



**HUBUNGAN STATUS VITAMIN A DENGAN
FERRITIN SERUM DAN HEMOGLOBIN IBU HAMIL**

OLEH:

DJOKO HANDOJO

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS (PPDS-1)
BAGIAN PATOLOGI KLINIK FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO SEMARANG**

2002

**HUBUNGAN STATUS VITAMIN A DENGAN
FERRITIN SERUM DAN HEMOGLOBIN IBU HAMIL**

**KARYA ILMIAH AKHIR
UNTUK MEMENUHI PERSYARATAN
PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS – I
PATOLOGI KLINIK**

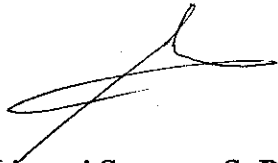
**OLEH:
DOKO HANDOJO**

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS (PPDS-1)
BAGIAN PATOLOGI KLINIK FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO SEMARANG**

2002

**Karya ilmiah ini telah disetujui untuk dipertahankan di hadapan tim penguji
PPDS-I Patologi Klinik FK UNDIP Semarang**

Pembimbing II



dr Lisyani Suromo, SpPK (K)

Pembimbing I

dr Banundari Rachmawati, SpPK

Ketua Program Studi

Patologi Klinik FK UNDIP



dr Lisyani Suromo, SpPK(K)

Kepala Bagian

Patologi Klinik FK UNDIP



dr Purwanto AP, SpPK

The correlation of Vitamin A Status with Iron and Haemoglobin Status on Pregnant Women.

Djoko Handojo, Banundari Rachmawati, Lisyani Suromo.

ABSTRACT

Back ground : Iron and vitamin A deficiency are common problems in developing countries, the prevalence on the population pregnant women are high. Iron deficiency anemia has been found on pregnant women with vitamin A deficiency. It was reported that the level of serum retinol was decreased.

Objective : The aim of this study was to investigate the relationship of vitamin A status with iron and hemoglobin status on pregnant women.

Method : This was a cross-sectional and analytical by descriptive study. The study was conducted on Karangawen I Public Health Center, Demak Subdistrict on the period of November 2000 until January 2002. The subjects of this research were 67 pregnant women aged 13-24 weeks pregnancy. There were multistage status of all the subjects. The vitamin A level was measured by HPLC (High Performance Liquid Chromatography), ferritin level by IRMA's (Immuno Radio Metric Assay) method and Hb by free cyanid SLS' (Sodium Lauryl Sulfate) method. The reference values for vitamin A deficiency, Iron deficiency and Anemia are: vitamin A level < 20 µg/dl, ferritin level < 30 µg/dl and Haemoglobin ≤ 10,5 g/dl respectively.

Results : The average levels of serum Vitamin A was 32,8 µg/dl (SD=9,46), ferritin was 34,7 µg/L (SD=28,80) and the mean level of Hb was 10,4 g/dl (SD=0,77). Eight out of 67 subjects were categorized as anemia (11,9%), 36 subjects were iron deficiency (53,7%) and 26 subjects were anemia (38,8%). Among 8 subjects with vitamin A deficiency, 7 subjects were iron deficiency and 7 subjects anemia. Statistical analysis showed that there was a significant correlation between vitamin A status with ferritin (p=0,04) and anemia status (p=0,003). These results could be explained by the role of vitamin A on iron metabolism. Where Vitamin A deficiency would decrease ferritin serum and also haemoglobin synthesis might be affected.

Conclusion : There was a significant correlation between vitamin A status with iron and haemoglobin status on pregnant women.

Key Word : Vitamin A, Ferritin, Haemoglobin, pregnant women

Hubungan Status Vitamin A dengan Ferritin serum dan Hemoglobin pada Ibu Hamil

Djoko Handojo, Banundari Rachmawati, Lisyani Suromo

ABSTRAK

Latar Belakang : Defisiensi besi dan vitamin A merupakan gangguan gizi yang sering dijumpai di negara berkembang dengan prevalensi yang cukup tinggi pada ibu hamil. Pada penderita dengan defisiensi vitamin A kronis terjadi anemia dengan karakteristik yang sama dengan anemia defisiensi besi. Pada penelitian sebelumnya dilaporkan terjadi penurunan kadar retinol darah.

Tujuan : Penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah ada hubungan antara status vitamin A dengan status besi dan Hb pada ibu hamil.

Metode Penelitian : Penelitian ini merupakan penelitian diskripsi analitik dengan rancangan belah lintang yang dilakukan di Puskesmas Karangawen I Demak pada periode November 2000 sampai dengan Januari 2002. Subyek penelitian adalah ibu hamil dengan umur kehamilan 13-24 minggu yang menderita anemia dan tidak menderita gizi buruk. Pada subyek penelitian dilakukan pengukuran kadar vitamin A serum dengan metode HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*), kadar ferritin dengan metode IRMA (*Immuno Radio Metric Assay*) dan kadar Hb dengan metode SLS (*Sodium Lauryl Sulfat*) bebas sianida. Dikategorikan defisiensi vitamin A apabila kadar vitamin A < 20 μ g/dl, defisiensi besi apabila kadar ferritin < 30 μ g/L dan anemia bila kadar Hb \leq 10,5 g/dl.

Hasil : Rerata kadar vitamin A serum adalah 32,8 μ g/dl (SD=9,46), ferritin adalah 34,7 μ g/L (SD=28,80) dan kadar Hb adalah 10,4 g/dl (SD=0,77). Dari 67 subyek penelitian dijumpai 8 orang dengan defisiensi vitamin A (11,9%), 36 orang defisiensi Fe (53,7 %) dan 26 orang menderita anemia (38,8%). Dari 8 subyek dengan defisiensi vitamin A dijumpai 7 orang menderita defisiensi besi dan 7 orang menderita anemia. Hasil uji korelasi menunjukkan adanya korelasi yang bermakna antara status vitamin A dengan status besi ($p=0,04$ dan status anemia ($p=0,003$). Hal ini disebabkan oleh karena vitamin A berperan dalam mobilisasi zat besi dari hepar yang menyebabkan rendahnya kadar besi darah. Kadar besi yang rendah dapat menyebabkan gangguan sintesa hemoglobin yang menyebabkan anemia.

Kesimpulan : Didapatkan korelasi yang bermakna antara status vitamin A dengan status besi dan hemoglobin pada ibu hamil

Kata Kunci : Vitamin A, Ferritin, Hemoglobin, ibu hamil

RIWAYAT HIDUP

Nama : Djoko Handoyo

Alamat : Jl. Diponegoro 81 Jepara

Tempat ,tanggal lahir : Jepara ,17 Oktober 1961

Agama : Kristen

Nama orang tua : Handoko Limawan (Alm)
Umi Lambang Sari

Riwayat pendidikan : 1. Lulus SD Kanisius Jepara tahun 1975
2. Lulus SMPN I Jepara tahun 1979
3. Lulus SMAN I Jepara tahun 1982
4. Lulus FK UNISSULA Semarang 1993

KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah, Tuhan semesta alam yang telah melimpahkan berkah dan rahmatNya sehingga dapat menyelesaikan tulisan ini sebagai karya akhir dalam rangka menyelesaikan Program Pendidikan Dokter Spesialis-I Patologi Klinik di Fakultas Kedokteran UNDIP, RSUP Dokter Kariadi Semarang.

Sehubungan dengan selesainya karya akhir, perkenankanlah dengan tulus hati kami ucapkan terima kasih dan penghargaan setinggi-tingginya kepada dr Banundari Rachmawati, SpPK selaku pembimbing karya akhir ini yang telah banyak memberikan perhatian, dorongan, dukungan, bimbingan dan waktunya. Terima kasih yang dalam kepada dr Lisyani Suromo, SpPk (K) selaku pembimbing dan Ketua Program Pendidikan Dokter Spesialis-I Patologi Klinik FK UNDIP yang telah berjuang tanpa lelah dalam memberi semangat dan dorongan kepada saya dan dengan kesabaran seorang ibu memberikan bimbingan kepada saya hingga terselesainya pendidikan ini.

Terima kasih dan penghargaan kami haturkan kepada dr Purwanto AP, SpPK selaku Kepala Bagian Patologi Klinik FK UNDIP, guru kami yang telah memberi kesempatan dan motivasi serta inovasi-inovasinya yang memperkaya bekal keilmuan kami.

Rasa terima kasih dan penghargaan yang dalam juga kami haturkan kepada dr Latijani Djamil, SpPK (K) selaku Kepala Instalasi dan guru kami yang telah memberi kesempatan menimba ilmu dan menerapkan ilmu, dr AP Pradana, SpPK (K) guru kami yang banyak memberi bekal dan motivasi dalam menimba ilmu, dr Affandi Ichsan, SpPK (K) guru kami yang telah memberi perhatian, gagasan dan

dukungan demi terselesainya karya akhir dan pendidikan ini, dr Sabardiman, SpPK (K) guru kami yang dengan tulus membimbing dan memberi bekal kepada kami, dr M I Tjahjati DM, SpPK selaku Sekretaris Bagian Patologi Klinik atas dorongan, semangat dan telah memberikan pengarahan sampai akhir program pendidikan, dr Imam Budiwiyono, SpPK guru kami yang memberi kesempatan sebesar-besarnya kepada kami untuk belajar dan tiada henti-hentinya selalu memberi dorongan semangat untuk selalu optimis dan berpikiran positif, serta semua staff Patologi klinik lainnya yang turut memberi semangat demi terselesainya karya akhir ini.

Juga terima kasih dan penghargaan kepada dr Hertanto Wahyu Subagio MS yang telah memberikan kesempatan kami untuk bergabung dalam penelitian dan tanpa pamrih telah memberikan perhatian dan bantuan terutama dalam penelitian dan metodologi penelitian serta dorongan dan cambukan sehingga karya akhir ini dapat terselesaikan.

Rasa terima kasih dan penghargaan yang dalam pula kepada dr Anggoro DB Sachro DTM & H, SpA (K), Dekan FK UNDIP, dr H.Gatot Suharto M Kes MMR, Direktur RSUP dr Kariadi atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan sehingga kami dapat menyelesaikan karya akhir dan pendidikan kami.

Terima kasih dan penghargaan yang kami hormati segenap Tim Penguji PPDS-I Patologi Klinik Fakultas Kedokteran UNDIP yang telah meluangkan waktu dan memberi kesempatan untuk mempertahankan karya akhir ini

Terima kasih kami haturkan kepada ibu-ibu di wilayah Kecamatan Karangawen yang berkenan menjadi responden dalam penelitian ini serta memberikan kesempatan kami untuk melakukan penelitian ini.

Terima kasih juga kami haturkan kepada Pimpinan beserta seluruh staf Laboratorium GAKI FK UNDIP, terutama mbak Ana, mbak Ina, mbak Frida dan mas Joko. dr Slamet Widodo, dr Aries, serta segenap karyawan Puskesmas Karangawen Demak. Terima kasih juga kami haturkan kepada seluruh staf Instalasi Patologi Klinik RSUP dr Kariadi yang telah banyak berjasa selama pendidikan dan karya akhir ini. Dan tak lupa semua teman seperjuangan residen Patologi Klinik yang banyak memberikan motivasi, dukungan dan bantuan tanpa pamrih.

Kami haturkan dan hormat setinggi-tingginya kepada Ibu, kakak, adik saya yang banyak membantu baik moril dan doa selama pendidikan. dr Iskandar, Gunarto, Dra Alfi, Ikang yang banyak membantu dalam menyelesaikan karya akhir dan pendidikan ini

Akhirnya kami sadari bahwa karya akhir ini masih banyak kekurangannya, karena itu saran dan kritik akan kami terima dengan hati terbuka demi perbaikan di masa mendatang.

Semoga Tuhan memberkati, AMIN

Semarang, Juli 2002

DAFTAR ISI

JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
ABSTRAK	iii
RIWAYAT HIDUP	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
I. PENDAHULUAN	1
I.1. Latar Belakang	1
I.2. Perumusan Masalah	3
I.3. Tujuan	3
I.3.1. Tujuan Umum	3
I.3.2. Tujuan Khusus	3
I.4. Manfaat Penelitian	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1. Anemia	5
2.1.1. Anemia secara umum	5
2.1.2. Anemia pada kehamilan	7
2.2. Metabolisme besi	8

2.3.	Kondisi besi pada kehamilan	11
2.4.	Vitamin A	15
2.4.1.	Metabolisme vitamin A	18
2.5.	Interaksi vitamin A dengan besi	20
2.6.	Pemeriksaan Laboratorium	22
2.6.1.	Pemeriksaan Hemoglobin	22
2.6.2.	Pemeriksaan kadar ferritin	24
2.6.3.	Analisis vitamin A, Retinol dan retinil ester dalam serum..	24
2.7.	Kerangka Teori	25
2.8.	Kerangka Konsep	26
2.9.	Hipotesis	26
2.10.	Variabel dan definisi operasional penelitian	26
III.	METODOLOGI PENELITIAN	28
3.1.	Ruang lingkup penelitian	28
3.2.	Jenis penelitian	28
3.3.	Populasi dan sampel	28
3.4.	Tempat dan waktu penilaian	29
3.5.	Keterbatasan penelitian	30
3.6.	Strategi penelitian	30
3.7.	Metode dan cara kerja pemeriksaan.....	31
3.7.1.	Pemeriksaan kadar vitamin A dengan HPLC	31
3.7.2	Pemeriksaan ferrin serum dengan metoda IRMA	34

3.7.3. Pemeriksaan kadar Hb .metoda SLS bebas sianida	35
3.8. Analisis data	37
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	38
4.1. Hasil pemeriksaan kadar vitamin A, ferritin dan kadar Hb.....	38
4.2. Distribusi kejadian defisiensi vitamin A, defisiensi Fe dan anemia..	39
4.3. Distribusi status vitamin A dengan status ferritin	40
4.4. Distribusi status vitamin A dengan status anemia	41
V. KESIMPULAN DAN SARAN	44
5.1. Kesimpulan	44
5.2. Saran	45
VI. RINGKASAN	46
DAFTAR PUSTAKA	48

DAFTAR GAMBAR

1. Absorpsi penyerapan besi heme dan non heme dari makanan	8
2. Kinetika besi	10
3. Perkiraan kebutuhan besi selama kehamilan	12
4. Kadar hemoglobin pada kehamilan	13
5. Berbagai-bentuk dari vitamin A	15
6. Absorpsi, Transportasi, Metabolisme vitamin A	19

DAFTAR TABEL

1. Hasil pemeriksaan kadar vitamin A, Ferritin dan kadar Hb	38
2. Distribusi kejadian defisiensi vitamin A, defisiensi Fe dan anemia	39
3. Distribusi status vitamin A dengan ferritin	40
4. Distribusi status vitamin A dengan status anemia	41

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 : Perjanjian

Lampiran 2 : Ethical Clearance

Lampiran 3 : Informed Consent

Lampiran 4 : Lembaran Kuesioner

Lampiran 5 : Data

Lampiran 6 : Hasil Analisis

Lampiran 7 : Dokumentasi

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. LATAR BELAKANG

Kadar hemoglobin serum digunakan untuk menetapkan kondisi anemia dan anemia merupakan kelainan yang sering dijumpai di dunia. Menurut perkiraan WHO 30% penduduk dunia atau 500 juta orang menderita anemia.¹ Pengumpulan data prevalensi anemia pada *ibu hamil* yang berskala nasional dilakukan pada Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) 1992, mengungkapkan prevalensi anemia pada ibu hamil sebesar 63,5 %. Data SKRT 1995 mengungkapkan adanya penurunan prevalensi anemia menjadi 50,9%.² Anemia pada kehamilan merupakan problem utama kesehatan masyarakat di negara berkembang, jenis anemia yang terbanyak adalah defisiensi besi. Anemia pada wanita hamil ditegakkan apabila kadar Hb < 10,5 gr/dl.³

Penyebab defisiensi besi pada kehamilan adalah pemasukan makanan yang mengandung besi tidak cukup, malabsorpsi zat besi, kebutuhan besi yang meningkat^{4,5}

Selain defisiensi besi, defisiensi vitamin A adalah gangguan gizi yang sering dijumpai dalam kehidupan masyarakat di negara-negara sedang berkembang dengan prevalensi yang cukup tinggi pada kehamilan yang timbul sebagai akibat dari diet

yang tidak mencukupi dan penambahan kebutuhan. Hal ini dapat diketahui dari penelitian Suharno dkk (1992) membuktikan hubungan antara vitamin A dalam serum dengan Hb.⁶ Selama kehamilan konsentrasi retinol serum terbukti menurun.³ Defisiensi vitamin A kronis mengakibatkan anemia serupa seperti yang dijumpai pada defisiensi besi, ditandai dengan *Mean Corpuscular Volume* (MCV) dan *Mean Corpuscular Haemoglobin Concentration* (MCHC) rendah, terdapat anisositosis dan poikilositosis, kadar besi serum rendah tetapi cadangan besi (*ferritin*) di dalam hati dan sumsum tulang meningkat. Defisiensi vitamin A menghambat penggunaan kembali besi untuk eritropoiesis, mengganggu pembentukan transferin dan mengganggu mobilisasi besi.⁷

Pada wanita hamil penanganan anemia defisiensi besi lebih ditekankan pada pemberian besi (Fe) tanpa memperhatikan pemberian vitamin A, sedangkan dengan penambahan vitamin A menghasilkan respon yang baik.⁷ Hal yang nyata dilakukan di kecamatan Karangawen kabupaten Demak, pemberian pil besi tanpa disertai penambahan vitamin A. Penelitian Soeharyo (1999) melaporkan bahwa prevalensi anemia pada ibu hamil di Kabupaten Demak 81,3% (kadar Hb <10,5 g/dl).⁸ Ketidakberhasilan penanganan anemia di daerah ini perlu diteliti bersama dengan status vitamin A karena hal ini belum pernah dilakukan.

Pada penelitian Alnwick D dkk (1998) dengan mengkonsumsi diet rendah vitamin A menyebabkan anemia, meskipun pemasukan zat besi cukup. Pada studi belah lintang, anak-anak di Thailand ditemukan bahwa serum retinol secara positif berhubungan dengan serum besi dan ferritin.⁹

Penetapan hemoglobin sebagai indeks status besi memiliki sejumlah kelemahan diantaranya : ketergantungan pada usia, jenis kelamin, ras, sensitivitas dan spesifitasnya rendah serta faktor- faktor lain seperti variasi diurnal dan merokok, oleh karena itu sebagai indeks status besi dipakai simpanan cadangan besi dalam bentuk *ferritin*.¹⁰

1.2. PERUMUSAN MASALAH

Mengacu dari latar belakang diatas maka timbul permasalahan, apakah status vitamin A berhubungan dengan ferritin dalam serum dan status hemoglobin pada ibu hamil.

1.3. TUJUAN PENELITIAN

1.3.1.TUJUAN UMUM

Menjelaskan hubungan antara status vitamin A dengan status besi dan status hemoglobin ibu hamil.

1.3.2.TUJUAN KHUSUS

1. Mendeskripsikan kadar vitamin A serum ibu hamil
2. Mendeskripsikan kadar ferritin serum ibu hamil
3. Mendeskripsikan kadar hemoglobin ibu hamil
4. Menjelaskan hubungan antara status vitamin A dengan ferritin
5. Menjelaskan hubungan antara status vitamin A dengan status hemoglobin.

1.4 MANFAAT PENELITIAN

Memberikan informasi mengenai hubungan antara status vitamin A dengan ferritin dan status hemoglobin pada ibu hamil.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. ANEMIA

2.1.1 Anemia secara umum

Anemia terjadi sebagai akibat dari produksi sel darah merah atau hemoglobin yang kurang optimal, atau meningkatnya kerusakan atau memendeknya waktu hidup sel darah merah.¹¹

Definisi anemia yang biasa digunakan ialah bila kadar hemoglobin kurang dari batas bawah normal. Nilai rujukan hemoglobin ialah 11,5 – 15,5g/dl pada wanita.¹²

Diagnosis pada anemia defisiensi besi berat atau sedang, ditegakkan bila hemoglobin di bawah 10 g/dl, *Mean Corpuscular Volume* (MCV) yang rendah, *Mean Corpuscular Haemoglobin* (MCH) rendah, kapasitas besi / *iron binding serum* dan ferritin serum serta protoporphirin sel darah merah yang tinggi. WHO merekomendasikan anemia berat bila hemoglobin < 7,0 g/dl, anemia sangat berat jika konsentrasi hemoglobin < 5,0 g/dl.

Defisiensi besi merupakan penyebab tersering anemia, namun infeksi, faktor genetik dan beberapa kondisi lain juga dapat menimbulkan anemia. Penyebab defisiensi besi adalah pemasukan makanan yang mengandung besi tidak cukup, malabsorpsi zat besi, kekurangan darah kronis, hemolisis intravaskuler dengan

hemoglobinuria, pemberian besi maternal yang kurang pada janin / bayi selama kehamilan / laktasi atau kombinasinya.^{4,13}

Defisiensi besi ditegakkan dengan tidak adanya simpanan besi pada pengecatan besi di sumsum tulang.¹⁴ Ada tiga stadium perkembangan anemia defisiensi besi: *Stadium pertama* ditandai oleh penurunan secara progresif jumlah besi cadangan (besi hepatosit, makrofag di hati, limpa, sumsum tulang) tercermin dari adanya penurunan konsentrasi ferritin serum, sedangkan transferin dan hemoglobin normal. Pengukuran persediaan besi dilakukan dengan teknik biopsi atau pengukuran serum ferritin. *Stadium dua*, ditandai oleh kosongnya cadangan besi yang mengakibatkan suplai besi plasma ke sel eritropoetik berkurang secara progresif dan terjadi penurunan saturasi transferin, konsentrasi protoporfirin eritrosit akan meningkat, kadar hemoglobin dapat sedikit berkurang namun masih termasuk normal. *Stadium tiga*, terjadi kekosongan cadangan besi dan turunnya kadar besi dalam sirkulasi yang ditandai oleh anemia mikrositik hipokromik, penurunan hematokrit dan indeks sel darah merah. Apusan darah akan tampak gambaran mikrositik hipokromik, sedangkan persediaan besi sumsum tulang tidak cukup untuk regenerasi hemoglobin yang normal sehingga hemoglobin darah menurun sampai mencapai tingkat abnormal.^{15,16}

Timbulnya tanda dan gejala klinis anemia disebabkan oleh karena berkurangnya pengiriman oksigen ke jaringan, hal ini berhubungan dengan penurunan kadar hemoglobin. Berat ringannya tergantung pada laju perubahan tersebut. Faktor-faktor yang mempengaruhi adalah perubahan kompensasi curah

jantung, frekuensi nafas dan afinitas oksigen dari hemoglobin. Keluhan pada pasien anemia biasanya berupa mudah lelah, sesak saat beraktivitas, sering pingsan, vertigo, palpitasi dan nyeri kepala. Pemeriksaan fisik yang lazim dijumpai adalah sklera anemis, denyut nadi cepat, tekanan darah rendah, demam ringan, edema, sampai bising sistolik.^{17,18}

2.1.2. Anemia pada kehamilan.

World Health Organization (WHO) merekomendasikan bahwa konsentrasi hemoglobin jangan sampai kurang dari 11,0 g/dl pada saat kehamilan.¹⁹ Sejumlah *center* memilih nilai hemoglobin 11,0 g/dl atau 10,5 g/dl untuk batas anemia pada kehamilan

Anemia selama kehamilan dapat membahayakan janin. Jika konsentrasi hemoglobin rendah selama stadium kehamilan tertentu (<10g/dl) dapat mengakibatkan berat lahir rendah, kelahiran preterm dan mortalitas perinatalnya tinggi.²⁰ Pengaruh anemia terhadap kehamilan, persalinan dan nifas yaitu: keguguran, partus prematurus, inersia uteri dan partus lama, atonia uteri, perdarahan, syok, afibrinogenemia dan hipofibrinogenemia serta infeksi nifas.^{19,21}

Persentasi ibu hamil yang menderita anemia dengan keadaan sosial ekonomi rendah lebih besar dibandingkan ibu hamil dengan sosial ekonomi tinggi. Prevalensi anemia berat pada ibu hamil yang melakukan pemeriksaan antenatal tidak lengkap lebih besar dibandingkan ibu hamil dengan pemeriksaan antenatal lengkap.²²

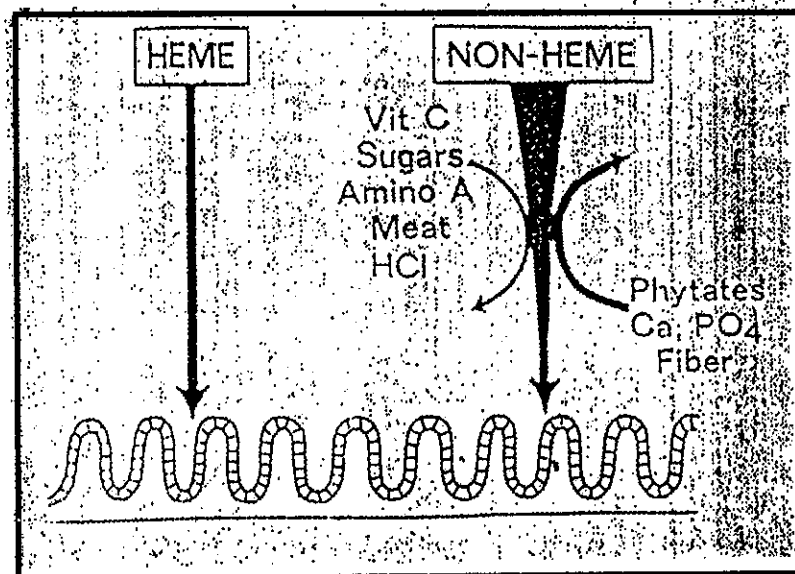
Angka kejadian anemia pada wanita masa reproduksi pada berbagai keadaan obstetikus masih cukup tinggi, di samping masih ditemukannya anemia berat pada

ibu masa reproduksi atau pasangan usia subur. Semakin banyak jumlah anak, jumlah paritas, jumlah gravida dan jumlah keguguran, angka kejadian anemia semakin tinggi.²³

2.2. Metabolisme besi

Besi adalah bahan pokok bagi produksi hemoglobin yang berfungsi sebagai transpot oksigen dari paru-paru ke jaringan tubuh, untuk mensintesis enzim besi yang diperlukan untuk pemakaian oksigen bagi produksi energi seluler.

Besi terdapat pada makanan dari produk hewan dalam bentuk besi heme sedangkan besi non heme terutama ditemukan pada produk tanaman. Mekanisme reabsorpsi dan *bioavailabilitas* dari besi heme dan non heme sangat berbeda yang dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1 : Absorpsi Penyerapan besi heme dan non heme dari makanan.

(Dallman P.R. et al. 1993)

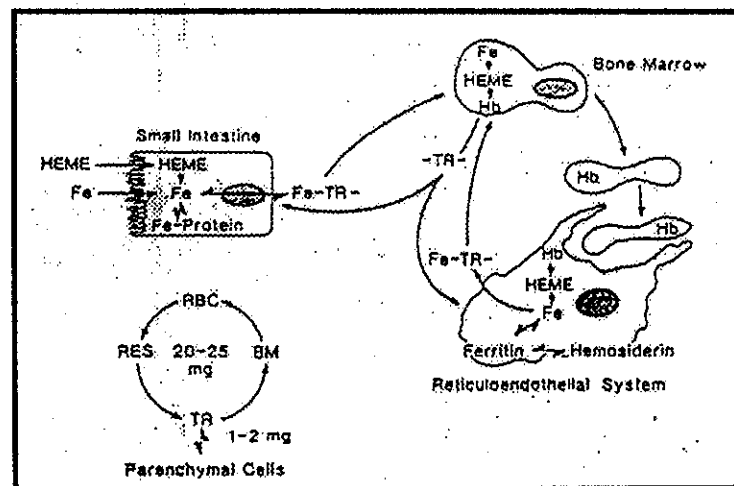
Besi non heme yang ada dalam makanan terutama dalam bentuk kompleks ferri. Selama pencernaan sebagian besi ini direduksi menjadi bentuk ferro dengan bantuan cairan lambung yang mengandung asam klorida. Besi heme diserap secara langsung dan besi non heme diserap dalam bentuk ferro.

Absorpsi besi berkurang karena pembentukan unsur-unsur yang tidak larut dengan makanan seperti fosfat, polifenol dari berbagai sayuran, tanin dari teh, oksalat. Absorpsi besi meningkat selama periode perkembangan yang ditandai dengan laju pertumbuhan cepat dan akibatnya cadangan besi berkurang misalnya pada masa remaja dan bayi.¹¹

Absorpsi besi dalam makanan terjadi pada usus halus bagian atas sebagai besi inorganik atau sebagai heme. Besi yang diabsorpsi berikatan dengan transferin (TR) di membran basolateral sel absorpsi. Transferin mengirim besi ke prekursor eritroid dalam sumsum tulang (Bone Marrow). Besi difagosit dalam sistem retikulo endotelial (RES), besi yang di lepas ke dalam plasma akan kembali berikatan dengan transferin dan digunakan untuk sintesis heme serta protein tertentu yang mengandung besi. Apabila cadangan besi tubuh cukup maka banyak besi disimpan dalam RES. Sebagian besar besi yang dilepas dari RES diikat oleh transferin untuk pengiriman ke sumsum tulang yang dapat dilihat pada gambar 2.^{24,25}

Transpor besi dari satu organ ke organ lain dilakukan oleh protein transport besi plasma yang disebut apotransferrin yang memiliki dua tempat pengikat besi permolekul. Masing-masing tempat tersebut dapat mengikat satu ferri bersama-sama

ion HCO_3^- . Kompleks apotransferin ferri disebut transferin.²⁶ Transferin mengirim besi ke dalam sel-sel melalui reseptor transferin (TfR). Reseptor transferin berikatan dengan *transferin differic* plasma dan bersatu membentuk transferin kompleks TfR, dimana transferin melepaskan besinya ke dalam sitosol. Reseptor yang berikatan transferin



Gambar 2 : Kinetika besi

(Conrad M.E.1998)

kembali ke permukaan sel, melepaskan ikatan apotransferin dan mempunyai kemampuan untuk mengikat *transferin differic* lain. Feritin berperan sebagai cadangan.²⁷

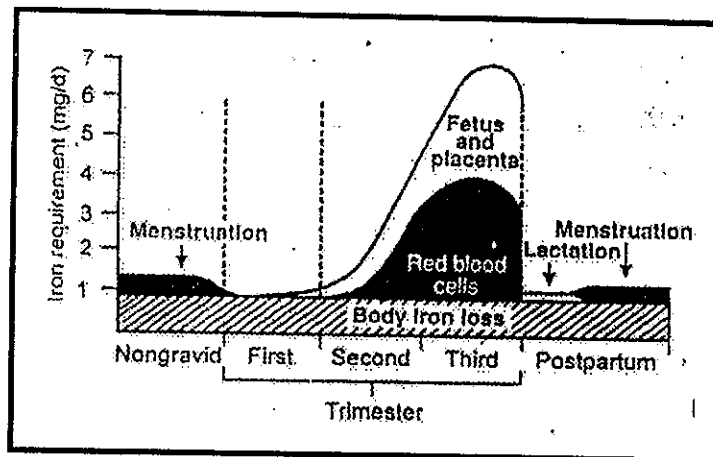
Pada mamalia dan manusia kadar besi dalam tubuh dipelihara relatif konstan sepanjang hidupnya. Keseimbangan besi yang masih positif selama beberapa tahun pertumbuhan, menentukan keseimbangan antara absorpsi dan hilangnya besi ketika memasuki usia dewasa. Perubahan keseimbangan ini akan menyebabkan defisiensi

besi atau siderosis. Sel darah merah (RBC) memiliki waktu hidup normal kurang lebih 120 hari dimana kurang lebih 20 mg pergantian besi setiap hari terlibat dalam eritropoeisis dan kerusakan RBC. Tidak seperti logam lain, ekskresi besi terbatas dan memainkan peran lebih positif dalam memelihara keseimbangan tubuh.

2.3.Kondisi besi pada kehamilan

Kehamilan merupakan kondisi yang banyak menghabiskan cadangan besi pada wanita usia subur. Pada tiap kehamilan seorang ibu kehilangan rata-rata 680 mg besi, jumlah ini ekuivalen dengan 1300 ml darah. Untuk memenuhi kebutuhan meningkatnya volume darah selama kehamilan, ibu hamil membutuhkan tambahan 450 mg besi.²⁸

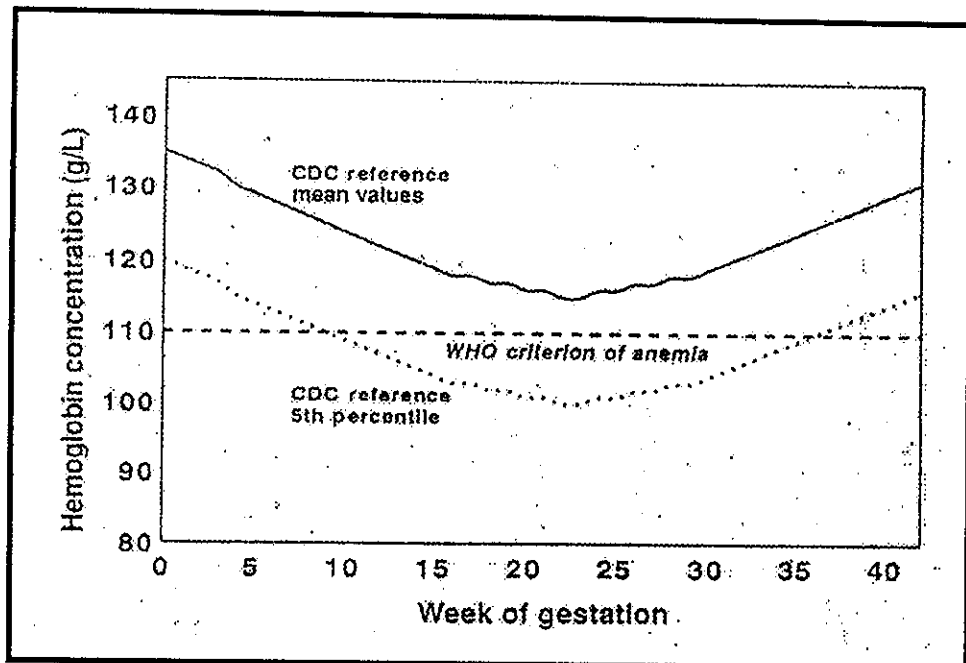
Selama kehamilan, lebih banyak dibutuhkan zat besi terutama untuk mensuplai pertumbuhan janin, plasenta dan menambah massa sel darah merah maternal. Kebutuhan besi pada kehamilan lebih besar dibandingkan dengan kondisi tidak hamil. Kebutuhan besi ibu hamil pada *trimester pertama* berkurang karena wanita tak mengalami menstruasi, namun dengan bertambahnya usia kehamilan kebutuhan besi untuk pertumbuhan janin meningkat terus sesuai dengan berat badan janin pada *trimester kedua* dan sebagian besar terkumpul selama *trimester ketiga* yang dapat dilihat pada gambar 3.²⁸



Gambar 3. Perkiraan kebutuhan besi selama kehamilan

(Bothwell T.H.2000).

Kebutuhan besi yang diserap, perkiraan absorpsi besi dan perkiraan kebutuhan besi untuk wanita hamil sangat bergantung pada apa yang disebut sebagai kadar hemoglobin.¹⁹ Kadar hemoglobin maksimum yang dicapai oleh wanita sehat dengan gizi baik disertai atau tanpa penambahan suplemen besi dapat dilihat pada gambar 4.



Gambar 4 : Kadar hemoglobin pada kehamilan.

(Beaton GH. 2000)

Pada gambar diatas, garis horizontal merupakan kriteria anemia oleh WHO, kurva atas menunjukkan estimasi kelompok kadar hemoglobin rata-rata, dan kurva bawah menunjukkan persentil kelima distribusi hemoglobin dengan perkiraan sampai dengan 9 g/dl (90g/l).

Absorpsi besi turun selama trimester pertama kehamilan, meningkat selama trimester kedua dan terus meningkat sepanjang kehamilan. Absorpsi besi tetap tinggi selama bulan-bulan pertama post partum, sehingga memungkinkan pulihnya kembali cadangan besi tubuh.²⁷ Dengan demikian maka pemberian besi pada trimester II dan seterusnya sangat bermanfaat untuk wanita hamil.

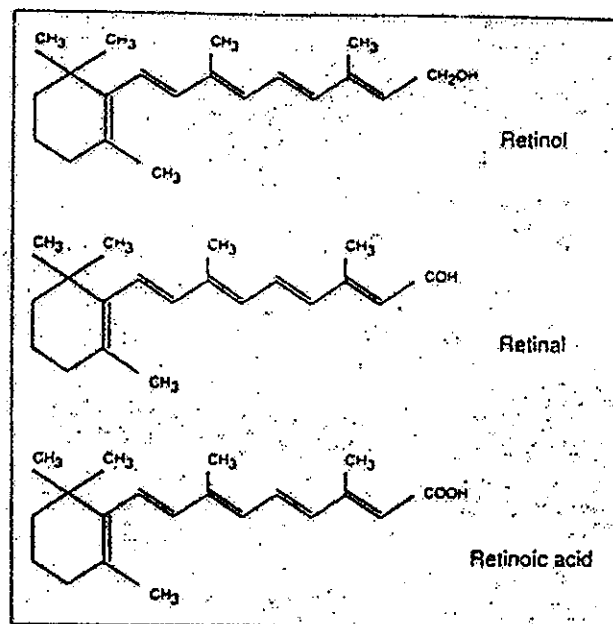
Pada kehamilan darah bertambah banyak, namun demikian bertambahnya sel-sel darah merah (18%), tetap lebih rendah dibandingkan dengan bertambahnya plasma (30%) sehingga terjadi hemodilusi. Hemodilusi dianggap sebagai penyesuaian diri secara fisiologis dalam kehamilan dan bermanfaat bagi wanita. Pertama-tama meringankan beban jantung yang harus bekerja lebih berat dalam masa kehamilan, sebagai akibat hidremia, *cardiac output* akan meningkat. Kerja jantung menjadi lebih ringan apabila viskositas darah rendah. Resistensi perifer juga akan berkurang sehingga tekanan darah tidak naik. Kedua, pada perdarahan waktu persalinan, banyaknya unsur besi yang hilang lebih sedikit dibandingkan dengan apabila darah itu tetap kental.^{21,29}

Keseimbangan besi dapat dipertahankan selama kehamilan jika tersedia cadangan besi yang mencukupi saat mulai hamil. Seorang wanita yang rutin mengkonsumsi makanan yang mengandung besi dalam jumlah besar diharapkan mempunyai cadangan besi sebelum kehamilan yang besarnya 300 mg mencukupi, untuk diet yang kurang optimal akan dibutuhkan cadangan besi dalam jumlah yang lebih tinggi.²⁸ Feritin serum mengalami kenaikan ringan pada awal kehamilan, kemungkinan karena turunnya aktifitas eritropoietik sehingga besi dialihkan ke cadangan. Namun setelah itu konsentrasi feritin serum turun sampai 50% pada pertengahan kehamilan yang dapat dilihat pada gambar 3. Perubahan ini mencerminkan adanya hemodilusi dan mobilisasi besi dari tempat cadangan guna memenuhi meningkatnya kebutuhan akibat kehamilan.

Feritin serum biasanya diukur menggunakan metoda immunoradiometrik dengan memakai sampel darah kapiler. Metoda ini memerlukan gamma counter, preparat feritin standart untuk meningkatkan persisi dari pemeriksaan.¹⁰

2.4.VITAMIN A

Vitamin A adalah istilah umum untuk semua retinoid yang menghasilkan aktivitas biologik dari trans retinol. Berbagai-bentuk vitamin A dapat dilihat pada gambar 5



Gambar 5 : Berbagai-bentuk dari vitamin A : retinol, retinal dan asam retinoid.

(Gibson R.S.1990).

Bentuk utama vitamin A pada binatang adalah retinoid, terutama sebagai ester asam lemak rantai panjang dari retinol, sedangkan karotenoid yang terdapat dalam makanan merupakan prekursor atau provitamin A yang siap untuk dirubah menjadi vitamin A (yang terdapat dalam tanaman). Murdoch (1995), paling sedikit dikenal 80 provitamin A termasuk alpha, beta, gama karotin, kriptoxantin, myxoxantin. Beta karoten merupakan senyawa yang secara biologis paling aktif dan paling tersebar luas di berbagai produk tumbuh-tumbuhan. Alpha karoten dan gama karoten aktivitas biologisnya kurang lebih separuh dari aktivitas beta karoten.¹⁰

Vitamin A terdapat dalam makanan hewani seperti telur, hati, minyak ikan, lemak mentega. Terdapat dalam nabati buah dan daun sayuran berwarna kuning, merah kekuningan dan hijau tua, kacang-kacangan, padi-padian.^{30,31}

Pada manusia, absorpsi rata-rata provitamin A dari sumber makanan yang berbeda-beda diperkirakan sekitar sepertiga dari jumlah provitamin A yang dimakan, karena retinol diduga di absorpsi secara sempurna.³⁰ Vitamin A tidak larut dalam air tetapi larut dalam pelarut organik dan minyak mineral, sensitif terhadap oksigen dan sinar ultraviolet.^{26,32} Vitamin A relatif stabil terhadap panas, bila kena panas akan menambah *bioavailabilitas* carotinoid. Bioavailabilitasnya diperkuat dengan adanya vitamin E dan antioksidan lain.³³

Vitamin A dalam serum sebagian besar berbentuk kompleks retinol dan retinol binding protein (RBP) dengan perbandingan 1 : 1, sementara sisanya berbentuk retinyl ester (8%) asam retinoat dan metabolit lainnya dalam jumlah yang sangat kecil. Kadar vitamin A serum yang rendah (< 20 ug/dl, < 0,70 umol/L) merupakan

indeks defisiensi vitamin A.¹⁰ Wanita dengan konsentrasi retinol serum < 0,7 umol/L terbukti juga menderita defisiensi besi.³

Vitamin A berperan pada fungsi penglihatan, pertumbuhan, reproduksi, stabilisasi membran, respon imun, perkembangan tulang rangka dan jaringan lunak melalui efeknya terhadap sintesa protein dan diferensiasi sel tulang, perkembangan tulang normal dan epitel pembentukan enamel dalam perkembangan gigi, memelihara struktur epitel normal yang diperlukan dalam diferensiasi sel basal pada sel epitel mukosa.³² Defisiensi vitamin A akan menyebabkan, kegagalan pertumbuhan, kurang nafsu makan, gangguan respon imun disertai dengan penurunan ketahanan terhadap infeksi dan buta senja.^{10,26} Defisiensi vitamin A menimbulkan anemia ditandai dengan MCV, MCHC rendah, terdapat anisositosis dan poikilositosis.⁴

Sebagian besar vitamin A dalam tubuh disimpan dalam bentuk retinil ester di hepar oleh karena itu ukuran cadangan vitamin A dalam hati merupakan indeks paling tepat untuk melihat kecukupan vitamin A, namun biopsi hepar tidak praktis dilakukan untuk studi populasi sehingga yang sering dilakukan adalah pengukuran konsentrasi retinol atau vitamin A plasma atau serum total.

Teknik HPLC fasa terbalik merupakan metoda yang tepat untuk separasi dan analisis retinol serum karena sifatnya yang mudah dan spesifik. Sampel/darah harus segera disentrifugasi setelah pengambilan darah, hindari hemolisis dan paparan terhadap terang. Jika serum akan disimpan untuk jangka waktu yang lama sebelum dianalisis, maka serum harus dibekukan dalam tabung tahan temperatur. Dalam

tabung hanya tersisa sedikit ruang gas. Tabung harus di simpan bersama dengan sampel rujukan dalam ruang gelap pada suhu di bawah -40°C .¹⁰

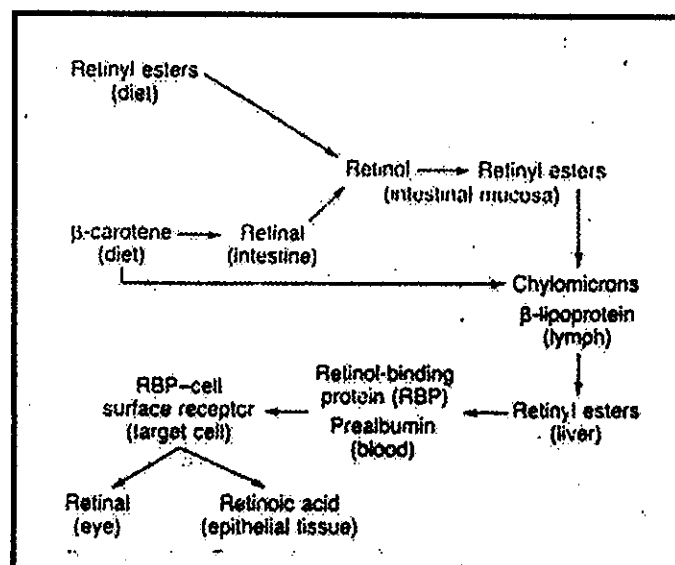
Intake vitamin A di negara- negara maju lebih tinggi dibandingkan dengan negara-negara sedang berkembang. Suplementasi vitamin A sebelum dan sesudah kehamilan harus dibatasi tidak lebih dari 8000 IU/hari, walaupun 10000 IU/hari tampak aman.⁷ Penyelidikan toksisitas pada binatang membuktikan bahwa betakarotin bukan karsinogen, mutagen, atau tetrogen. Makanan yang kaya akan betakaroten dapat dikonsumsi dalam jumlah besar tanpa bahaya kecuali menyebabkan warna kuning pada kulit. Bila intake yang berlebihan dihentikan maka warna kulit kembali normal.³⁴

2.4.1. Metabolisme Vitamin A

Vitamin A dalam makanan sebagian besar berbentuk ester retinil bersama karotenoid akan bercampur dengan lipida lain didalam lambung. Didalam sel-sel mukosa usus halus ester retinil dihidrolisis oleh enzim-enzim pancreas, esterase menjadi retinol yang lebih efisien diabsorpsi dari pada ester retinil.

Retinol dalam mukosa usus halus bereaksi dengan asam lemak dan membentuk ester, dengan bantuan cairan empedu menembus sel-sel vili dinding usus halus untuk kemudian diangkut oleh kilomikron melalui sistem limfe ke dalam aliran darah menuju hati. Dengan konsumsi lemak yang cukup, sekitar 80-90% ester retinil dan hanya 40-60% karotenoid yang diabsorpsi. Hati berperan sebagai tempat menyimpan vitamin A utama dalam tubuh. Dalam keadaan normal, cadangan vitamin A dalam hati dapat bertahan hingga enam bulan. Bila tubuh mengalami kekurangan konsumsi

vitamin A, asam retinoat diabsorpsi tanpa perubahan. Asam retinoat merupakan sebagian kecil vitamin A dalam darah yang aktif dalam deferensiasi sel dan pertumbuhan. Bila tubuh memerlukan, vitamin A akan dimobilisasi dari hati dalam bentuk retinol yang diangkut oleh *Retinol Binding Protein* (RBP) yang disintesis di dalam hati. Pengambilan retinol oleh berbagai sel tubuh tergantung pada reseptor pada permukaan membran yang spesifik untuk RBP. Retinol kemudian diangkut melalui membran sel untuk diikat pada *celuler Retinol Binding Protein* (cRBP) dan RBP kemudian dilepaskan. Di dalam sel mata retinol berfungsi sebagai retinoat. Metabolisme vitamin A juga dipengaruhi Zn sebab Zn diperlukan untuk memacu pergerakan vitamin A dari hati. Dapat dilihat pada gambar 6.⁶



Gambar 6 : Absorpsi, Transfortasi, Metabolisme Vitamin A

2.5. INTERAKSI VITAMIN A DENGAN BESI

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa defisiensi vitamin A pada manusia dan binatang percobaan dapat mengakibatkan anemia. Defisiensi vitamin A pada binatang mempengaruhi hematopoiesis dengan pergantian gradual sumsum tulang oleh jaringan sehingga *uptake* besi oleh sumsum tulang menurun.³⁵ Penelitian cross-sectional yang di *follow up* dengan penelitian lain memperlihatkan bahwa *intake* vitamin A yang tinggi dapat menimbulkan kenaikan besi.⁵ Pemberian suplemen Vitamin A dapat memperbaiki anemia. Makanan yang diperkaya dengan vitamin A (fortifikasi) di Guatemala dan suplementasi vitamin A di Indonesia memberikan manfaat pada status hemopoiesis dan Hb dimana kadar Hb naik karena mobilisasi cadangan besi. Pemberian vitamin A tidak dapat mengatasi defisiensi besi pada semua keadaan seperti infeksi cacing atau malaria endemik.⁹

Beberapa studi observasi telah mengkonfirmasi interaksi antara defisiensi vitamin A dengan status besi pada hewan percobaan. Pada penelitian lain didapatkan korelasi positif yang kuat antara status vitamin A (serum retinol dan RBP) dengan status besi (hemoglobin, hematokrit, MCV, jumlah sel darah merah dan saturasi transferin). Penambahan vitamin A pada anak-anak yang defisiensi menghasilkan peningkatan secara signifikan pada hemoglobin, hematokrit, serum Fe.

Penelitian pada orang dewasa yang mengkonsumsi makanan rendah vitamin A mendapat anemia meskipun pemasukan zat besi cukup. Serum retinol secara positif berhubungan dengan serum besi dan ferritin. Peneliti lain menunjukkan hubungan

yang nyata antara serum retinol dan konsentrasi hemoglobin. Nilai hemoglobin lebih rendah pada anak-anak yang mempunyai serum retinol di bawah 20 ug/L.⁹

Meningkatnya *intake* besi maupun vitamin A akan memperbaiki status besi lebih besar dari pada *intake* besi saja jika populasinya mengalami defisiensi besi dan beresiko terhadap defisiensi vitamin A.⁵

Dalam konteks hubungan antara besi dan vitamin A, mikronutrien lain yang banyak berkait adalah tembaga (Cu). Cu mempengaruhi aktifitas peroksidasi yang akan menghambat eritropoesis dan akhirnya menimbulkan anemia. Defisiensi seng akan mengakibatkan penurunan kadar albumin serum, prealbumin dan transferin. Kadar prealbumin secara cepat meningkat dengan pemberian suplementasi seng.^{36,37}

Menurut Thurnham (1993) vitamin A dan besi terikat pada RBP dan transferin. Jika terjadi infeksi maka jumlah kedua protein tersebut akan berkurang, disinilah zat anti infeksi dari vitamin A bekerja untuk menekan infeksi dan mengurangi penurunan jumlah protein.⁹ Vitamin A juga bermanfaat dalam imunitas humoral sebagai stimulasi imunologi yang mengatur pertumbuhan dan fungsi dari sel limfosit T (imunitas seluler) dan Limfosit B (imunitas humoral).^{35,36}

2.6. PEMERIKSAAN LABORATORIUM

2.6.1. Pemeriksaan hemoglobin

Kadar hemoglobin darah dapat ditentukan dengan bermacam-macam cara, yang banyak dipakai dalam laboratorium klinik adalah cara fotoelektrik, kolorimetrik visual dan *automated haematology analyzer*.

A. Cara fotoelektrik: sianmethemoglobin

Prinsip : Hemoglobin darah diubah menjadi sianmethemoglobin dalam larutan yang berisi kalium ferrisianida dan kaliumsianida. Absorbansi larutan diukur dengan gelombang 540 nm atau filter hijau. Larutan Drabkin yang dipakai pada cara ini mengubah hemoglobin, oksihemoglobin, methemoglobin dan karboksihemoglobin menjadi sianmethemoglobin.

Kelemahan: - Kekeruhan dalam suatu sampel darah mengganggu pembacaan dalam fotokolorimeter yang akan menghasilkan absorbansi dan kadar hemoglobin yang lebih tinggi dari yang sebenarnya.

- Hanya boleh menggunakan satu angka dibelakang tanda desimal, bila menggunakan dua angka dibelakang tanda desimal melampaui ketelitian dan ketepatan.

B. Cara Sahli.

Prinsip : Hemoglobin diubah menjadi asam hematin, kemudian warna yang terjadi dibandingkan secara visual dengan warna standard dalam alat itu.

Kelemahan : cara Sahli ini kurang teliti, tidak semua hemoglobin diubah menjadi asam hematin.³⁷

C. Metode SLS (*Sodium Lauryl Sulfate*) bebas sianida

Metoda SLS bebas sianida termasuk metode *flow cytometry*

Prinsip : Membran sel darah merah dilisis oleh stromatolyser WH-KX-21 kemudian ion ferro dalam molekul hemoglobin di oksidasi menjadi ferri oleh sodium lauryl sulfate (SLS). Methemoglobin dengan SLS membentuk kompleks disebut SLS-Hb, kompleks tersebut dibaca dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 555.³⁸

Pada penelitian ini untuk pemeriksaan hemoglobin digunakan metoda SLS bebas sianida dengan alasan :

- tidak toxic karena tidak menggunakan cyanida
- akurasi lebih baik karena dilakukan secara automatic
- beban kerja lebih ringan

2.6.2 Pemeriksaan kadar ferritin

Untuk mengetahui cadangan besi dapat dilakukan metoda pemeriksaan diantaranya pemeriksaan sumsum tulang, ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*), IRMA.(*Immuno Radiometrix Assay*)

Pemeriksaan dengan aspirasi sumsum tulang kemudian dilanjutkan dengan pengecatan, walaupun cara ini adalah yang paling baik tetapi cara ini tidak praktis dan terlalu invasif .

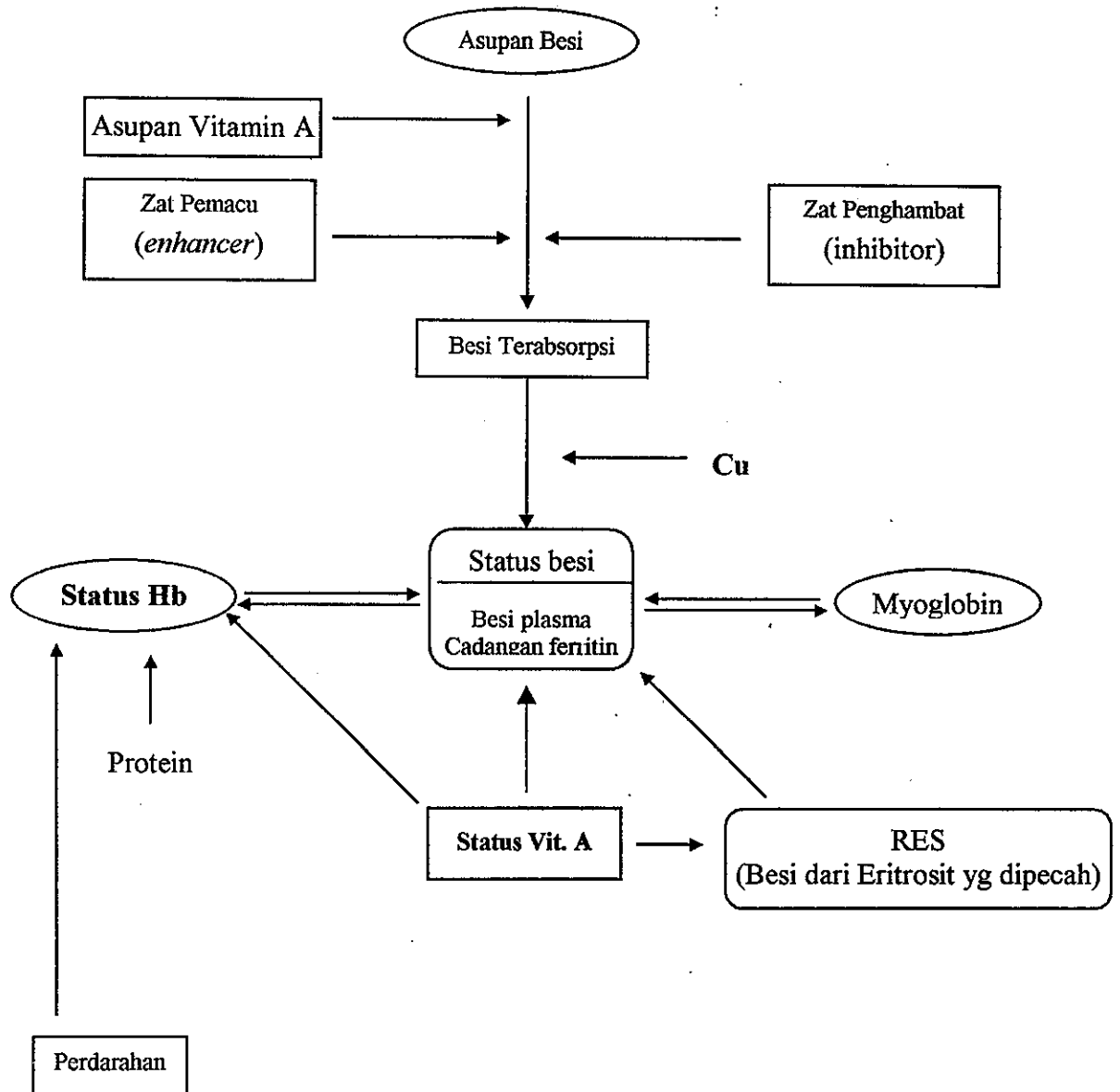
Cara ELISA : Saat ini baru dikembangkan, belum umum diterapkan di laboratorium. Pemeriksaan ini sangat sensitif, yang mampu mengeliminasi kebutuhan akan radioisotop.

Cara IRMA : Ferritin serum diukur dengan menggunakan metoda Immunoradiomatrix, memakai sampel darah kapiler memerlukan *gamma counter* dan teknisi yang sudah terlatih, memakai preparat ferritin standar untuk meningkatkan presisi dari pemeriksaan.³⁹

2.6.3. Analisis vitamin A, Retinol dan retinil ester dalam serum

Ada beberapa macam cara untuk analisis vitamin A, retinol dan retinil ester total dalam serum. Pemeriksaannya meliputi kolorimetri, spektrofotometer UV (ultra Violet), fluorometri dan HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*), yang disambungkan dengan detektor UV. Hanya pemeriksaan HPLC yang mampu membedakan retinol dari retinil ester dalam serum. Semua metode lainnya mengukur vitamin A total dan diperlukan ekstraksi dengan pelarut organik.¹⁰

2.7. KERANGKA TEORI



2.8. KERANGKA KONSEP



2.9. HIPOTESIS

1. Ada hubungan antara status vitamin A dengan ferritin.
2. Ada hubungan antara status vitamin A dengan status anemia (hemoglobin)

2.10. VARIABEL DAN DEFINISI OPERASIONAL.

Variabel	Definisi operasional	Skala
Variabel pengaruh : Status Vitamin A	Status Vitamin A adalah kadar retinol serum yang diperiksa dengan metoda HPLC dengan satuan $\mu\text{g}/\text{dl}$. Nilai rujukan 20 – 233 $\mu\text{g}/\text{dl}$. Disebut defisiensi < 20 $\mu\text{g}/\text{dl}$	Kontinyu
Variabel terpengaruh : Ferritin	Kadar ferritin adalah kadar besi dalam serum yang diperiksa dengan metoda Imonoradiomatrix (IRMA) dengan satuan $\mu\text{g}/\text{L}$. Disebut defisiensi bila < 30 $\mu\text{g}/\text{L}$	Kontinyu

Kadar Hemoglobin	Kadar hemoglobin adalah kadar besi metabolik dalam darah dinyatakan dengan satuan g/dl, diperiksa dengan auto analyzer Sysmex Kx 21 pada wanita hamil trimester II disebut anemia bila $< 10,5$ g/dl sesuai kriteria CDC (<i>Center for Disease Control</i>)	Kontinyu
------------------	--	----------

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1. RUANG LINGKUP PENELITIAN

1. Ruang Lingkup Ilmu

Ruang lingkup penelitian adalah Ilmu Patologi Klinik dan Ilmu Gizi

2. Ruang Lingkup Waktu

Waktu penelitian dari persiapan, penelitian pendahuluan, pengambilan sampel sampai analisa dan penulisan laporan dilaksanakan pada bulan November 2000 sampai bulan Januari 2002

3. Ruang Lingkup Tempat

Sampel diambil di Puskesmas Karangawen I, Kabupaten Demak kemudian diperiksa di Laboratorium Patologi Klinik RSUP Dr. Kariadi, Laboratorium GAKI Fakultas Kedokteran UNDIK.

3.2. JENIS PENELITIAN

Jenis penelitian ini adalah deskriptif analitik dengan pendekatan belah lintang

3.3. POPULASI DAN SAMPEL

3.3.1. Populasi target adalah ibu hamil.

3.3.2. Populasi sampel terdiri dari ibu hamil yang memeriksakan kehamilan di Puskesmas Karangawen I/II.

3.3.3. Sampel penelitian diambil secara purposif dari ibu hamil yang memeriksakan kehamilan di Puskesmas Karangawen I/II yang memenuhi kriteria sebagai berikut:

a. Kriteria inklusi:

1. Umur kehamilan 13 - 24 minggu.
2. Ibu dengan status gizi bukan gizi buruk.(diukur berat badan, tinggi badan, lingkar lengan atas, disaring dengan kuesioner)
3. Bersedia mengikuti penelitian (menandatangani *informed consent*).

b. Kriteria eksklusi adalah sebagai berikut :

Mempunyai penyakit yang membahayakan sebagai akibat kehamilan, misalnya perdarahan, preeklamsi, eklamsi.

3.3.4 Besar sampel

Besar sampel dihitung dengan menggunakan rumus besar sampel untuk hubungan, yaitu.⁴⁰

$$N = \left[\frac{(z\alpha + z\beta)}{0.5 \ln \left(\frac{1+r}{1-r} \right)} \right]^2 + 3$$

$$z\alpha = 1.96 (\alpha=0.05)$$

$$z\beta = 0.84 (\beta = 0.2, \text{ power} = 80\%)$$

$$r = \text{besarnya koefisien korelasi, besar nilai } r \text{ diasumsikan} = 0.4$$

Hasil perhitungan jumlah sampel minimal adalah 67 orang.

3.4. TEMPAT DAN WAKTU PENELITIAN

Lokasi penelitian dilakukan pada kecamatan Karangawen, kabupaten Demak dengan pertimbangan prevalensi anemia pada ibu hamil di kabupaten ini tinggi. Prevalensi anemia ibu hamil rata-rata di atas 50%.

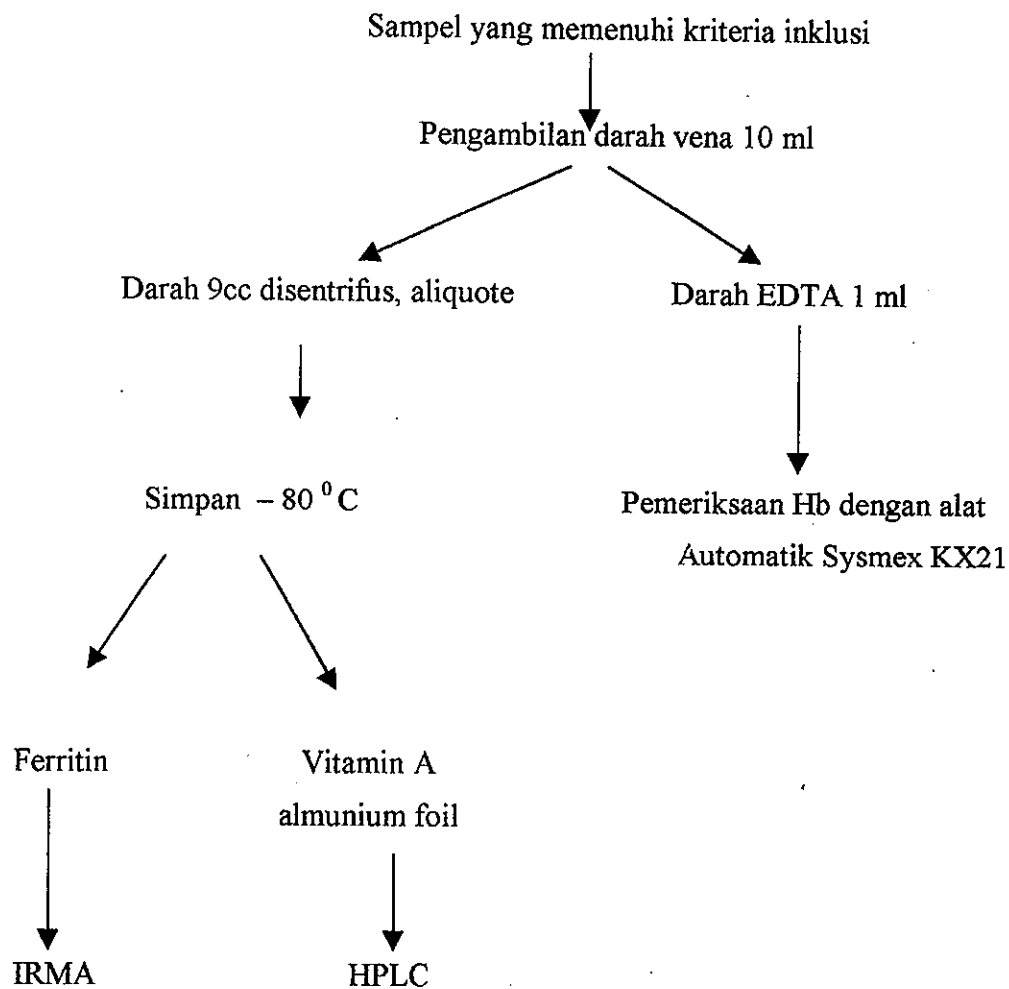
3.5. KETERBATASAAN PENELITIAN

- Kadar besi plasma tidak diperiksa karena sudah ditetapkan kadar ferritin yang dapat menggambarkan anemia defisiensi Fe dan variasi harian tiap individu lebih besar dibandingkan pemeriksaan hemoglobin.²⁸
- Kadar Cu pada wanita hamil ternyata meningkat karena pengaruh hormon estrogen sehingga kadar Cu tidak berpengaruh terhadap kadar hemoglobin.¹⁰

3.6. STRATEGI PENELITIAN

Strategi pemilihan sampel diambil langkah-langkah sebagai berikut :

1. Dilakukan penelitian pendahuluan, dengan data wanita hamil dari penelitian pemenang *QUE Project*
2. Dilakukan seleksi register wanita hamil yang memenuhi kriteria inklusi.
3. Dilakukan pendekatan untuk ikut menjadi responden penelitian.
4. Bersedia dilakukan pemeriksaan fisik
5. Menandatangani *informed consent*
6. Dikumpulkan pada waktu yang telah ditentukan
7. Dilakukan pengambilan darah vena untuk pemeriksaan hemoglobin, serum ferritin dan serum vitamin A.



3.7. METODE DAN CARA KERJA PEMERIKSAAN

3.7.1. Pemeriksaan kadar Vitamin A dengan HPLC

Cara kerja :

1. 250 uL serum ditambah 250 uL etanol ditambah 250 uL standart (retinol acetat) ditambah 500 uL Hexane, di vortex selama 3 menit kemudian di sentrifuge 10 menit dengan kecepatan 1000 rpm.
2. Ambil cairan yang mengandung vitamin A.
3. Keringkan dengan nitrogen sampai kering

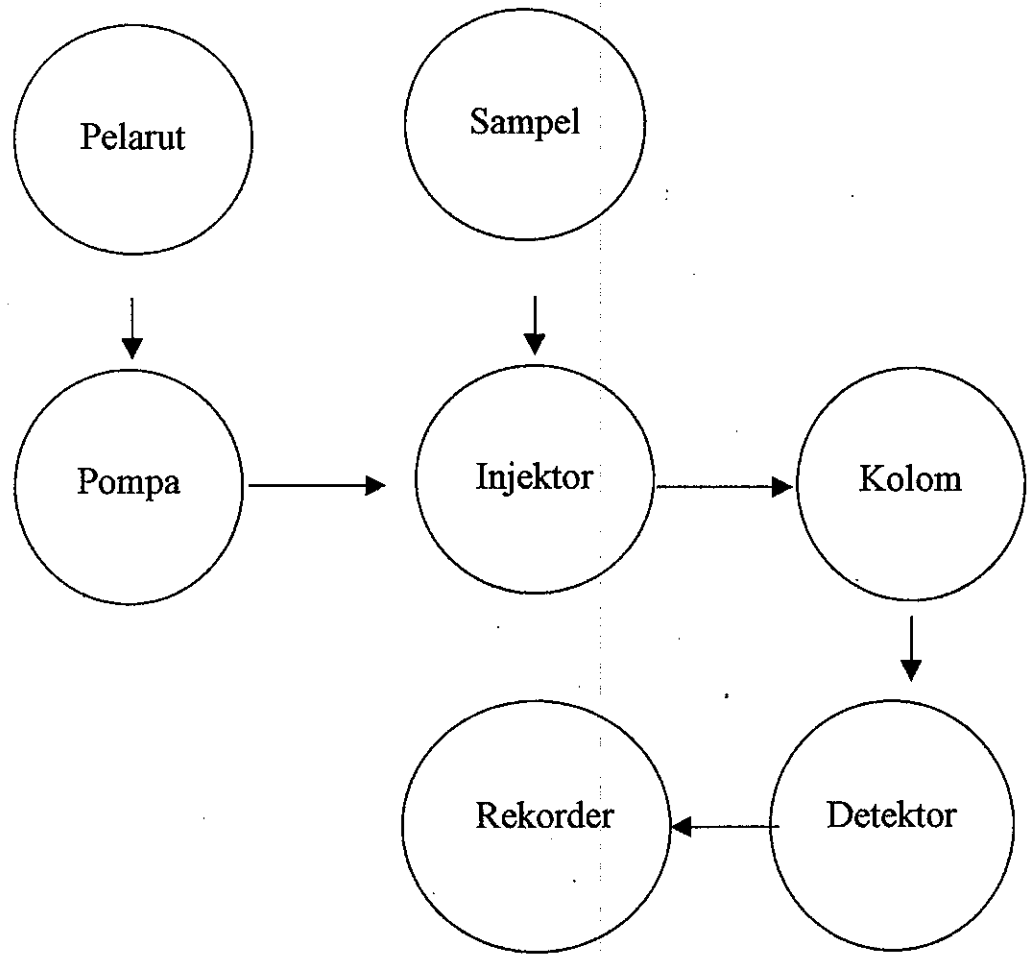
4. Tambahkan metanol 250 uL kemudian di vortex

Prinsip :

- Retinol dibebaskan dari retinol binding protein dengan menambahkan etanol, mengencerkan plasma dan mengekstraksi dengan hexan. Ekstraknya dipisahkan dengan HPLC *straight phase* pada kolom gel silica. Deteksi dilakukan pada panjang gelombang yang sesuai.
- 20 uL komponen yang diperiksa di injeksi kedalam injektor. Komponen yang diperiksa akan masuk alat (injektor). Pelarut (fasa gerak) akan membawa komponen kedalam kolom. Sepanjang kolom terjadi distribusi komponen. Pelarut (fasa gerak) yang bersifat polar cenderung menarik komponen polar. Komponen yang telah dipisahkan dalam kolom dibawa ke detektor (λ 330), konsentrasinya dicatat oleh rekorder.
- Komponen meninggalkan kolom dalam bentuk simetris dan digambarkan di dalam kolom sebagai kurva yang berbentuk lonceng yang simetris.
- Setiap kurva keluar dari kolom dalam waktu yang tertentu (waktu retensi = t) dihitung dari sejak injeksi sampai saat maksimum komponen meninggalkan kolom. Makin besar perbedaan waktu retensinya berarti kurva makin mudah dipisahkan.⁴¹

Nilai rujukkan : 20 - 233 ug/dL (0,84 – 8,1 umol/L)

Skema kerja HPLC



3.7.2. Pemeriksaan ferritin serum dengan metoda IRMA

Alat dan Bahan

- Serum
- Pipet
- Vortex
- Shaker
- Gama counter

Reagen

- Kit Ferritin

Prinsip

- Ferritin membentuk komplek antigen-antibodi antara antibodi monoklonal anti ferritin yang terdapat pada permukaan tabung polysteryne, dan antibodi poliklonal anti-ferritin berlabel radio aktif (I^{125}) sebagai perunut.
- Antibodi poliklonal anti ferritin berlabel radioaktif yang tidak terikat pada reaksi tersebut dihilangkan dengan dekantasi dan pencucian.
- Kelompok antigen-antibodi yang berlabel radioaktifitas yang dibaca dengan gama counter dibandingkan dengan kurve kalibrasi.³⁹

Cara Kerja

- Tabung A sampai H yang ada didalam kit
- Kontrol 3 tabung low, medium, high
- Tabung A sampai H diberi standart untuk masing-masing sudah terkode standart A untuk A dan seterusnya
- Masing-masing tabung diberi 10u L serum

- Tambahkan masing-masing tabung 200uL Feritin Assay
- Vortex
- Shaker selama 30 menit
- Dilakukan dekantasi / dituang
- Masing-masing tabung ditambah 2ml buffer pencuci, tunggu 1-2 menit
- Dilakukan dekantasi
- Masing-masing tabung ditambah 100uL Feritin antibodi berlabel I¹²⁵
- Shaker selama 30 menit, dilakukan dekantasi
- Masing-masing tabung ditambah 2ml buffer pencuci, tunggu 1-2 menit
- Dilakukan dekantasi
- Masing-masing tabung ditambah 2ml buffer pencuci, tunggu 1-2 menit
- Dilakukan dekantasi selama 10 menit
- Tabung dilap dengan tissue jangan sampai kena dasar
- Dibaca dengan gama counter.

Nilai rujukkan : 30 - 130 ug/L

3.7.3. Pemeriksaan kadar Hb dengan metoda SLS bebas sianida

Alat dan bahan : Whole blood

Tabung reaksi

Sysmex KX-21

Reagensia : EDTA

Reagen Sysmex

Cara kerja :

1. 1 cc darah EDTA yang didapat dari sampling disiapkan.
2. Mengkalibrasi alat Sysmex KX-21.
3. Meletakkan reagen pada tempatnya, kemudian memprogram alat untuk memeriksa kadar Hb.
4. Sampel dicampur hingga homogen.
5. Sampel dihisap satu persatu oleh *probe* (alat penghisap) dan dibaca pada gelombang 555 nm
6. Hasil akan tercetak pada kertas *print out*

Prinsip kerja :

1. Membran sel darah merah dilisiskan oleh *Stromatolyser* WH-KX-21.
2. Ion Ferro (Fe^{2+}) dalam molekul hemoglobin dioksidasi menjadi Ferri (Fe^{3+}) oleh Sodium Lauryl Sulfate (SLS).
3. Hemoglobin dengan ion Ferri (Fe^{3+}) disebut Methemoglobin.
4. Methemoglobin akan membentuk kompleks dengan SLS, disebut kompleks SLS-Hb.
5. Kemudian akan dibaca secara Spektrofotometrik pada panjang gelombang 555 nm³⁸

3.8. ANALISIS DATA

Pada data yang terkumpul dilakukan *cleaning, coding*, tabulasi dan *entry* data kedalam komputer. Analisis data meliputi analisis deskriptif dan inferensial.

Pada analisis deskriptif dilakukan penghitungan ukuran pemusatan (rerata) dan ukuran penyebaran (simpang baku) terhadap variabel-variabel yang berskala kontinyu. Pada variabel yang berskala kategorial dibuat tabel tabel frekuensi untuk menggambarkan frekuensi (n) dan proporsi (%) dari masing-masing kategori dari variabel tersebut.

Analisis inferensial ditujukan untuk menguji hipotesis yang telah disusun. Pada setiap hipotesis dilakukan dua kali analisis. Analisis pertama, untuk menunjukkan besar korelasi antara variabel pengaruh dengan variabel terpengaruh digunakan Spearman untuk uji hipotesis satu, dan digunakan Pearson untuk uji hipotesis dua. Analisis kedua dilakukan setelah variabel-variabel dikategorikan masing- masing dalam dua kategori terpisah. Uji yang dipakai adalah uji X^2 . Apabila $p < 0,05$, maka dua variabel yang diuji berhubungan secara bermakna.

Baik pemasukan data (*entry*) maupun analisis dilakukan menggunakan komputer. Perangkat lunak yang dipakai adalah SPSS versi 10.0.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian diperoleh 67 orang responden ibu hamil sebagai subyek penelitian. Rerata umur kehamilan adalah 19.7 minggu (Simpang Baku/SB=3.24) dengan umur kehamilan termuda adalah 13 minggu dan terlanjut adalah 24 minggu.

4.1. Hasil pemeriksaan kadar Vitamin A, Ferritin dan kadar Hb

Hasil pemeriksaan kadar serum Vitamin A, Ferritin dan Hemoglobin (Hb) tercantum pada tabel 1.

Tabel 1.

Hasil pemeriksaan kadar Vitamin A, Ferritin dan kadar Hb
responden (n=67)

Kadar	Minimum	Maksimum	Rerata	SB
Retinol (ug/dl)	11.2	55.0	32.8	9.46
Ferritin (ug/L)	4,3	130,9	34,7	28,80
Hemoglobin (g/dl)	7,9	11,4	10,4	0,77

Rerata kadar Hb responden 10,4 g/dl (menurut kriteria CDC wanita hamil dikatakan anemia apabila kadar Hb-nya $\leq 10,5$ g/dl). Sedangkan rerata kadar Vitamin A serum 32,8 $\mu\text{g/dl}$ (wanita dikatakan mengalami defisiensi Vitamin A

apabila kadar Vitamin A serum < 20 µg/dl). Rerata kadar Feritin 34,7 µg/L (dikatakan defisiensi Fe apabila kadar Feritin serum < 30 µg/L).

4.2. Distribusi kejadian defisiensi Vitamin A, defisiensi Fe dan anemia

Tabel 2.

Distribusi kejadian defisiensi vitamin A ,defisiensi Fe dan anemia pada responden (n=67)

Variabel	N	%	Rerata	SB
Status Vitamin A				
Tidak defisiensi	59	88,1	35,0	7,75
defisiensi	8	11,9	16,8	3,48
Status Fe				
Tidak defisiensi	31	46,3	57,5	27,81
Defisiensi	36	53,7	15,1	6,76
Status Anemia				
Tidak anemia	41	61,2	10,9	0,26
Anemia	26	38,8	9,7	0,71

Dari 67 responden , 26 responden (38,8%) anemia, 8 responden (11,9 %) defisiensi vitamin A dan 36 responden (53,7%) defisiensi besi. Jumlah responden yang mengalami defisiensi besi lebih banyak dari responden anemia, artinya bila tidak ada penanganan lebih lanjut akan menjadi anemia defisiensi besi.

4.3. Distribusi status Vitamin A dengan status ferritin

Tabel 3.

Distribusi status Vitamin A dengan ferritin

Variabel	Ferritin				Total
	Defisiensi		Normal		
	n	%	n	%	
Status Vitamin A					
Defisiensi	7	10,5	1	1,5	8 (11,9)
Normal	29	43,2	30	44,8	59 (88,1)
Total	36	53,7	31	46,3	67 (100)
		$\chi^2=4,167$	df=1		p=0,04

Distribusi status Vitamin A dengan ferritin dapat dilihat pada tabel 3, dari 67 responden, 8 responden (11,9%) menderita defisiensi Vitamin A dan 59 responden (88,1%) dengan status vitamin A normal. Dari 8 responden dengan defisiensi vitamin A, 7 responden (10,5%) defisiensi Fe, 1 responden (1,5 %) normal. Pada 59 responden dengan status vitamin A normal dijumpai 29 responden (43,2%) defisiensi Fe dan 30 penderita (44,8%) normal.

Data Berhubung responden yang defisiensi vitamin A hanya 7 (10,5%), maka hubungan dengan ferritin dikategorikan dengan uji X^2 diperoleh $\chi^2= 4,16$, $df=1$, $p=0,04$ (tabel 3), artinya terdapat hubungan yang bermakna antara status vitamin A dengan ferritin.

4.4. Distribusi status Vitamin A dengan status anemia

Distribusi status Vitamin A dan status anemia dapat dilihat pada tabel 4

Tabel 4.

Distribusi status Vitamin A dengan status anemia

Status Vit A	Status Anemia		Total
	Anemia	Normal	
Defisiensi	7 (26,9)	1 (2,4)	8 (11,9)
Tidak defisiensi	19 (73,1)	40 (97,6)	59 (88,1)
Total	26 (100,0)	41 (100,0)	67 (100)

$$\chi^2 = 9,07, df=1, p=0,03$$

Dari 67 responden, 7 responden (26,9%) anemia, 19 responden (73,1%) anemia tetapi tidak defisiensi Vitamin A, 1 responden (2,4%) tidak anemia tetapi defisiensi Vitamin A, 40 responden (97,6%) tidak anemia dan tidak defisiensi Vitamin A. Dengan uji korelasi Pearson diperoleh $r = 0,3$ ($p = 0,02$) artinya terdapat hubungan yang bermakna antara status vitamin A dengan status anemia. Data kemudian dikategorikan dengan uji X^2 diperoleh hubungan yang bermakna antara status vitamin A dengan status anemia ($\chi^2=9,07, df=1, p=0,003$).

Wolde-Gebriel, *et.al.* (1993) melaporkan adanya korelasi yang bermakna antara Hb dengan ferritin dan Vitamin A, walaupun demikian besarnya koefisien korelasi tidak dicantumkan.⁴² Hal yang sama juga dilaporkan oleh Root, *et.al* (1999) bahwa terdapat korelasi yang bermakna antara ferritin plasma dengan Vitamin A ($P=0,024$).⁴³ Tam K, Lao, TT (1999) melaporkan pada populasi wanita hamil di

Philiphina dijumpai adanya korelasi yang bermakna antara ferritin dengan Hb adalah sebesar 0,2 ($p < 0,01$).⁴⁴ Hal ini menunjukkan adanya kesesuaian antara hasil penelitian ini dengan penelitian sebelumnya.

Hubungan timbal balik antara vitamin A dengan zat besi pada binatang telah dilaporkan oleh beberapa peneliti, dimana dilaporkan pada binatang yang mendapat diet rendah vitamin A terjadi peningkatan penyerapan besi di intestinum dan penumpukan zat besi di hepar dan lien.⁷ Sebaliknya pada binatang yang mendapat diet tinggi vitamin A akan mengalami penurunan cadangan zat besi di hepar. Hal ini menunjukkan bahwa Vitamin A berperan dalam mobilisasi zat besi dari hepar menuju plasma pada kondisi defisiensi vitamin A. Ferritin adalah parameter yang digunakan sebagai petunjuk jumlah besi yang disimpan dalam tubuh (*iron storage*) berupa cadangan besi dalam hepar⁴⁶, sehingga dapat disimpulkan secara tidak langsung kadar vitamin A dalam serum akan berhubungan dengan kadar ferritin serum. Pada keadaan dimana terjadi defisiensi vitamin A akan terjadi gangguan mobilisasi zat besi dari hepar, dengan akibat terjadi penurunan kadar ferritin. Gangguan mobilisasi zat besi juga akan menyebabkan rendahnya kadar zat besi dalam plasma, dimana hal ini akan mengganggu proses sintesa hemoglobin sehingga akan menyebabkan rendahnya kadar Hb dalam darah.

Vitamin A juga dilaporkan berpengaruh terhadap proses eritropoiesis.⁷ Penelitian in-vitro menunjukkan bahwa Asam Retinoat dapat memacu pembentukan eritropoietin.⁴⁶ Pemberian suplemen Vitamin A pada tikus dengan defisiensi Vitamin A akan menyebabkan peningkatan kadar Eritropoietin plasma. Peningkatan kadar eritropoietin akan menyebabkan terjadi pematangan eritrosit dan pelepasan eritrosit ke sirkulasi perifer.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

- 5.1.1 Rerata kadar Hb adalah 10,4 g/dl, kadar Vitamin A 32,8 ug/dl , rerata kadar Ferritin 34,7 ug/L
- 5.1.2 Dua puluh enam responden (38,8%) dikategorikan menderita anemia, rerata kadar Hb 9,7 g/dl, 41 (61,2%) responden tidak anemia rerata kadar Hb 10,9 g/dl .
- 5.1.3 Delapan responden (11,9 %) menderita defisiensi Vitamin A rerata kadar Vitamin A serum 16,8 μ g/dl, 59 (88,1%) tidak defisiensi rerata kadar vitamin A serum 35,0 ug/dl.
- 5.1.4 Tiga puluh enam orang (53,7 %) dikategorikan defisiensi Fe, rerata kadar ferritin serum adalah 15.1 μ g/L, 31 (46,3%) orang dikategorikan tidak defisiensi rerata kadar ferritin serum 57,5 ug/L .
- 5.1.5 Terdapat hubungan yang bermakna antara ferritin dengan status vitamin A. ($\chi^2 = 4,16$; $df = 1$; $p = 0,04$)
- 5.1.6 Terdapat hubungan yang bermakna antara status anemia dengan status vitamin A. ($r = 0,3$; $p = 0,02$)

5.2. Saran

- 5.2. 1. Mengingat pada hasil ini diperoleh hubungan antara defisiensi vitamin A dengan defisiensi besi dan anemia, maka disarankan untuk melakukan pemberian suplementasi zat besi dan vitamin A secara bersama-sama.
- 5.2. 2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut didaerah untuk mengetahui faktor-faktor lain yang turut berperan dalam hubungan antara vitamin A dengan ferritin dan kadar Hb.

BAB VI

RINGKASAN

Anemia pada kehamilan merupakan problem utama kesehatan masyarakat di negara berkembang, dimana jenis anemia yang terbanyak adalah defisiensi besi. Penanganan anemia selama ini hanya memberikan tablet besi saja yang ternyata kurang memberikan respon perbaikan hemoglobin.

Nalubula dan Lestel menyatakan bahwa penderita dengan defisiensi vitamin A kronis dapat mengalami anemia yang serupa dengan anemia defisiensi besi, tetapi cadangan besi atau ferritin meningkat. Hal ini membuktikan adanya peranan vitamin A dalam mobilisasi zat besi yang digunakan dalam proses eritropoeses.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah ada hubungan antara status vitamin A dengan ferritin dan Hb pada ibu hamil.

Dilakukan penelitian diskriptif analitik terhadap 67 ibu hamil dengan umur kehamilan 13 – 24 minggu yang menderita anemia di Puskesmas Karangawen I Demak pada periode November 2000 – Januari 2002.

Terhadap sampel darah vena subyek dilakukan pengukuran kadar vitamin A serum dengan metoda HPLC, kadar ferritin serum dengan metoda IRMA dan kadar Hb dengan metoda SLS bebas sianida. Dikategorikan defisiensi vitamin A apa bila kadar vitamin A $< 20 \mu\text{g/dl}$, defisiensi besi apa bila kadar ferritin $< 30 \mu\text{g/L}$ dan anemia bila kadar Hb $\leq 10,5$.

Dari hasil analisis rerata kadar vitamin A serum 32,8 $\mu\text{g/dl}$ (SD=9,46), ferritin 34,7 $\mu\text{g/L}$ (SD=28,80) dan kadar Hb 10,4 g/dl (SD=0,77). Dari 67 subyek penelitian terdapat 8 orang dengan defisiensi vitamin A (11,9%) 36 defisiensi Fe (53,7%) dan 26 orang menderita anemia 38,8%. Dari 8 orang dengan defisiensi vitamin A terdapat 7 orang menderita defisiensi, 7 orang menderita anemia. Hasil uji korelasi menunjukkan adanya korelasi bermakna antara status vitamin A dengan ferritin ($p=0,04$) dan status anemia ($p=0,003$). Hal ini disebabkan oleh karena vitamin A berperan dalam mobilisasi zat besi dari hepar, sehingga adanya defisiensi vitamin A menyebabkan kadar ferritin serum menjadi rendah. Kadar ferritin serum yang rendah menyebabkan gangguan sintesa hemoglobin sehingga timbul anemia.

Penelitian ini menunjukkan adanya korelasi yang bermakna antara status vitamin A dengan ferritin serum dan Hb pada ibu hamil.

DAFTAR PUSTAKA

1. Bakta IM. Prevalensi Anemia Pada Karyawan RSUP Denpasar. DEXA No. 4, vol 6. Juni 1994 : 23 - 5.
2. Saidin M, S. Sukati, Martuti S. Efektivitas Suplementasi Pil Besi Dua Kali Seminggu dan Satu Kali Sehari pada Ibu Hamil. Penelitian Gizi dan Makanan. Depkes R.I. Bogor, 1996.
3. Rush D. Nutrition and Maternal Mortality in The Developing World. Am .J. Clin. Nutr. 2000 : 72 (suppl) : 212S - 40S.
4. Williams WJ. Williams Hematology. fifth Edition . Companion Handbook Mc Graw-Hill. New York, 1996 : 92 - 102
5. Scultink W, Gross R. The Influence of Vitamin A on Iron Status and Possible Consequenses for Micronutrien Deficiency Alleviation Program. in Micronutrient Interaction : Impact on Child Health and Nutrition. UAID/FAO. Washington DC, 1998 : 28 - 35.
6. Kolsteren P, Rahman SR, Hilderband K, Diniz A. Treatment for iron deficiency Anemia with a combined Supplementation of iron, vitamin A and zinc in women of Dinajpur, Bangladesh Stockton Press. Bangladesh, 1999 : 102 - 6.
7. Nalubola R, Nestel P. The Effect of Vitamin A Nutrition on Health: A Review ILSI and USAID. ILSI Press. Washington D.C. USA, 1999.
8. Suharyo H. Pemetaan anemia gizi dan faktor-faktor determinan pada ibu hamil dan anak balita di Jawa Tengah. Pusat Penelitian Kesehatan. Lembaga Penelitian Universitas Diponegoro. Semarang, 1999.
9. Alnwick D. Vitamin A and Iron Interaction in : The Effect of Vitamin A Nutrition on Health : A Review ILSI and USAID. ILSI Press. Washington D.C. USA, 1999.
10. Gibson RS. Principles of Nutritional Assessment. Oxford University Press. New York, 1990 : 348 - 61.

11. Dalman PR, Yip R, Oski FA. Haematology of Infancy and Childhood. 4th Edition. WB. 1993 : 413 - 50.
12. Hoffbrand AV, Petit JE. Kapita Selektta Haematologi. Edisi ke2. alih bahasa : Iyan Darmawan. EGC. Jakarta 1996 : 1 - 27.
13. Waterbury L. Series Haematology. 3nd ed. Alih bahasa : Sugi Suhandi. EGC. Jakarta, 1998 : 1 - 18.
14. Dacie JV, Lewis SM. Basic Haematological techniques in : Practical Haematology. 7th ed. Churchill Livingstone. USA, 1991: 37-51.
15. Mahdin AH, Darwin K. Aspek-aspek Konsekuensi Fungsional Anemia Gizi Kurang Zat Besi. Medika no.4 tahun 11. April 1985 : 370 - 4
16. Tambunan LK. Ilmu Penyakit Dalam : Anemia Defisiensi Besi. Balai Penerbit FKUI. Jakarta, 1998 : 404 - 9.
17. Laros RK. Hematologic Disorders of Pregnancy. In : Medicine of The Fetus & Mother J.B. Lippincott Company. Philadelphia, 1992.
18. Nelson DA, Davey FR. Erythrocytic Disorders. In : Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Method. Seventeenth Edition. W.B. Saunders Company USA. New York, 1984 : 652 - 65.
19. Beaton GH. Iron Need During Pregnancy : Do We Need to Rethink Our Targets. Am. J. Clin. Nutr. 2000 : 72(suppl) : 265S - 71S.
20. Pitkin RM. Iron Nutrition During Pregnancy. In: Nutrition During Pregnancy. National Academy Press Washington DC, 1990 : 272 - 95.
21. Prawiroharjo S. Ilmu Kebidanan. Edisi ke 2. Yayasan Bina Pustaka. Jakarta, 1997 : 405 - 10.
22. Sarimawar D, Naseh S, Agustina L, Ratna LB, Zainul B. Faktor Resiko yang Mempengaruhi Anemia Kehamilan. Pusat Penelitian Ekologi Kesehatan. Badan Litbang Kesehatan. Jakarta, 1994 : 39 - 49.
23. Yekti K. Anemia Gizi Pada Ibu Masa Reproduksi (Studi Kasus di Dua Desa Kabupaten Grobogan dan Lombok). Majalah Kedokteran Diponegoro. No. 3 & 4. Semarang, 1996 : 149 - 60.

24. Conrad ME. Seminar in Hematologi. Vol3. No 1 (Januari). 1998 : 1 - 4.
25. Talen MJ. The mature Eritrocyte in Wintrobe's Clinical Hematology. 9th ed. Lea & Febiger, Philadelphia, 1993 : 116 - 27.
26. Burtis CA, Ashwood ER. Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry. Fourth WB. Saunders Company. Tokyo, 1996 : 471 - 3.
27. Litwin C. Serum Soluble Transferrin Receptor: in Diagnosis of Iron Deficiency Anemia. <http://www.aruplab.com/Default.htm> June. 1998 : 1 - 4.
28. Bothwell TH. Iron Requirement in Pregnancy and Strategies to Meet Them. Am J. Clin. Nutr. 2000 : 72(suppl). 257S - 64S
29. Mochtar R. Sinopsis Obstetri. Obstetri Fisiologi. Obstetri Patologi. Edisi. 2. EGC. Jakarta, 1989 : 62 - 7
30. Harper HA, Rodwell VW, Mayes P. A. Review of Physiological Chemistry. 17th Edition. Lange medical Publication. California, 1979 : 154 - 8
31. Ismadi M. Biokimia Suatu Pendekatan Berorientasi – Kasus. Edisi 4. FK UGM. Gajah Mada Univesity Press. Yogyakarta, 1983 : 26 - 33
32. Kartawiguna E. Vitamin yang Dapat Berfungsi Sebagai Antioksidan. Majalah Ilmiah Fakultas Kedokteran. USAKTI. Vol.17. no.1. Januari. Jakarta, 1998 : 16 - 25.
33. Mohan LK, Arlin MT. Food Nutrition and Diet Therapy. W.B. Saunders Company Philadelphia. USA, 1992 : 71 - 5
34. Almatsier S. Prinsip Dasar ilmu Gizi. PT Gramedia Pustaka Utama Jakarta, 2001 : 151 - 66.
35. Garcia M N, et.al. Vitamin A and β -Carotene Can Improve Nonhem Iron Absorption from Rice, Wheat and Corn by Humans. The Journal of Nutrition. Vol 128. 1997. Pp 646 - 50
36. Brody T. Nutritional Biochemistry. Academic Press. California. USA, 1994
37. Gandasoebrata R. Penuntun Laboratorium Klinik. Dian Rakyat. Jakarta, 1985 : 11 - 5

38. Sysmex. Operators Manual Automated Hematology Analyzer KX-21. Sysmex Corporation Kobe. Japan, 1997 : 1 - 32
39. Coat-A Count. Ferritin IRMA. Catalog Numbers: IKFEI
40. Sastroasmoro S, Ismael S. Dasar-dasar metodologi penelitian klinis. Bina Putra Aksara. Jakarta, 1995.
41. Cohen L, Holliday M. Practical Statistics for Students. 2nd. London: Paul Chapman. 1998
42. Wolde-Gebriel Z, West CE, Gebru H et.al. Interrelation between vitamin A, iodine and iron status in schoochildren in Shoa Regionn, central Ethiopia. Br J Nutr 1993 ; 70 : 593 - 607 (Medline)
43. Root MM, Hu J, Stephenson LS, parker RS, Campbell TC. Iron Status of Middlepaged women in five countries of rural China. Eur J Clin Nutr 1999 ; 53 : 199 - 206. (Medline)
44. Tam K, Lao TT. Hemoglobin and rec Cell Indices Correlated With Serum Ferritin Concentration in Late Pregnancy. Obstetri Gynecology 1999 ; 93 : 427 - 31
45. Goodnough LT, Skikne B, Brugnara C. Erythropoietin, Iron and Erythropoiesis. Blood 2000 ; 96 : 823 - 833.
46. Kambe T, Tada-Kambe J, Kuge Y. Yamaguchi-Iwai Y, Nagao M, Sasaki R. Retinoic Acid Stimulates Erythropoietin Gene Transcription in Embryonal carcinoma Cells through the Direct Repeat of a Steroid/Thyroid Hormone Receptor Response Element Half-Site in the Hypoxia-Response Enhancer. Blood 2000 ; 96 : 3265 - 3271.