

Dampak Paparan Logam Berat Besi (Fe) Terhadap Hemoglobin (Hb) Pada Darah Tikus Wistar

Dewi Yudiana Shinta^{1*}, Muhammad Diki Juliandi², Def Primal³

^{1,2,3}Universitas Perintis Indonesia Jl Adinegoro Km 17 Simpang Kalumpang Lubuk Buaya Padang

*Correspondent email: dyshinta76@gmail.com

Diterima: 9 Februari 2024 | Disetujui: 28 April 2024 | Diterbitkan: 30 April 2024

Abstract. Iron (Fe) heavy metal, in certain amounts is an essential heavy metal, much needed by living organisms; however, in excessive amounts, iron metal can be toxic. Iron (Fe) metal has adverse effects on health, as it is harmful to organs and causes physiological problems especially Hb levels in the blood. This study aims to see the impact of exposure to heavy metal iron (Fe) on living things represented by Wistar rats. The benefit of this study is to provide an overview of the exposure of living things, especially humans, will have an impact on hemoglobin levels that make humans can be affected by anemia. This research design with a post test group design only with a total sample of 10 rats divided into 3 groups, namely negative control, treatment 1 with a dose of 0.54 mg / BW and treatment 2 with a dose of 1.08 mg/BW, giving (Fe) is given from the first day to the 14th day and then taking rat blood through the orbital eye. Examination of heavy metal Fe with atomic absorption spectrophotometry and for Hb levels with Hemosmart Gold Hemoglobin Test Strip. The results of this study heavy metal (Fe) levels in the blood of rats are the highest levels found in the sample 1.08mg / BW T3 (H14) with Fe levels of 44.14 µg / L and the lowest Fe levels found in the sample with Fe levels of 14.78 µg / L and control of rats, Fe levels are 9.85 µg / L. Hb levels in the blood of rats were 0.54mg/BB dose was (7.4 g/dl & 6.8g/dl), 1.08mg/BB dose obtained hemoglobin results (7.2g/dl & 7.6g/dl). The normal Hb level of control rats in rat blood is 6.1 g/dL. The conclusion of this study is that the level of Fe that enters the body of rats greatly affects the hemoglobin (Hb) of wistar rats where if the level of heavy metal Fe increases in the blood there will be a decrease in hemoglobin (Hb) levels in the blood which will cause anemia.

Keywords: heavy metal Iron (Fe), Hemoglobin (Hb) levels, Wistar rats, anemia

PENDAHULUAN

Buangan industri yang mengandung persenyawaan logam berat besi tidak hanya berbahaya bagi tumbuhan. tetapi juga terhadap manusia dan hewan. Ini terkait dengan karakteristik logam berat yang sulit untuk dipecahkan, sehingga mudah terkumpul di lingkungan perairan dan keberadaan alamnya tidak mudah dihilangkan, dapat terkumpul dalam biota yang hidup di perairan seperti kerang, ikan, dan makhluk hidup lainnya, memiliki waktu paruh yang lama dalam tubuh makhluk laut dan memiliki nilai faktor konsentrasi yang signifikan di dalam tubuh benda hidup seperti manusia. Logam besi keberadaannya dijumlah tertentu sangat penting untuk organisme yang hidup, tetapi dalam jumlah kecil dan berlebihan dapat menyebabkan racun.

Perkembangan industri yang semakin sangat pesat menimbulkan adanya dampak negatif bagi lingkungan. Hal ini disebabkan karena pembuangan limbah yang dihasilkan dari aktifitas industri dapat mencemari lingkungan terutama pada lingkungan perairan karena dapat menurunkan kualitas perairan. Penurunan kualitas air diakibatkan oleh adanya masukan zat pencemar, baik berupa komponen-komponen organik maupun anorganik. Komponen- komponen anorganik tersebut antara lain yaitu logam berat yang berbahaya (Siaka, 2008).

Kualitas lingkungan yang sehat tergantung pada pencapaian standar kualitas kesehatan lingkungan dan persyaratan kesehatan. Komponen lingkungan tersebut diantaranya adalah air bersih (Wispriono, 2019). Data *World Health Organization* (WHO) pada tahun 2015 terdapat 663 juta penduduk yang masih kesulitan memperoleh air bersih. United Nations Educational Scientific and Cultural Organization (UNESCO) memprediksikan pada tahun 2025 akan didapatkan hampir dua pertiga penduduk dunia berada di daerah dengan kekurangan air. Badan Perencanaan dan Pembangunan Nasional (BAPPENAS) mempekirakan akan terjadi krisis air di Indonesia, yang diakibatkan oleh peningkatan jumlah penduduk dan tidak diiringi dengan ketersediaan air bersih (Utami & Handayani, 2017).

Air minum yang aman bagi kesehatan adalah air yang memenuhi persyaratan fisik, mikrobiologi, kimia, dan radiologi yang dijelaskan dalam parameter wajib dan parameter tambahan. Batas maksimal cemaran logam besi yang diizinkan dalam kualitas air minum sesuai dengan Peraturan Menteri Kesehatan RI No.495/MENKES/PER/2010 yaitu dengan kadar maksimal 0,3 mg/L.

Analisa kandungan logam ini sangat penting untuk dilakukan mengingat dampak yang dapat ditimbulkannya sangat berbahaya bagi kesehatan manusia. Dampak negatif yang dapat ditimbulkan logam besi (Fe) menyebabkan gangguan kesehatan yaitu bersifat toksik terhadap organ melalui gangguan secara fisiologis, misalnya kerusakan dinding sel usus. Kadar logam mangan yang tinggi juga dapat menimbulkan

gangguan kesehatan seperti serangan jantung, gangguan pembuluh darah bahkan kanker hati dan anemia. (Wardhana, 2004).

Anemia secara langsung dipengaruhi oleh konsumsi makanan rendah zat besi tiap harinya, menimbulkan kosongnya cadangan zat gizi besi didalam tubuh sehingga mengganggu pembentukan hemoglobin. Zat gizi besi merupakan unsur utama dalam pembentukan hemoglobin. Anemia difisiensi besi adalah masalah gizi yang paling umum mempengaruhi sekitar 2 miliar orang diseluruh dunia, kebanyakan dari mereka 89% berada pada Negara berkembang (Hermiaty et al., 2021). Masalah kekurangan asupan zat gizi besi di Indonesia merupakan masalah dalam kategori yang cukup tinggi dengan persentase sebesar 50% (Meryani et al., 2019).

Hal ini dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu kurangnya asupan sumber makanan hewani sebagai salah satu sumber zat gizi besi yang mudah diserap (*heme iron*), sedangkan bahan makanan nabati (*non-heme iron*) merupakan sumber zat besi yang tinggi tetapi sulit diserap sehingga dibutuhkan porsi yang cukup besar untuk memenuhi kebutuhan zat besi dalam sehari-hari. Pola makan masyarakat Indonesia masih didominasi oleh sayur-sayuran yang merupakan sumber zat besi yang sulit diserap, ditambah dengan kebiasaan mengonsumsi makanan yang dapat mengganggu penyerapan zat besi, seperti kopi dan teh secara bersamaan pada waktu makan menyebabkan serapan zat besi semakin rendah.

Kelebihan zat besi dapat mengarah pada peningkatan radikal bebas, jika radikal bebas tidak diimbangi dengan antioksidan maka dapat menyebabkan stress oksidatif yang dapat mengakibatkan kerusakan sel, jaringan dan organ. Kelebihan zat besi dapat masuk kedalam tubuh melalui tiga rute yaitu rute enteral, rute parateral, dan rute plasenta selama kehidupan janin (Alberto Piperno, 1998)

Besi mampu berikatan dengan reaktif oksigen spesies menjadi radikal hidroksil yang terbentuk dari oksigen melalui reaksi fenton. Radikal hidroksil dapat merusak membrane sel yang mengandung banyak asam lemak tidak jenuh menjadi peroksida lipid, sehingga terjadi peroksidasi lipid berantai. Peroksidasi lipid berantai meningkatkan pembentukan radikal bebas. Peningkatan jumlah radikal bebas merupakan terjadinya stress oksidasi (Niki E, 2009). Radikal hidroksil menyebabkan asam lemak tak jenuh pada membran fosfolipid mengalami konversi menjadi peroksida lipid, pembentukan peroksida lipid membuat radikal bebas lebih toksik merusak sel endotel (Aziz Aryani, 2016).

Penggunaan hewan model (hewan coba) sangat perlu dalam penelitian in vivo dibidang biomedik. Hewan model berkontribusi untuk memahami tentang fungsi gen, etiologi dan mekanisme suatu penyakit, uji efektifitas dan keamanan suatu obat atau bahan kimia. Hewan yang banyak digunakan untuk penelitian antara lain tikus, mencit dan hewan pengerat lainnya (Johnson 2012). Tikus sebagai hewan model telah banyak digunakan pada penelitian dikarenakan siklus hidupnya pendek, biaya perawatan lebih murah, relatif mudah perawatannya dan tersedia database dalam menginterpretasikan data yang relevan untuk manusia (Said dan Abiola 2014). Dari 75-100 juta pertahun hewan vertebrata yang digunakan dalam penelitian, pendidikan dan pengujian, hampir sekitar 33% diantaranya adalah tikus (Baumans 2016). Penelitian ini bertujuan untuk melihat dampak paparan logam berat besi (Fe) terhadap makhluk hidup yang diwakilkan oleh tikus wistar. Manfaat penelitian ini untuk memberikan gambaran terpaparnya makhluk hidup terutama manusia akan memberikan dampak terhadap kadar hemoglobin yang membuat manusia bisa terdampak anemia.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian merupakan eksperimental laboratorium dengan desain penelitian *post test group desain only* yaitu rancangan yang digunakan untuk melihat pengaruh pada kelompok eksperimen dengan kelompok kontrol, penelitian ini bersifat kualitatif. Penelitian kualitatif dilakukan untuk mendeskripsikan gambaran kadar hemoglobin pada tikus pasca di papari logam berat besi (Fe). Pemeliharaan, perlakuan dan pembedahan hewan uji coba dilakukan di Laboratorium Tikus Falkutas Farmasi Universitas Perintis Indonesia, untuk pemeriksaan Hemoglobin darah tikus menggunakan alat Hemosmart Gold Hemoglobin Test Strip yang dilakukan di laboratorium medis Analisis Kesehatan Universitas Perintis Indonesia. Populasi yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus putih yang dipapari logam berat besi (Fe) sebanyak 10 ekor. Sampel yang diambil adalah 10 ekor tikus dibagi menjadi 3 kelompok yaitu: kelompok pertama 2 ekor tikus sebagai tanda atau kontrol, kelompok kedua adalah 2 ekor tikus dengan dosis 0,54 dan 2 ekor tikus dengan dosis 1,08 minggu pertama, kelompok ketiga adalah 2 ekor tikus dengan dosis 0,54 dan 2 ekor tikus dengan dosis 1,08 minggu kedua.

Persiapan Penelitian

Persiapan Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Hemosmart Gold hemoglobin Test Strip, stik podc, tissue, mikropipet, neraca analitik, labu ukur, pipet Pasteur/pipet tetes, jarum sonde tikus, kandang tikus ukuran 30 x 20, masker, sarung tangan (latex), rak tabung, tabung ungu EDTA.

Persiapan Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus, minum dan makanan tikus, alkohol 70%, darah tikus yang terpapar logam Fe, Aquadest, larutan logam Fe, eter 10%.

Prosedur Kerja

Pembuatan Larutan Logam Fe

Disiapkan spuit steril yang bersih dan tidak ada kontaminasi pada spuit tersebut. Ditimbang dan dilarutkan 0,54 mg (dosis I) dan 1,08 mg (dosis II) logam Fe dengan 100 ml air. Dimasukkan larutan logam Fe ke dalam spuit yang sudah disiapkan.

Pemeriksaan Kadar Fe Dalam Darah

Pembuatan Larutan Standar Fe, dari larutan induk Fe 1000 ppm (buatan pabrik Merck) diencerkan menjadi 100 dalam labu 100 ml, 100 ppm diencerkan menjadi 10 ppm dalam labu 10 ml, 10 ppm diencerkan menjadi 2 ppm, 4 ppm, 8 ppm, dalam labu 10 ml. Kemudian diukur menggunakan Spektrofotometri Serapan Atom. Preparasi Sampel, Pipet 2 ml sampel whole blood dan masukan kedalam labu kjedahl 100 ml. Ditambahkan 1 ml HCL04 dan tambahkan 5 ml HNO³ pekat. Kemudian, destruksi hingga larutan jernih. Dinginkan, saring dan masukan dalam labu ukur 50 ml dan ditambah aquadest sampai tanda batas, kocok sampai homogen. Saring dengan kertas Whatman No 41. Beri label dan larutan siap diuji kandungan logam Fe menggunakan SSA dengan panjang gelombang 248,3 nm. Pengukuran Pemeriksaan Sampel Dengan Alat SSA, Diatur panjang gelombang menurut instruksi manual SSA, logam Fe dengan gelombang panjang 248,3 nm. Panjang gelombang yang diperoleh pada kurva absorbs maksimum digunakan untuk pengukuran konsentrasi logam Fe dalam sampel. Set zero alat menggunakan larutan blanko, lalu ukur absorbansi larutan standar Fe dari konsentrasi rendah sampai konsentrasi tinggi, sampel yang sudah didestruksi hingga didapatkan larutan jernih diukur absorbansinya, sehingga didapatkan kadar logam Fe pada sampel.

Persiapan Hewan Coba

Sampel yang diperlukan ini adalah tikus putih yang berusia 2 bulan dan memiliki berat badan sekitar 200 gram. Sebelum dilakukan pengambilan darah tikus diberikan proses adaptasi sesuai kelompok perlakuan dan hanya memberikan makanan dan minum setiap harinya.

Pembagian Kelompok Hewan Coba

Hewan coba dibagi 3 kelompok, 1 kelompok kontrol dan 2 kelompok perlakuan yang masing-masing terdiri dari 10 ekor tikus jantan dengan rincian sebagai berikut: Kelompok kontrol, Tanpa diberi larutan logam besi (Fe). Kelompok perlakuan, Perlakuan 1: diberi larutan logam besi (Fe) dengan dosis 0,54mg/hari selama 7 hari dan 14 hari. Perlakuan 2: diberikan larutan logam besi (Fe) dengan dosis 1,08mg/hari selama 7 hari dan 14 hari.

Penentuan Dosis

Dosis suplemen besi (Fe) yang digunakan terdiri dari 3 kelompok perlakuan dosis yaitu : 30mg, 60mg. Masing-masing dosis dikonversikan menjadi dosis untuk tikus dengan satuan faktor konversi 0,018 untuk tikus dewasa dengan berat 200gr (Laurence dan Bacharach, 1994). Maka didapatkan dosis tikus sebagai berikut: Dosis suplementasi besi (Fe) sebanyak 60 mg dikonversikan menjadi dosis untuk tikus menjadi = $0,018 \text{ Fe (200g)} = 0,018 \times 60\text{mg} = 1,08\text{mg}$, Dosis suplementasi besi (Fe) sebanyak 120mg dikonversikan menjadi dosis untuk tikus 200g menjadi = $0,018 \text{ Fe (200g)} = 0,018 \times 120\text{mg} = 2,16\text{mg}$.

Cara Kerja

Alat dan bahan untuk pengambilan sampel darah dan tabung vacutainer ungu EDTA. Sebelum melakukan pengambilan darah tikus dianestesi terlebih dahulu dengan menggunakan larutan eter 10% setelah tikus terbius. Dilakukan pengambilan darah dari 10 tikus, 2 kontrol dan 6 tikus yang terpapar logam berat Fe diambil dibagian sinus orbital mata. Siapkan mikrohematokrit dan tabung EDTA. Goreskan mikrohematokrit tersebut kebagian sinus orbitalis atau medical canthus mata dibawah bola mata kearah foramen opticus, sementara ujung yang lain diarahkan ke tempat tabung EDTA, putar mikrohematokrit hingga melukai plexus tersebut darah yang keluar segera ditampung kedalam tabung EDTA sebanyak 2 cc dan siap digunakan untuk keperluan penelitian.

Pemeriksaan Kadar Hemoglobin

Alat Hemosmart Gold Test Strip dan sampel darah tikus yang telah didapat dari pengambilan sampel. Kemudian hidupkan alat hemosmart gold dan masukan test strip ke dalam alat, tunggu alat ready dan siap digunakan. Homogenkan sampel dengan suhu ruangan lalu buka tutup tabung EDTA, masukan test strip ke dalam tabung tunggu alat menyedot darah sendiri dan tunggu hasil 5 detik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Kadar Hemoglobin Pada Tikus

Pemeriksaan kadar hemoglobin pada tikus yang terpapar logam berat besi (Fe) yaitu melalui proses adaptasi dengan pemberian makan dan minum yang dicampur dengan larutan Fe dengan dosis 0,54 mg/BB dan 1,08 mg/BB, perlakuan ini dilakukan selama satu minggu sampai dua minggu. Dari pemeriksaan menggunakan Hemosmart Gold Hemoglobin Test Strip didapatkan hasil sebagai berikut:

Tabel 1. Hasil Pemeriksaan Hemoglobin

NO	Lama paparan	Dosis Sampel mg/BB	Hewan	Hemoglobin (g/dL)
1	minggu 1	0,54	Tikus 1	7,4
		0,54	Tikus 2	6,8
		1,08	Tikus 3	7,2
		1,08	Tikus 4	7,6
2	minggu 2	0,54	Tikus 1a	5,0
		0,54	Tikus 2a	6,1
		1,08	Tikus 3a	4,1
		1,08	Tikus 4a	4,8
kontrol				6,1

Ket : Jenis sampel darah

Tabel 1 dapat dilihat perbedaan dari sampel kontrol dan sampel perlakuan dengan dosis 0,54 mg/BB dan 1,08 mg/BB bahwa didapatkan kadar hemoglobin yang lebih rendah dari pada kontrol. Dengan nilai kontrol 6,1g/dL, kadar hemoglobin perlakuan minggu pertama didapatkan hasil dengan dosis 0,54mg/BB adalah (7,4 g/dl & 6,8g/dl), sedangkan pada perlakuan minggu pertama dengan dosis 1,08mg/BB di dapatkan hasil hemoglobin (7,2g/dl & 7,6g/dl).

Namun perubahan kadar hemoglobin terlihat pada minggu kedua yang memiliki kadar hemoglobin berada jauh di bawah nilai kontrol. Dosis 0,54mg/BB pada perlakuan minggu kedua didapatkan kadar hemoglobin (5,0g/dl & 6,1g/dl), pada dosis 1,08mg/BB didapatkan kadar hemoglobin (4,1g/dl & 4,8g/dl).

Tabel 2. Hasil kadar Fe dalam darah

Kode Sampel	Konsentrasi ($\mu\text{g/dL}$)	Perlakuan
Tikus 1	14,78	P1 Kelompok 7 hari
Tikus 2	26,37	P1 Kelompok 7 hari
Tikus 3	27,96	P2 Kelompok 7 hari
Tikus 4	35,26	P2 Kelompok 7 hari
Tikus 1a	33,38	P1 Kelompok 14 hari
Tikus 2a	36,74	P1 Kelompok 14 hari
Tikus 3a	44,14	P2 Kelompok 14 hari
Tikus 4a	44,01	P2 Kelompok 14 hari
Kontrol	9,85	kontrol

Ket : P1= kelompok tikus 1

P2 = kelompok tikus 2

Hasil analisis menunjukkan bahwa konsentrasi logam Fe tertinggi pada sampel P1 dan P2 pada kelompok 7 hari adalah 0,54mg/BB, T2 (7H) yaitu 26,37 $\mu\text{g/dl}$, sedangkan 1,08mg/BB, T2 (7H) yaitu 35,26 $\mu\text{g/dl}$. Sedangkan hasil sampel P1 dan P2 pada kelompok 14 hari adalah 0,54mg/BB, T4 (14H) yaitu 36,74 $\mu\text{g/dl}$ dan 1,08mg/BB T3 (14H) 44,14 $\mu\text{g/dl}$. Dan nilai terendah di dapatkan pada sampel kontrol 2; 9,85 $\mu\text{g/dl}$. Rata-rata kadar logam Fe darah tikus seluruhnya yaitu 29,43 $\mu\text{g/L}$. Hasil tersebut sangat tinggi dalam batas normal kadar Fe dalam darah tikus berdasarkan menurut (Kapil Thakur et al., 2019) yaitu antara 114,8 $\mu\text{g/dL}$ hingga 77 $\mu\text{g/dL}$ atau 1.148 mg/dL hingga 0,77 mg/dL.

Zat besi merupakan mikroelemen yang dibutuhkan untuk membentuk sel darah merah yang berguna mengangkut oksigen dan karbon dioksida dalam tubuh. Zat ini terutama diperlukan dalam hematopoesis (pembentukan darah) yaitu sintesis hemoglobin (Hb) (Soebroto, 2009). Kelebihan zat besi dalam tubuh dan tidak diimbangi dengan antioksidan dapat meningkatkan kadar reaktif oksigen sistem (ROS) yang dapat berikatan dengan logam transisi yang dapat mengubah valensi seperti besi menjadi radikal hidroksil melalui reaksi venton. Radikal hidroksil merupakan suatu radikal bebas yang mempunyai reaktifitas tinggi memiliki potensi untuk merusak sel, organ, dan jaringan dalam tubuh. Radikal hidroksil

dapat merusak tiga jenis senyawa yang penting untuk mempertahankan integritas sel seperti asam lemak tak jenuh, DNA dan protein (Halliwell & Gutteridge, 2001).

Logam Fe merupakan logam esensial yang keberadaannya dalam jumlah tertentu sangat dibutuhkan oleh organisme hidup, namun dalam jumlah berlebih dapat menimbulkan efek racun. Tingginya kandungan logam Fe akan berdampak terhadap kesehatan manusia diantaranya bisa menyebabkan keracunan (muntah), kerusakan usus, penuaan dini hingga kematian mendadak, radang sendi, cacat lahir, gusi berdarah, kanker, sirosis ginjal, sembelit, diabetes, diare, pusing, mudah lelah, hepatitis, hipertensi, insomnia (Supriyantini & Endrawati, 2015).

Dosis zat besi yang paling tepat untuk mencegah anemia ibu masih belum jelas, namun dalam penelitian yang dilakukan oleh Esther disebutkan bahwa kelebihan zat besi dapat mengarah ke radikal bebas, jika radikal bebas tidak diimbangi dengan antioksidan maka dapat menyebabkan stress oksidatif yang dapat mengakibatkan kerusakan sel, jaringan dan organ (Esther Casanueva & Fernando, 2003).

Hasil penelitian yang didapatkan kelainan kadar hemoglobin yaitu memiliki penurunan kadar hemoglobin pada tikus perlakuan. Dengan nilai kontrol 6,7g/dL dan 6,1g/dL, ada beberapa sampel pada darah tikus putih yang mengonsumsi logam berat besi Fe mengalami peningkatan kadar hemoglobin dari pada kontrol yaitu dengan kode sampel 0,54T1(H7), 0,54T2(H7), 1,08T1(H7) dan 1,08T2(H7), kadar hemoglobin yang didapat adalah 7.4, 6.8, 7.2, dan 7.6 pada minggu pertama dalam perlakuan tikus. Namun hasil kadar hemoglobin berubah pada perlakuan minggu ke dua, didapatkan nilai kadar hemoglobin berada dibawah nilai kontrol pada tikus putih yang mengonsumsi larutan Fe. Pengukuran kadar hemoglobin dilakukan setelah didapatkan darah tikus putih yang mengonsumsi larutan Fe, sampel dimasukkan kedalam tabung EDTA ungu dan langsung dilakukan pengukuran kadar hemoglobin.

Penelitian ini yang sama dilakukan oleh Aqilah, Z.A., (2022) dengan judul pengaruh Pemberian Suplementasi Besi Fe Dosis Tinggi Terhadap Keadaan Plasenta Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar Bunting dalam penelitian tersebut dia juga mengatakan Suplementasi besi (Fe) dosis tinggi memiliki pengaruh terhadap keadaan plasenta tikus putih *rattus norvegicus*.

Kelebihan zat besi dapat menyebabkan radikal bebas, yang dapat memiliki dampak negatif seperti kerusakan oksidatif terhadap protein, DNA, lemak membran, dan kerusakan jaringan. Radikal hidroksil mengubah asam lemak tak jenuh pada membran fosfolipid menjadi peroksida lipid, dan pembentukan peroksida lipid menyebabkan radikal bebas menjadi lebih toksik dan merusak sel endotel (Aziz Aryani, 2016). Kalsium intraseluler dan ekstraseluler dapat bergabung dengan fosfat saat membrane sel rusak atau tidak berfungsi, menghasilkan kristal hidrosiapatit, yang menyebabkan plak putih atau kalsifikasi. Ini menghasilkan peningkatan kalsifikasi plasenta pada kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol, mendukung temuan penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa kalsifikasi plasenta rata-rata lebih rendah pada kelompok kontrol. Toksisitas logam Fe terhadap darah dapat memiliki efek yang merugikan melalui beberapa mekanisme, yang melibatkan kerusakan sel darah merah, gangguan metabolisme besi dan efek oksidatif. Radikal bebas yang dihasilkan karena kelebihan zat besi melalui reaksi fenton dapat merusak membrane sel darah merah. Proses ini menyebabkan peroksidasi lipid dan merusak protein serta DNA dalam eritrosit yang akhirnya mengakibatkan hemolisis atau penghancuran sel darah merah. Hemolisis ini dapat menyebabkan anemia hemolitik (Youssef & Spitalnik, 2019). Selain itu, besi berlebih juga dapat memicu produksi radikal bebas seperti superoksida dan hydrogen peroksida, yang dapat mengakibatkan kerusakan oksidatif pada sel darah merah. Sistem antioksidan dalam eritrosit, meskipun cukup kuat, tidak selalu bisa menetralkan semua radikal bebas ini, terutama saat hemoglobin teroksidasi sebagian membrane eritrosit. Akibatnya, sel darah merah jadi lebih kaku dan mudah rusak, mempercepat penuaan dan penghapusan mereka dari sirkulasi oleh makrofag (Vallielian et al., 2022).

Analisa kandungan Fe pada sampel darah tikus dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer serapan atom, panjang gelombang Fe yang digunakan sebesar 248,3 nm. Spektrofotometer Serapan Atom (SSA) ditujukan untuk analisa kuantitatif terhadap unsur-unsur logam. Alat ini memiliki sensitivitas yang sangat tinggi, sehingga sering dijadikan sebagai pilihan utama dalam menganalisis unsure logam yang konsentrasinya sangat kecil (ppm sampai ppb). Prinsip dasar pengukuran dengan Spektrofotometer Serapan Atom adalah penyerapan energi oleh atom-atom dalam keadaan dasar menjadi atom-atom dalam keadaan tereksitasi (Harahap & Harahap, 2018).

Berdasarkan analisa yang dilakukan secara Spektrofotometer Serapan Atom diperoleh hasil dari rata-rata kadar Fe pada sampel adalah 29,43 µg/L, nilai ini termasuk sangat tinggi dari batas normal kadar Fe dalam darah tikus yaitu antara 114.8 µg/dL hingga 77 µg/dL atau 1.148 µg/L hingga 0.77 µg/L. Kadar tertinggi pada sampel didapati pada sampel 1,08mg/BB T3(H14) dengan kadar Fe sebanyak 44,14 µg/L dan kadar Fe terendah didapati pada sampel control 2 dengan kadar Fe sebanyak 9,85 µg/L. Kadar normal Fe dalam darah tikus adalah 11,12±1,75 g/dL (Fitria.L, 2014). Kadar Fe pada seluruh sampel penelitian ini tidak ada yang memenuhi standar batas normal kadar Fe dalam darah tikus karena tujuan penelitian ini untuk melihat pengaruh dari paparan logam berat besi Fe, sehingga kemungkinan tikus mengalami toksisitas Fe tingkat kronis.

Kadar zat besi (Fe) pada tikus percobaan dipengaruhi oleh berbagai faktor yang mirip dengan faktor yang mempengaruhi kadar Fe pada manusia. Beberapa faktor yang mempengaruhi kadar Fe seperti

asupan makanan atau jenis makanan yang dimakan tikus dan kandungan zat besi dalam makanan tersebut, genetik dan strain tikus yang memiliki kemampuan penyerapan dan metabolisme zat besi yang berbeda, kondisi kesehatan tikus, faktor lingkungan seperti stress, kebersihan kandang, serta kondisi fisiologis seperti usia dan jenis kelamin pada tikus (Yang et al., 2023).

Tingginya kadar Fe dalam darah tikus didukung dengan gambaran kadar hemoglobin pada darah tikus. Kelebihan besi yang toksik dapat menyebabkan kerusakan pada struktur dan fungsi sel darah merah melalui berbagai mekanisme yang mengarah pada penurunan kadar hemoglobin dan penurunan daya tahan sel darah merah. Perubahan-perubahan ini ditemukan dalam pemeriksaan kadar hemoglobin yang mengalami penurunan nilai kadar hemoglobin yang berbeda dari nilai pada kontrol pada sampel darah tikus yang menunjukkan kemungkinan tikus mengalami anemia. Kelebihan besi dalam tubuh dapat menghasilkan radikal bebas melalui reaksi fenton, yang mengubah hydrogen peroksida (H_2O_2) menjadi radikal hidroksil (-OH) yang sangat reaktif. Radikal bebas ini dapat merusak membrane sel darah merah, protein, dan DNA yang menyebabkan perubahan morfologi dan fungsi sel. Kadar normal Hb dalam darah tikus adalah $10,09 \pm 0,34$ g/dL (Fitria.L, 2014). Pada penelitian ini dapat dilihat jika darah terpapar oleh logam berat yang bersumber dari lingkungan akan menyebabkan menurunnya kadar Hb dalam darah yang akan diikuti oleh kejadian penyakit anemia. Sumber paparan dari Fe dilingkungan bersumber dari air minum yang mengandung kadar Fe yang tinggi.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, kesimpulan sebagai berikut:

1. kadar logam berat (Fe) dalam darah tikus adalah Kadar tertinggi didapati pada sampel 1,08mg/BB T3(H14) dengan kadar Fe sebanyak 44,14 μ g/L dan kadar Fe terendah didapati pada sampel dengan kadar Fe sebanyak 14,78 μ g/L dan control dari tikus, kadar Fe nya 9,85 μ g/L.
2. Kadar Hb dalam darah tikus adalah kadar hemoglobin perlakuan minggu pertama didapatkan hasil dengan dosis 0,54mg/BB adalah (7,4 g/dl & 6,8g/dl), sedangkan pada perlakuan minggu pertama dengan dosis 1,08mg/BB di dapatkan hasil hemoglobin (7,2g/dl & 7,6g/dl). Kadar Hb normal tikus control dalam darah tikus 6,1 g/dL.
3. Kadar logam berat dengan kadar Hb dalam darah tikus memiliki pengaruh terhadap kadar hemoglobin pada darah tikus putih Dimana jika kadar logam berat tinggi dalam darah akan diikuti dengan menurunnya kadar Hb dalam darah tikus.

DAFTAR PUSTAKA

- Fitria, L., & Sarto, M. (2014). Profil Hematologi Tikus (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) Galur Wistar Jantan dan Betina Umur 4, 6, dan 8 Minggu, *Biogenesis Jurnal Ilmiah Biologi*, 2(2): 94-100. <https://doi.org/10.24252/bio.v2i2.473>.
- Halliwell, B., & J.M.C. Gutteridge. (2001). *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press, New York.
- Harahap, F., & Harahap, F. S. (2018). Analisa Kadar Besi (Fe) Dalam Air Zam-Zam Secara Spektrofotometri Serapan Atom (Ssa). *Eksakta: Jurnal Penelitian Dan Pembelajaran MIPA*, 2(1): 62-67. <https://jurnal.um-tapsel.ac.id/index.php/eksakta/article/view/399>.
- Hermiaty,N,. Syamsu, R. F., & Permatasari, D. (2021). Angka Kejadian Anemia Pada Remaja di Indonesia. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 6(3): 507-511. <http://dx.doi.org/10.25077/jka.v6i1.671>.
- Jacobus MC, Mantik MFJ, Umboh A. (2016). Perbedaan kadar hemoglobin pada remaja gizi baik yang tinggal di pegunungan dengan yang tnggal di tepi pantai. *Jurnal e-Clinic (eCI)*, 4(1):1-6. <https://doi.org/10.35790/ecl.v4i1.11696>.
- Kemntrian Kesehatan Republik Indonesia. (2014). Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 41 tahun 2014 Tentang Pedoman Gizi Seimbang. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta: Kementerian Kesehatan Indonesia.
- Kennelly PJ, Rodwell. Mioglobulin dan Hemoglobin. (2009) dalam: Muuar K, Granner DK, Roodwell VM. *Biokimia Harper*.

- Norsiah, W. (2015). Perbedaan Kadar Hemoglobin Metode Sianmethemoglobin Dengan dan Tanpa Sentrifugasi Pada Sampel Leukositosis. *Medical Laboratory Technology Journal*. 1(2): 72-83. <https://doi.org/10.31964/mltj.v1i2.19>.
- Parulian, A. 2009. Monitoring dan Analisis Kadar Alumunium (Al) dan Besi (Fe) Pada Pengolahan Air Minum PDAM Tirtanadi Sunggal. Medan: Pascasarjana Universitas Sumatera Utara (USU).
- Putri, N. T. (2021). Pengaruh Serbuk Cacing Tanah (*Pheretin Javanica* K.) Keping Terhadap Gambaran Morfologi, Histopatologi Jantung dan Viskositas Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus* B) Strain Wistar. Universitas Jember, September 2019, 2019-2022.
- Rejeki, P. S., Putri, E. A. C., & Presety, R. E. (2018). Ovariektomi Pada Tikus Dan Mencit. In Airlangga University Press.
- Siaka, I, M. (2008). Korelasi antara kedalaman sedimen di pelabuhan benoa dan konsentrasi logam berat Pb dan Cu. *Jurnal kimia*, 2: 61-70.
- Sinurat, I., F. (2018). Uji Efek Penurunan Kadar Glukosa Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Dengan Pemberian Ekstra Etanol Kayu Manis (*Cinnamomum verum* J. S. Presl) Yang Diinduksi Glikosa Sebagai Antihiperlipemik. In *Journal of Chemical Informations and Modeling*. 53(9).
- Soebroto, I., 2009. Cara mudah mengatasi problem Anemia. Yogyakarta: Bangkit.
- Supriyanti, E., & Endrawati, H. (2015). Kandungan Logam Berat Besi Pada Air, Sedimen, Dan Kerang Hijau (*Perna viridis*) Di Perairan Tanjung Emas Semarang. *Jurnal Kelautan Tropis*, 18(4), 38-45. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0404.1962.tb01105.x>.
- Utami, S., & Handayani, S. K. (2017). Ketersediaan air Bersih untuk kesehatan: kasus dalam pencegahan diare pada anak. Tangerang: Universitas terbuka.
- Vallelian, F., Buehler, P. W., & Schaer, D. J. (2022). Hemolysis, free hemoglobin toxicity, and scavenger protein therapeutics. *Blood*, 140(17), 1837-1844. <https://doi.org/10.1182/blood.2022015596>.
- Yang, J., Li, Q., Feng, Y., & Zeng, Y. (2023). Iron Deficiency and Iron Deficiency Anemia: Potensial Risk Factors in Bone Loss. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(8). <https://doi.org/10.3390/ijms24086891>.
- Youssef, L. A., & Spitalnik, S. L. (2019). Ferroptosis in Hemolytic Disorders BT – Ferroptosis in Health and Disease (D. Tang (ed); pp. 257-272). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-26780-3_15.
- Paravicini TM, Touyz RM (2008). NADPH oxidase, reactive oxygen species, and hypertension. *Diabetes Care*, 31(2): S170-S180.