsium, vitamin D dan zat besi

Sebelum intervensi dengan kalsium, vitamin D dan zat besi, darah hewan coba diambil melalui vena untuk dihitung kadar kalsium sebelum perlakuan (pre

test). Kemudian diberi makan rendah zat besi berdasarkan standar AIN (*American Institute of Nutrition*) tahun 1980 berupa jagung dengan tambahan gula (Medeiros, 2004). Tujuan pemberian makanan bebas zat besi adalah untuk membuat tikus defisiensi besi. Kondisi defisiensi besi ini adalah untuk melihat pengaruh pemberian zat besi, vitamin D dan kalsium terhadap kadar kalsium darah.

Kalsium, vitamin D dan tablet besi digerus, kemudian masing-masingnya dilarutkan dengan aquadest. Kemudian diberikan satu kali sehari selama dua minggu untuk dapat melihat perubahan kalsium serum. Setelah dua minggu darah tikus diambil sebanyak 1 ml untuk dihitung kadar kalsiumnya.

### **3.7.3 Pemeriksaan Besi Serum dan Kalsium Darah**

Sebelum dilakukan pengukuran darah sampel disentrifuge untuk mendapatkan serum. Untuk pemeriksaan besi serum dilakukan dengan cara mencampur serum dengan 1 ml reagen pewarna Iron Liquicolor, diamkan selama 15 menit dalam tabung reaksi, kemudian dimasukkan ke dalam spectrophotometer melalui pipet pada spectrophotometer. Secara otomatis spectrophotometer akan membaca hasil.

Pemeriksaan kalsium berdasarkan metode yang diajukan oleh Moorehead and Briggs. Reagen 1 (Ca CPC) dicampur dengan Reagen 2 (Ca Liquicolor), diamkan selama 10 menit, campuran ini akan berwarna ungu. Masukkan reagen ke serum sampel, diaduk dan didiamkan selama 5 menit. Reagen bereaksi dengan kalsium dalam suasana alkalis menyusun senyawa yang berwarna ungu tua. Intensitas wana ungu yang terbentuk berbanding lurus dengan kadar kalsium dan dapat diukur secara photometris dengan spectrophotometer microlab 300 panjang gelombang 587 nm.

Prosedur pemeriksaan sebagai berikut:

Campuran reagen dan sampel dalam tabung reaksi, dimasukkan ke dalam spectrophotometer melalui pipet pada spectrophotometer. Secara otomatis spectrophotometer akan membaca hasil, hasil pemeriksaan muncul pada layar spectrophotometer. Kemudian cara pengukuran yang sama juga dilakukan pada larutan standar (Ca standar).

Perhitungan:

$$\text{Kalsium (mg/dl)} = \frac{\text{Abs Test}}{\text{Abs Std}} \times \text{Kadar standar}$$

Nilai normal: 8,5- 10,5 mg/dL

### 3.8 Validasi Alat

Alat yang digunakan untuk mengukur kadar besi serum dan kalsium serum adalah spectrophotometer. Validasi alat dilakukan secara *intra day validation* yaitu melakukan pemeriksaan serum kontrol berulang kali dalam satu hari yang sama setiap 3 jam. Jika alat masih dalam kondisi validitas yang baik maka secara otomatis pada spectrophotometer akan muncul grafik garis lurus.

### 3.9 Pengolahan Dan Analisis data

Data yang diperoleh dientri secara komputerisasi, selanjutnya diolah dan dilakukan analisis dengan uji T test dependen secara komputerisasi untuk melihat perbedaan rata-rata kadar kalsium darah sebelum dan setelah perlakuan, dengan kemaknaan 0,05. Setelah itu dilakukan uji anova untuk mengetahui perbedaan rata-rata kadar kalsium antar kelompok perlakuan dengan derajat kepercayaan 95%.



Jika terdapat perbedaan bermakna antara tiga kelompok perlakuan tersebut (nilai  $p < 0,05$ ), maka dilanjutkan dengan Post Hock Test untuk melihat perbandingan selisih rata-rata kadar kalsium serum antar kelompok (Hastono PS, 2001).



## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Hasil Penelitian

Penelitian dilakukan pada 5 kelompok tikus putih (*Rattus novergicus*) galur Wistar yang terdiri dari kelompok kontrol negatif (P1), kontrol positif (P2), kelompok kalsium dan vitamin D (P3), kelompok kalsium dan zat besi (P4), serta kelompok kalsium, vitamin D dan zat besi (P5) yang berada dalam kondisi defisiensi besi. Semua kelompok tersebut diberi makanan rendah Fe (zat besi) berupa jagung selama dua minggu untuk menurunkan kadar besi serum hewan percobaan tersebut. Setelah dua minggu perlakuan tersebut, dilakukan pemeriksaan kadar besi serum. Berdasarkan kriteria yang telah ditetapkan untuk menilai defisiensi Fe (Abdul A, 2002), yaitu tikus mengalami defisiensi besi apabila kadar besi serum dibawah 181 ug/dl. Penurunan kadar besi serum ini bertujuan untuk melihat pengaruh penambahan zat besi pada kombinasi kalsium dan vitamin D terhadap kadar kalsium serum kelompok sampel yang defisiensi besi, dibandingkan dengan kelompok-kelompok lainnya yang tidak diberi kombinasi kalsium, vitamin D dan zat besi. Berikut dapat dilihat rata-rata kadar besi serum setelah perlakuan khusus untuk penurunan kadar besi:

**Tabel 4.1 Rata-rata kadar besi serum setelah perlakuan khusus untuk penurunan kadar besi**

Kadar Kalsium	Rata- Rata (µg/dl) ± SD	Nilai- p
Klp P1 (Kontrol -)	97,83 ± 12,94	0,960
Klp P2 (Kontrol +)	100,20 ± 14,06	
Klp P3 (Ca +Vit. D)	103,18 ± 18,14	
Klp P4 (Ca + Fe)	101,30 ± 10,94	
Klp P5 (Ca + Vit D + Fe)	98,17 ± 12,57	

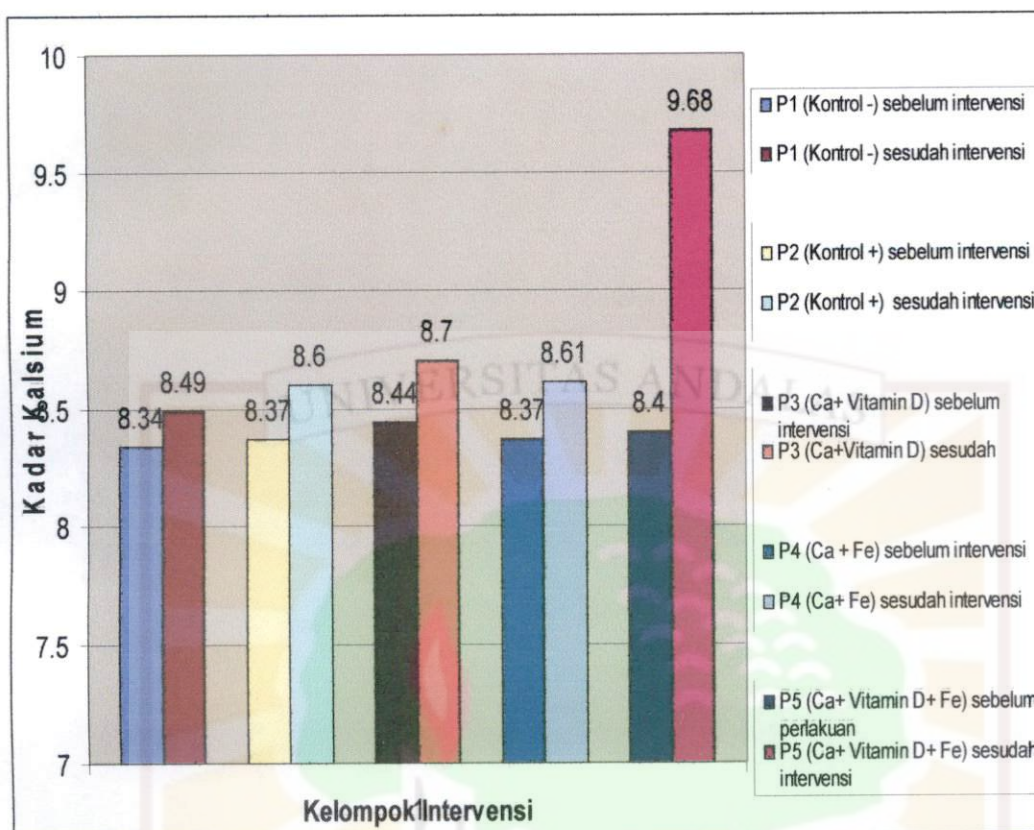
Pada tabel di atas dapat dilihat terjadi penurunan rata-rata kadar besi serum pada semua kelompok sampel dibawah 181 µg/dl. Dari hasil uji anova diperoleh nilai  $p = 0,960$ , sehingga tidak terdapat perbedaan signifikan ( $p > 0,05$ ) rata-rata kadar besi serum antar kelompok perlakuan. Hal ini berarti semua kelompok sampel berada dalam kondisi yang sama yaitu defisiensi besi. Hasil penelitian menunjukkan rata-rata kadar besi serum berada dibawah kadar normal setelah pemberian makanan khusus untuk menurunkan kadar besi serum. Dengan demikian dapat dilihat pengaruh masing-masing intervensi yaitu dengan kalsium (P2), kalsium dan vitamin D (P3), kalsium dan zat besi (P4) serta kalsium, vitamin D dan zat besi (P5) terhadap kadar kalsium serum kelompok sampel yang defisiensi besi.

#### 4.1 Kadar Kalsium Serum Sebelum dan Sesudah Intervensi

**Tabel 4.2 Rata-rata kadar kalsium serum sebelum dan setelah intervensi pada semua kelompok intervensi**

Kelompok	Kadar Kalsium (mg/dl) (mean ± SD)		Nilai- p	N
	Sebelum	Sesudah		
P1 (control negatif)	8,34 ± 0,39	8,49 ± 0,16	0,193	6
P2 (control positif)	8,37 ± 0,37	8,60 ± 0,05	0,208	6
P3 (kalsium + vit. D)	8,44 ± 0,18	8,70 ± 0,16	0,008	6
P4 (kalsium + zat besi)	8,37 ± 0,23	8,61 ± 0,11	0,070	6
P5 (kalsium + vit. D + zat besi)	8,40 ± 0,20	9,68 ± 0,18	0,000	6

Dari tabel 4.2 diketahui pada kelompok P1 (kontrol negatif) tidak terdapat perbedaan signifikan rata-rata kadar kalsium serum pada pemeriksaan pertama dan kedua (nilai  $p = 0,193$   $p > 0,05$ ). Pada kelompok P2 (kontrol positif) juga tidak terdapat perbedaan yang signifikan rata-rata kadar kalsium sebelum dan sesudah intervensi (nilai  $p = 0,208$   $p > 0,05$ ) meskipun terjadi peningkatan rata-rata kadar kalsium serum 0,22 mg/dl setelah intervensi. Pada kelompok P3 (kalsium + vitamin D) dari hasil uji statistik diketahui terdapat perbedaan yang bermakna rata-rata kadar kalsium serum sebelum dan sesudah perlakuan pada kelompok kalsium dan vitamin D (P3) (nilai  $p = 0,008$   $p < 0,05$ ) dengan peningkatan yaitu 0,26 mg/dl. Pada kelompok P4 (kalsium + zat besi) tidak terdapat perbedaan yang signifikan (nilai  $p = 0,07$   $p < 0,05$ ) terjadi peningkatan rata-rata kalsium darah 0,25 mg/dl. Pada kelompok P5 (kalsium + vitamin D + zat besi) terdapat perbedaan signifikan (nilai  $p = 0,000$   $p < 0,05$ ) rata-rata kadar kalsium sebelum dan sesudah intervensi pada kelompok P5 (kalsium + vitamin D + zat besi) dengan peningkatan rata-rata kadar kalsium sesudah intervensi 0,73 mg/ dl. Perubahan rata-rata kadar kalsium serum setelah intervensi dapat dilihat pada gambar berikut:



**Gambar 4.1** Perubahan rata-rata kadar kalsium serum setelah intervensi

Dari gambar 4.1 di atas dapat dilihat perubahan rata-rata kadar kalsium serum setelah intervensi pada semua kelompok. Perubahan kadar kalsium serum paling besar terjadi pada kelompok P5 (Ca + Vitamin D + Fe) yaitu dari 8,40 mg/dl menjadi 9,68 mg/dl setelah intervensi.

#### 4.2 Perbedaan selisih rata-rata kadar kalsium semua kelompok intervensi dengan kelompok P5 (Kalsium+ vitamin D + Zat Besi)

**Tabel 4.3** Perbedaan selisih rata-rata kadar kalsium semua kelompok intervensi dengan kelompok P5 (Kalsium+ vitamin D + Zat Besi)

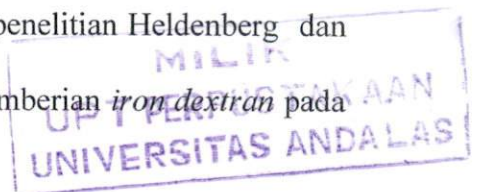
Kelompok Intervensi	Selisih Rata-Rata (mg/dl)	Nilai- p
P1 (control negatif) dan P5 (kalsium + vitamin D + zat besi)	1,18	0,000
P2 (control positif) dan P5 (kalsium + vitamin D + zat besi)	1,08	0,000
P3 (Kalsium + vitamin D) dan P5 (kalsium + vitamin D, zat besi)	0,98	0,000
P4 (kalsium + zat besi) dan P5 (kalsium + vitamin D + zat besi)	1,05	0,000

Dari analisis uji anova diketahui nilai  $p < 0,05$  sehingga terdapat perbedaan signifikan rata-rata kadar kalsium serum antar semua kelompok perlakuan. Analisis lebih lanjut Post Hoc Test pada tabel 4.3 diketahui bahwa terdapat perbedaan bermakna (nilai  $p < 0,05$ ) selisih rata-rata kadar kalsium pada kelompok P5 (kalsium, vitamin D, zat besi) dengan semua kelompok, yaitu kelompok P1 (kontrol negatif), P2 (kontrol positif), P3 (kalsium + vitamin D), P4 (kalsium + zat besi).

## 4.2 Pembahasan

### 4.2.1 Kadar Kalsium Serum Sebelum dan Sesudah Pemberian Kombinasi Kalsium Vitamin D dan Zat Besi.

Hasil penelitian menunjukkan pada kelompok P5 (kalsium vitamin D dan zat besi) terdapat perbedaan rata-rata kadar kalsium serum sebelum dan sesudah intervensi, dimana terjadi peningkatan kadar kalsium serum sebanyak 0,73 mg/dl. Hal ini membuktikan bahwa pemberian kombinasi kalsium, vitamin D dan zat besi berpengaruh terhadap peningkatan kadar kalsium serum. Menurut penelitian oleh New SA (2000) pemberian vitamin D untuk hasil yang terbaik harus dilakukan bersama dengan pemberian kalsium. Homeostasis kalsium tidak tergantung pada ketersediaan kalsium dalam diet saja tetapi melibatkan multifaktorial, salah satunya adalah vitamin D (Linder, 1992). Dengan demikian nutrisi untuk homeostasis kalsium yaitu kalsium dan vitamin D sudah terpenuhi pada kelompok ini. Pemberian zat besi pada kelompok P5 ini diharapkan dapat meningkatkan biosintesis 1,25-dihidroksivitamin D di hati dan di ginjal yang pada akhirnya dapat meningkatkan kadar kalsium dalam serum. Hal ini didukung oleh hasil penelitian Heldenberg dan Tanenbaum (2002). Pada penelitian tersebut dilakukan pemberian *iron dextran* pada



anak- anak Israel usia 6 sampai 24 bulan yang menderita anemia defisiensi besi. Pemberian zat besi tersebut meningkatkan hemoglobin dan besi serum, serta meningkatkan konsentrasi 25-hydroxyvitamin D plasma. Hingga saat ini belum ditemukan penelitian lain mengenai pengaruh zat besi terhadap kalsium serum.

Berdasarkan hasil penelitian ini, diketahui kondisi anemia defisiensi besi berpengaruh terhadap kadar kalsium serum karena pengaruhnya dalam proses aktivasi pre vitamin D menjadi 1,25 dihidroksivitamin D. Hal ini terlihat dari peningkatan kadar kalsium serum yang signifikan pada kelompok P5 yang diberi kalsium vitamin D dan zat besi dibandingkan dengan kelompok lainnya. Aktivasi vitamin D menjadi bentuk aktif 1,25-dihidroksivitamin D melalui proses hidroksilasi di hati dan di ginjal. Proses hidroksilasi vitamin D tersebut membutuhkan kombinasi sitokrom P-450 pada mitokondria renal dengan ferredoksin (*iron sulfur protein*), NADPH dan ferredoksin reductase untuk transpor elektron untuk merubah 25 OH D<sub>3</sub> menjadi 1,25-dihydroxyvitamin D (Deluca, 1998).

Pada kelompok P3 (kalsium dan vitamin D) juga terdapat perbedaan signifikan rata-rata kadar kalsium serum sebelum dan sesudah intervensi. Peningkatan rata-rata kadar kalsium pada kelompok ini sebanyak 0,26 mg/dl. Peningkatan kadar kalsium pada kelompok P3 ini dapat disebabkan oleh pemberian kalsium yang dikombinasikan dengan vitamin D. Akan tetapi peningkatan rata-rata kadar kalsium serum dengan pemberian kalsium, vitamin D dan zat besi (P5) lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok yang hanya diberi kalsium dan vitamin D (P3) yaitu sebanyak 0,73 mg/dl. Hal ini menunjukkan pada sampel penelitian yang defisiensi besi, jika diintervensi kalsium dan vitamin D ditambah dengan zat besi (P5) maka kadar kalsium serum akan lebih meningkat dibandingkan kelompok yang

defisiensi besi yang hanya diberikan dengan kalsium dan vitamin D (P3). Zat besi dalam bentuk sitokrom P450 dan ferredoksin butuhkan untuk aktivasi 1,25 dihidroksivitamin D (Murray dan Granner, 2003).

Hasil penelitian pada kelompok kontrol negative (P1), kontrol positif (P2), dan kelompok kombinasi kalsium zat besi (P4), menunjukkan tidak terdapat perbedaan signifikan rata-rata kadar kalsium serum pada pemeriksaan sebelum dan sesudah intervensi (tabel 4.2). Hal ini dapat disebabkan oleh tidak adanya kalsium dan vitamin D yang di dalam diet yang akan mengatur homeostasis kalsium sebagaimana teori dan hasil penelitian lain yang telah dijelaskan diatas. Pada kelompok P1 ini hanya diberi makanan standar tanpa kalsium. Pada kelompok P2 (kontrol positif) juga tidak terdapat perbedaan signifikan rata-rata kadar kalsium serum sebelum dan sesudah intervensi. Pada dasarnya pemberian kalsium dapat mempertahankan balans kalsium positif. Pada kelompok ini terjadi peningkatan kadar kalsium tetapi tidak signifikan, hal ini dapat disebabkan salah satunya oleh pemberian kalsium dalam dosis tunggal. Hal ini sesuai dengan penelitian oleh Harvey JA, Zobitz (1999) yang menyatakan suplementasi kalsium dalam dosis tinggi yang diberikan dalam dosis tunggal tidak akan lebih meningkatkan absorpsi kalsium.

Hasil penelitian pada kelompok P4 (kalsium dan zat besi) menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan rata-rata kadar kalsium serum sebelum dan sesudah intervensi pada kelompok kalsium dan zat besi (P4). Sebagaimana yang telah dibahas sebelumnya bahwa absorpsi kalsium sangat dipengaruhi oleh 1,25 dihidroksivitamin D, zat besi dalam bentuk ferredoksin (*iron sulfur protein*) dan sitokrom P-450 berperan dalam proses biosintesis 1,25 hidroksivitamin D (Deluca,



1998). Dengan tidak adanya vitamin D maka pemberian kalsium dan zat besi pada kelompok ini tidak memberikan perbedaan rata-rata kadar kalsium serum yang signifikan, karena vitamin D merupakan hormon utama dalam pengaturan absorpsi kalsium di usus (Ganong, 2001). Pemberian zat besi pada kelompok P4 ini mungkin dapat memperbaiki kondisi defisiensi besi, akan tetapi tanpa adanya vitamin D zat besi tidak berperan langsung terhadap absorpsi kalsium. Pemberian kalsium dan zat besi tanpa vitamin D pada kelompok sampel yang defisiensi besi tidak menyebabkan peningkatan signifikan rata-rata kadar kalsium serum.

#### **4.2.2 Perbedaan Selisih Rata-Rata Kadar Kalsium Serum Kelompok P1,P2, P3,P4 (Kalsium Vitamin D dan Zat Besi) dengan Kelompok P5 Setelah Intervensi**

Hasil penelitian ini membuktikan terdapat perbedaan yang signifikan rata-rata kadar kalsium serum antara kelompok yang diberi kombinasi kalsium, vitamin D dan zat besi (P5) dengan kelompok P1, P2, P3 dan P4. Analisis lebih lanjut dengan *Post Hoc Test* (tabel 4.3) diketahui terdapat perbedaan signifikan selisih rata-rata kadar kalsium antara semua kelompok intervensi (P1, P2, P3, P4) dengan kelompok P5 (kalsium + vitamin D + besi). Perbedaan selisih rata-rata kadar kalsium serum paling besar terdapat antara kelompok P1 (kontrol negatif) dengan kelompok P5 (kalsium + vitamin D + zat besi) yaitu 1,18 mg/dl. Pada kelompok P1 ini hanya diberi makanan standar tanpa kalsium. Sedangkan homeostasis kalsium tergantung pada ketersediaan kalsium dalam diet dan melibatkan multifaktorial, salah satunya seperti status vitamin D (Linder, 1992). Bila dibandingkan dengan kelompok P5 (kalsium + vitamin D + zat besi), jelas pada kelompok ini penyerapan kalsium lebih maksimal

karena adanya zat besi yang membantu aktivasi 1,25 dihidroksivitamin D untuk meningkatkan absorpsi kalsium di intestine.

Perbedaan selisih rata-rata kadar kalsium serum antara kelompok P2 (kontrol positif) dan P5 (kalsium + vitamin D + zat besi) signifikan yaitu sebesar 1,08 mg/dl.

Pemberian kalsium dapat mempertahankan balans kalsium positif, akan tetapi homeostasis kalsium tergantung pada diet kalsium dan vitamin D yang berperan dalam pembentukan *calcium binding protein* yang akan memfasilitasi absorpsi kalsium di usus halus (Panusunan, 2004), sedangkan pada kelompok ini hanya diberikan kalsium. Hal ini sesuai dengan penelitian oleh Harvey JA, Zobitz (1999) yang menyatakan suplementasi kalsium dalam dosis tinggi yang diberikan dalam dosis tunggal tidak akan lebih meningkatkan absorpsi kalsium.

Perbedaan selisih rata-rata kadar kalsium serum paling kecil adalah antara kelompok P3 (kalsium+ vitamin D) dengan kelompok P5 (kalsium + vitamin D + zat besi) yaitu 0,98 mg/dl. Sebagaimana penelitian New SA (2000) yang menunjukkan pemberian vitamin D saja secara tunggal tidak memberikan perbaikan yang nyata untuk kalsium darah, pemberian vitamin D untuk hasil yang terbaik harus dilakukan bersama dengan pemberian kalsium. Meskipun selisih rata-rata antara kelompok P3 dan P5 sedikit (0,98 mg/dl) dibandingkan dengan kelompok lainnya, namun ini membuktikan kombinasi kalsium dan vitamin D ini tidak meningkatkan kalsium serum sebaik pemberian kalsium, vitamin D dan zat besi. Hal ini mungkin disebabkan kelompok intervensi berada dalam kondisi defisiensi besi, sedangkan zat besi dibutuhkan untuk biosintesis 1,25 dihidroksivitamin D (Deluca, 1998) yang berperan untuk meningkatkan absorpsi kalsium di saluran pencernaan (Guyton dan Hall, 1997). Untuk meningkatkan kadar kalsium serum pada penderita anemia

defisiensi besi, maka harus diberikan kalsium dan vitamin D disertai zat besi. Antara kelompok P4 ini (kalsium + zat besi) dengan kelompok P5 (kalsium + vitamin D + besi) juga terdapat perbedaan signifikan selisih rata-rata kadar kalsium serum.

Hal ini membuktikan bahwa pemberian kalsium dan zat besi saja (P4) tidak akan meningkatkan absorpsi kalsium di intestin, karena kalsium sangat membutuhkan 1,25 dihidroksivitamin D untuk absorpsi yang maksimal, dan zat besi dibutuhkan untuk biosintesis 1,25 dihidroksivitamin D tersebut. Pemberian zat besi pada kelompok P4 ini mungkin dapat memperbaiki kondisi defisiensi besi, akan tetapi tanpa adanya vitamin D zat besi tidak berperan langsung terhadap absorpsi kalsium. Jika dibandingkan dengan kelompok P5 yang diberi kalsium vitamin D dan zat besi sangat jelas perbedaan rata-rata kalsium serum dengan kelompok P4 ini. Hal ini disebabkan adanya vitamin D yang dibutuhkan untuk absorpsi kalsium dan tersedianya zat besi berupa sitokrom P 450 dan ferredoksin yang dibutuhkan untuk aktivasi vitamin D.

Hasil penelitian ini membuktikan bahwa pada sampel penelitian yang dalam kondisi defisiensi besi, jika pemberian kalsium dan vitamin D disertai zat besi, maka kadar kalsium serum lebih meningkat daripada kelompok yang pemberian kalsium dan vitamin D nya tidak disertai zat besi.

1,25 dihidroksivitamin D merupakan hormon kalsitropik yang memediasi pengaturan transpor kalsium untuk mempertahankan konsentrasi kalsium dalam serum dalam batas normal oleh berbagai mekanisme pengaturan transpor kalsium dalam ginjal, saluran pencernaan dan tulang. Gangguan mekanisme transport kalsium akan mengakibatkan hipokalsemia (Rudijanto, 2002). Bila kadar kalsium darah turun

dibawah normal, tubuh akan mengambilnya dari tulang untuk menjaga keseimbangan kalsium darah tersebut. Pengambilan kalsium dari tulang dalam waktu lama akan menyebabkan pengeroposan tulang atau osteoporosis (Robbins MD, 1995). Zat besi berperan dalam biosintesis 1,25 dihidroksivitamin D, dengan demikian diduga penderita anemia defisiensi besi akan mengalami gangguan absorpsi kalsium yang dalam waktu lama akan menyebabkan osteoporosis.



## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1. KESIMPULAN

Dari penelitian pengaruh pemberian kalsium vitamin D dan zat besi yang dilakukan dapat disimpulkan hal-hal sebagai berikut:

- 5.1.1 Perbedaan kadar kalsium serum sebelum dan setelah intervensi tidak signifikan pada kelompok kontrol dan kelompok yang diberi kombinasi kalsium dan zat besi
- 5.1.2 Peningkatan kadar kalsium serum setelah intervensi signifikan pada kelompok yang diberi kombinasi kalsium dan vitamin D, tetapi peningkatan yang lebih signifikan terjadi pada kelompok kombinasi kalsium, vitamin D dan zat besi.
- 5.1.3 Perbedaan selisih rata-rata kadar kalsium serum sebelum dan sesudah intervensi signifikan antara kelompok yang diberi kombinasi kalsium vitamin D dan zat besi dengan kelompok kontrol dan kelompok intervensi lainnya
- 5.1.4 Pemberian kalsium tanpa vitamin D tidak dapat meningkatkan absorpsi kalsium
- 5.1.5 Penambahan zat besi pada kondisi anemia defisiensi besi dapat meningkatkan absorpsi kalsium dan kadar kalsium serum melalui perannya dalam aktivasi 1,25 dihidroksivitamin D

## 5.2 SARAN

- 5.2.1 Pemberian kalsium harus disertai vitamin D untuk absorpsi kalsium yang maksimal
- 5.2.2 Untuk menjaga homeostasis kalsium diperlukan asupan zat besi karena kondisi defisiensi besi berpengaruh terhadap mekanisme absorpsi kalsium oleh vitamin D
- 5.2.3 Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut agar hasil penelitian pada hewan ini dapat diaplikasikan kepada manusia.



## DAFTAR PUSTAKA

- Abdul, A. 2002. The Influence of Ferro Sulfat, Ascorbic Acid Combination Orally on iron Status in Rats Having Iron Deficiency, JBP vol 4:2
- Adamson, JW. 2001. Iron Deficiency and Other Hypoproliferative Anemias. 15<sup>th</sup> edition. McGraw-Hill. New York.
- Anderson, PH and Morris, HA. 2003. Vitamin D Metabolism: New Concepts and Clinical Implications, The Clinical Biochemist Review.12: 455-464
- Andrews NC. 1999. Disorders of Iron Metabolism. Nutr. J. Med. 34;26-32
- Arsana PM. 2002. Kursus dasar Metabolisme kalsium dan Penyakit Tulang, PB PERKENI Universitas Brawijaya, Malang
- Blake ,GM and Fogelman I. 1998. Bone Densitometry for Osteoporosis, J Clin Densitom, 27: 267-274
- Bowman, R. 2001. Present Knowledge in Nutrition: eighth edition, International Life Science Institute Press, Washington DC
- Cumming RG, and Nevitt MC. 1997. Calcium Intake and Fractur Risk: Result from the Study of Osteoporotic Fraktures. Am J Epidemiol. 7:14
- Delfos LJ, 1998. Calcium Metabolism. In: Clinical Essentials of Calcium and Skeletal Disorder, Medscape.com
- Deluca, 1998. Metabolism of Vitamin D: Current Status. Am J Clin Nutr, 16:4
- Depkes RI, 2001. Undang- Undang No.23 tahun 1992 tentang Kesehatan. Cetakan kelima, Sinar Grafika, Jakarta.
- Fairbanks, V F and Beutler E. 1998. Iron Metabolism. In : Beutlher E et all, editors, William Hematology. 6th ed, New York: Mc Graw-Hill inc
- Fawcett, DW. 2002. A Textbook of Histology, 12<sup>th</sup> Eddition, EGC, Jakarta
- Ganong, FW. 2001. Fisiologi Kedokteran, EGC, Jakarta
- Gardner, GD. 2007. Greenspans Bacis and Clinical Endocrinology, 8<sup>th</sup> Edition, Mc Graw Hill, USA
- Geissler, AC. And Powers JH. 2005. Human Nutrition, 11<sup>th</sup> Edition, Elsevier Churchill Livingstone, UK, 2005

- Geissler, AC. And Powers JH. 2005. Human Nutrition, 11<sup>th</sup> Edition, Elsevier Churchill Livingstone, UK, 2005
- Guyton, AC and Hall, JE. 2000. Textbook of Medical Fisiology. WB Saunders Company. Philadelphia
- Harvey, JA and Zobitz, MM. 1998. Dose Dependency of Calcium Absorption: A Comparison of Calcium Carbonate and Calcium Citrate, *J Bone Miner Res*, 25: 125-133
- Hastono PS, 2001. Modul Analisis Data, FKM UI, Jakarta
- Heldenberg D and Tanenbaum. 2002. Effect of Iron on Serum 25- hydroxyvitamin D and 24,25 hydroxyvitamin D Concentration, *Am J Clin Nutr*. 15:5
- Heller, HJ, Greer LG et al. 2000. Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Comparison of Two Calcium Supplements in postmenopausal Woman, *J clin Pharmacol*, 40: 582-588
- Hollick MF, 2004. Vitamin D: Importance in the Prevention of Cancer and Osteoporosis, *Am J Clin Nutr*, 79: 532-544
- Linder, M. 1992. Biokimia Nutrisi dan Metabolisme UI Press, Jakarta
- Kalim, H dan Suryana. 2002. Osteoporosis Primer, Makalah Lengkap Kursus Dasar Metabolisme Kalsium dan Penyakit Tulang, PERKENI, Malang
- Kusumawati, D, 2004. Bersahabat dengan Hewan Coba, Gadjah Mada University Press
- Kuswidayati, 1995. Hematologi. EGC. Jakarta
- Mann, S. 2002. Essentials of Human Nutrition, Oxford University Press
- Marx SJ, 2000. Hyperparathyroid and Hypoparathyroid Disorder. *N Engl J Med*. 7:335-401
- Medeiros, MD. 2004. Iron Deficiency Negatify Affects of energy intake and Bodyweight. *J. Nutr*. 13:84-93
- Murray dan Granner, DK. 2003. Biokimia Harper, EGC, Jakarta
- Nieves WJ. 2005. Osteoporosis: The Role of Micronutriens, *Am.J Clin Nutr*, 43:19-25



- New, SA. Nutritional Factors Influencing the Development and Maintenance of Bone Health throughout the Life Cycle, World Congress on osteoporosis. June 1999
- Panusunan, R. 2004. Penyakit Metabolik Tulang. Kumpulan Makalah Ilmiah Endocrine Update. Malang
- Powers and Hilary, J. 2004. Human Nutrition, 11th edition, Oxford University Press, New York
- Prosser, DE. 2004. Enzymes Involved in the Activation and Inactivation of vitamin D, Department of Biochemistry, Queen's University, Canada
- Rachman AI, 2004. Osteoporosis Primer Pada Wanita Pasca Menopause: Peranan Hormon Esterogen Menjelang Usia Lanjut. Pidato Pengukuhan Guru Besar tetap dalam Ilmu Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia
- Raisz, LG and Kream, BE. 1998. Metabolic Bone Disease, Williams Textbook Endocrinology 9 th Edition. Philadelphia, WB Saunder Company
- Robins,MD dan Stanley, I. 1995. Buku Ajar Patologi II, EGC, Jakarta
- Rudijanto, A. 2002. Penyakit Metabolisme Kalsium, Makalah Lengkap Kursus Dasar Metabolisme Kalsium dan Penyakit Tulang, PERKENI, Malang
- Sakaki, T and Kagawa, N. 2005. Metabolism of vitamin D3 by cytochromes P450, Asia Pac J Clin Nutr,84: 685-693
- Sambo PA, Adam MJF, 2002. Peran Pemeriksaan Pencitraan dan Biopsi Tulang Untuk Mendiagnosis Penyakit Tulang Metabolik. Makalah Lengkap Kursus Dasar Metabolisme Kalsium dan Penyakit Tulang, PERKENI, Malang
- Santoso, S. 2005. Menggunakan SPSS untuk Statistik Parametrik, Elex Media Komputindo, Jakarta
- Sastroasmoro dan Ismael, S. 1995. Dasar- Dasar Metodologi Penelitian Klinis, Bagian Ilmu Kesehatan Anak FKUI, Jakarta
- Setiati S, 2005. Peranan Kalsium dan Vitamin D pada Osteoporosis Senilis, Divisi Geriatri Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI/ RSCM disampaikan pada National Congress Indonesian Osteoporosis Association, Surabaya
- Shoback and Dolores. 2004. Greenspans Basic and Clinical Endocrinology, eight edition, Mc Graw Hill

- Soejono. 2000. Patogenesis Dan Aspek Klinis Osteoporosis, *Majalah Kesehatan Masyarakat Indonesia*, Juli 2000
- Soeatmadji, DW. 2002. Kendali Hormonal Metabolisme Calcium dan Skeletal, Makalah Lengkap dalam kursus dasar metabolisme kalsium dan Penyakit Tulang, PERKENI Unibraw. Malang
- Suhaimi, HK. 2003. Osteoporosis Post Menopause. Naskah Lengkap Pertemuan Ilmiah Nasional I Padang, PEROSI
- Syahbudin, S. Osteoporosis in Padang, Subdivision of Endocrinology and Metabolism Department of Internal Medicine M Djamil Hospital, Padang National Congres Osteoporosis Association, 2005
- Subeno BT, 2006. Nutrisi Lengkap Cegah Osteoporosis, *Suara Merdeka*
- Wikvall, K. 2001. Cytochrome P450 Enzymes in the Bioactivation of Vitamin D to its hormonal form, *Int J Mol Med*, 47:29-34
- Yip and Dallman. 1996. Present Knowledge in Nutrition. Editors Ekhard, Ziegler 17<sup>th</sup> Edition. ILSI Press. Washington DC
- Zobitz, MM. 1998. Dose Dependency of Calcium Absorption: A Comparison of Calcium Carbonate and Calcium Citrate, *J Bone Miner Res*, 25: 253- 260

# Oneway

## Descriptives

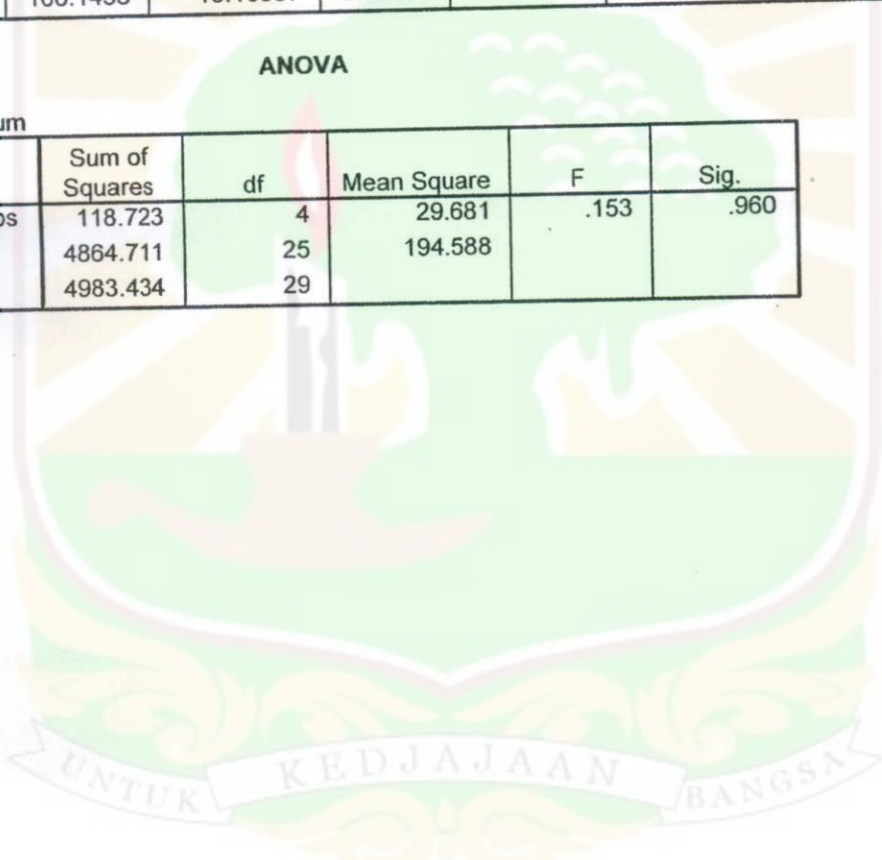
Kadar besi serum

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1.00	6	97.8383	12.94887	5.28635	84.2493	111.4273	88.09	119.05
2.00	6	100.2067	14.06478	5.74192	85.4466	114.9667	88.27	121.97
3.00	6	103.1850	18.14879	7.40921	84.1390	122.2310	89.10	137.08
4.00	6	101.3083	10.94887	4.46986	89.8182	112.7985	88.17	117.65
5.00	6	98.1783	12.57754	5.13476	84.9790	111.3776	88.76	122.06
Total	30	100.1433	13.10887	2.39334	95.2484	105.0383	88.09	137.08

## ANOVA

Kadar besi serum

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	118.723	4	29.681	.153	.960
Within Groups	4864.711	25	194.588		
Total	4983.434	29			



## T-Test

### Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	Kadar Ca Kel. Kontrol Pre	8.3433	6	.39328	.16055
	Kadar Ca Kel. Kontrol Post	8.4917	6	.15613	.06374

### Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	Kadar Ca Kel. Kontrol Pre & Kadar Ca Kel. Kontrol Post	6	.983	.000

### Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	Kadar Ca Kel. Kontrol Pre - Kadar Ca Kel. Kontrol Post	-.14833	.24145	.09857	-.40172	.10505	-1.505	5	.193

## T-Test

### Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	Kadar Ca Kel. Ca Pre	8.3700	6	.36905	.15067
	Kadar Ca Kel. Ca Post	8.5950	6	.05505	.02247

### Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	Kadar Ca Kel. Ca Pre & Kadar Ca Kel. Ca Post	6	-.153	.773

**Paired Samples Test**

		Paired Differences				t	df	Sig. (2-tailed)	
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower				Upper
Pair 1	Kadar Ca Kel. Ca Pre - Kadar Ca Kel. Ca Post	-.22500	.38135	.15569	-.62521	.17521	-1.445	5	.208

**T-Test**

**Paired Samples Statistics**

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	Kadar Ca Kel. Ca, Vit D Pre	8.4400	6	.18836	.07690
	Kadar Ca Kel. Ca, Vit D Post	8.6950	6	.16134	.06587

**Paired Samples Correlations**

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	Kadar Ca Kel. Ca, Vit D Pre & Kadar Ca Kel. Ca, Vit D Post	6	.659	.154

**Paired Samples Test**

		Paired Differences				t	df	Sig. (2-tailed)	
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower				Upper
Pair 1	Kadar Ca Kel. Ca, Vit D Pre - Kadar Ca Kel. Ca, Vit D Post	-.25500	.14639	.05976	-.409	-.10137	-4.267	5	.008

## T-Test

### Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	Kadar Ca Kel. Ca, Fe Pre	8.3667	6	.22633	.09240
	Kadar Ca Kel. Ca, Fe Post	8.6183	6	.11107	.04534

### Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	Kadar Ca Kel. Ca, Fe Pre & Kadar Ca Kel. Ca, Fe Post	6	-.172	.744

### Paired Samples Test

		Paired Differences				t	df	Sig. (2-tailed)	
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower				Upper
Pair 1	Kadar Ca Kel. Ca, Fe Pre - Kadar Ca Kel. Ca, Fe Post	-.25167	.26873	.10971	-.53368	.03035	-2.294	5	.070

## T-Test

### Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	Kadar Ca Kel. Ca, Vit D, Fe Pre	8.3917	6	.20556	.08392
	Kadar Ca Kel. Ca, Vit D, Fe Post	9.6767	6	.18565	.07579

### Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	Kadar Ca Kel. Ca, Vit D, Fe Pre & Kadar Ca Kel. Ca, Vit D, Fe Post	6	.745	.089

**Paired Samples Test**

Pair	Kadar Ca Kel. Ca, Vit D, Fe Pre - Kadar Ca Kel. Ca, Vit D, Fe Post	Paired Differences				t	df	Sig. (2-tailed)	
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower				Upper
1		-1.28500	.14096	.05755	-1.43293	-1.13707	-22.330	5	.000

**Oneway**

**Descriptives**

Kadar Kalsium Setelah Intervensi

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
kontrol post	6	8.4917	.15613	.06374	8.3278	8.6555	8.19	8.63
Ca Post	6	8.5950	.05505	.02247	8.5372	8.6528	8.53	8.69
Ca, Vit D Post	6	8.6950	.16134	.06587	8.5257	8.8643	8.53	8.97
Ca, Fe Post	6	8.6183	.11107	.04534	8.5018	8.7349	8.55	8.84
Ca, Vit D, Fe	6	9.6767	.18565	.07579	9.4818	9.8715	9.46	10.02
Total	30	8.8153	.46208	.08436	8.6428	8.9879	8.19	10.02

**ANOVA**

Kadar Kalsium Setelah Intervensi

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5.691	4	1.423	70.967	.000
Within Groups	.501	25	.020		
Total	6.192	29			



**DEPARTEMEN PENDIDIKAN NASIONAL  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS ANDALAS**

KAMPUS LIMAU MANIS, PADANG - 25163, Telp. (0751) 71682, Fax. 777057  
Email : fakfarmasi.unand@gmail.com, fakfarmasi.unand@yahoo.com

**SURAT KETERANGAN SELESAI PENELITIAN**

No. 020 /H.16. Farmakol/PP/2009

Kepala Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi Universitas Andalas menerangkan bahwa :

Nama : Erina Masri  
No. BP : 06 212 002  
Program Studi : Biomedik

Telah selesai melakukan penelitian di Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi Universitas Andalas, dengan judul: **Pengaruh Pemberian Kalsium Vitamina D dan Zat Besi Terhadap Kadar Kalsium Serum Tikus Putih Galur Wistar**, yang dilaksanakan mulai tanggal 4 Desember 2008 sampai dengan 12 Januari 2009.

Dan segala kewajiban yang ditimbulkan dalam pelaksanaan penelitian ini telah diselesaikan dengan baik.

Demikianlah surat keterangan ini dibuat untuk dapat digunakan dengan semestinya.

Padang, 23 Januari 2009  
An. Ka Lab. Farmakologi

Tembusan :

1. Ketua Program Studi S-2'Biomedik
2. Yang bersangkutan
3. Arsip



Syafriman, SPt  
NIP. 131831876



## Post Hoc Tests

### Multiple Comparisons

Dependent Variable: Kadar Kalsium Setelah Intervensi

Bonferroni

(I) Kelompok perlakuan	(J) Kelompok perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol post	Ca Post	-.10333	.08175	1.000	-.3550	.1483
	Ca, Vit D Post	-.20333	.08175	.199	-.4550	.0483
	Ca, Fe Post	-.12667	.08175	1.000	-.3783	.1250
	Ca, Vit D, Fe	-1.18500*	.08175	.000	-1.4366	-.9334
Ca Post	kontrol post	.10333	.08175	1.000	-.1483	.3550
	Ca, Vit D Post	-.10000	.08175	1.000	-.3516	.1516
	Ca, Fe Post	-.02333	.08175	1.000	-.2750	.2283
	Ca, Vit D, Fe	-1.08167*	.08175	.000	-1.3333	-.8300
Ca, Vit D Post	kontrol post	.20333	.08175	.199	-.0483	.4550
	Ca Post	.10000	.08175	1.000	-.1516	.3516
	Ca, Fe Post	.07667	.08175	1.000	-.1750	.3283
	Ca, Vit D, Fe	-.98167*	.08175	.000	-1.2333	-.7300
Ca, Fe Post	kontrol post	.12667	.08175	1.000	-.1250	.3783
	Ca Post	.02333	.08175	1.000	-.2283	.2750
	Ca, Vit D Post	-.07667	.08175	1.000	-.3283	.1750
	Ca, Vit D, Fe	-1.05833*	.08175	.000	-1.3100	-.8067
Ca, Vit D, Fe	kontrol post	1.18500*	.08175	.000	.9334	1.4366
	Ca Post	1.08167*	.08175	.000	.8300	1.3333
	Ca, Vit D Post	.98167*	.08175	.000	.7300	1.2333
	Ca, Fe Post	1.05833*	.08175	.000	.8067	1.3100

\*. The mean difference is significant at the .05 level.



# BAGIAN BIOKIMIA

FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS ANDALAS  
JL. PERINTIS KEMERDEKAAN PADANG. TELP. 21233

---

## SURAT PERNYATAAN

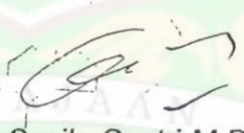
Yang bertanda tangan dibawah ini menyatakan bahwa :

Nama : Erina Masri  
Pekerjaan : Mahasiswa S2 Biomedik FK-Unand  
No. BP : 06 212 002

telah melakukan Penelitian /Pemeriksaan Kalsium Serum dan Fe Serum untuk penulisan tesis yang menjadi syarat untuk menyelesaikan kuliahnya di laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Unand pada tanggal 31 Desember 2008 dan 12 Januari 2009

Demikianlah surat pernyataan ini dibuat semoga dapat dimaklumi. Atas bantuan dan kerja samanya diucapkan terima kasih.

Padang, 13 Januari 2009  
Kepala Lab,



Dr. Susila Sastri, M. Biomed  
NIP. 131 129 834



DEPARTEMEN PENDIDIKAN NASIONAL  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS ANDALAS

KAMPUS LIMAU MANIS, PADANG - 25163, Telp. (0751) 71682, Fax. 777057  
Email : fakfarmasi.unand@gmail.com, fakfarmasi.unand@yahoo.com

**SURAT KETERANGAN SELESAI PENELITIAN**

No. 020 /H.16. Farmakol/PP/2009

Kepala Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi Universitas Andalas  
menerangkan bahwa :

Nama : Erina Masri  
No. BP : 06 212 002  
Program Studi : Biomedik

Telah selesai melakukan penelitian di Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi Universitas Andalas, dengan judul: **Pengaruh Pemberian Kalsium Vitamin D dan Zat Besi Terhadap Kadar Kalsium Serum Tikus Putih Galur Wistar**, yang dilaksanakan mulai tanggal 4 Desember 2008 sampai dengan 12 Januari 2009.

Dan segala kewajiban yang ditimbulkan dalam pelaksanaan penelitian ini telah diselesaikan dengan baik.

Demikianlah surat keterangan ini dibuat untuk dapat digunakan dengan semestinya.

Padang, 23 Januari 2009  
An. Ka Lab. Farmakologi

Tembusan :

1. Ketua Program Studi S-2'Bi
2. Yang bersangkutan
3. Arsip

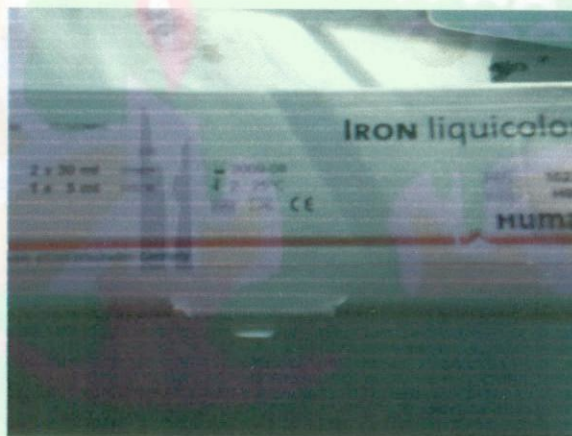


Syafriman, SPT  
NIP. 131831876

## GAMBAR DOKUMENTASI PENELITIAN



1. Serum sampel yang telah dicampur dengan reagen



2. Reagen untuk besi serum



3. Pengukuran kadar kalsium serum dan besi serum dengan Spectrophotometer