



Gambaran Hematologi pada Defisiensi Vitamin B12

Irena Ujianti^a

^a Departemen Fisiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA, Jakarta, Indonesia

Kata kunci

Gambaran hematologi, Defisiensi vitamin B12, Hematology, Vitamin B12

Abstract

Background and Aims. Anemia is a condition when the number of red blood cells or haemoglobin is lower than the normal number. The main cause of anemia is a lack of factors for the formation and maturation of red blood cells. Vitamin B12 plays a role in the synthesis and maturation of red blood cells, a lack of this vitamin will cause the formation and maturation of red blood cells to be disrupted.

Methods. This was experimental animal study with twelve rats with frederer's family. Rat was fed a Vitamin B12 Deficient Diet for 16 weeks as the treatment group and standard diet as control group. Vitamin B12 in liver were analyzed in rats for 16 weeks. Haemoglobin and MCV were analyzed in plasma for 16 weeks. Results are expressed as means of control, and test animals were established by ANOVA using SPSS 20.0 software.

Results. In the present study, we found that liver vitamin B12 level was decreased in treatments groups compare to the positive control group at sixteen weeks ($p < 0.01$). Haemoglobin was decreased in the treatment group's compare positive control group at sixteen weeks ($p < 0.001$). Mean Corpuscular Volume (MCV) was increased in the treatment group's compare positive control group at sixteen weeks ($p < 0.01$).

Conclusion. Our findings demonstrate that vitamin B12 deficiency decreased hemoglobin and increased MCV.

© 2021 SMJ, Jakarta

Pendahuluan

Anemia adalah salah satu masalah kesehatan global yang utama, terutama pada negara-negara berkembang. Anemia adalah kondisi dimana massa sel darah merah dan/atau massa hemoglobin yang beredar dalam tubuh menurun hingga dibawah kadar normal sehingga tidak dapat berfungsi dengan baik dalam menyediakan oksigen untuk jaringan tubuh. Salah satu jenis yang banyak ditemukan adalah anemia megaloblastic, dimana anemia megaloblastik paling banyak disebabkan oleh kekurangan vitamin B12 (kobalamin).¹

Vitamin B12, juga dikenal sebagai cobalamin, adalah vitamin yang larut dalam air yang berasal dari produk hewani seperti daging merah, susu, dan telur. Faktor intrinsik adalah glikoprotein yang diproduksi oleh sel parietal di lambung dan diperlukan untuk penyerapan vitamin B12 di ileum terminal. Setelah diserap, vitamin B12 digunakan sebagai kofaktor untuk enzim yang terlibat dalam sintesis asam deoksiribonukleat (DNA), asam lemak, dan mielin. Kekurangan vitamin B12 dapat menyebabkan gejala hematologi dan neurologis. Vitamin B12 disimpan secara berlebihan di hati, mengurangi kemungkinan kekurangan. Namun, dalam kasus di mana vitamin B12 tidak dapat diserap, misalnya, karena insufisiensi diet, malabsorpsi atau kurangnya faktor intrinsik, simpanan hati habis, dan terjadi defisiensi.²

Vitamin B12 dapat menjaga saraf dan sel darah selain itu juga diperlukan dalam sintesis DNA pada sel. Vitamin B12 juga membantu mencegah terjadinya anemia megaloblastik. Tubuh menghasilkan jutaan sel darah merah setiap menit sehingga jika terjadi defisiensi atau kekurangan vitamin B12 menyebabkan sel darah merah tidak dapat berkembang.³ Produksi sel darah merah akan berkurang dan menyebabkan anemia. Sel darah merah, yang juga disebut sebagai eritrosit, bertugas mengangkut oksigen dari paru ke semua sel di seluruh tubuh. Fungsi ini dapat diukur melalui tiga macam tes. Hitung Sel Darah Merah (red blood cell count/RBC) yang menghitung jumlah total sel darah merah. Hemoglobin (Hb) yaitu protein dalam sel darah merah yang bertugas mengangkut oksigen dari paru ke bagian tubuh lain. Hematokrit (Ht atau HCT) mengukur persentase sel darah merah dalam seluruh volume darah.⁴

Eritrosit, Hb dan Ht yang sangat rendah menunjukkan adanya anemia, yaitu sel tidak mendapat cukup oksigen untuk berfungsi secara normal. Volume Eritrosit Rata-Rata atau Mean Corpuscular Volume (MCV) mengukur besar rata-rata sel darah merah. MCV yang rendah berarti ukuran sel darah merahnya lebih kecil dari ukuran normal. MCV yang tinggi dapat menunjukkan adanya anemia megaloblastik, dengan sel darah merahnya besar dan berwarna muda. Hemoglobin Eritrosit Rata-Rata atau Mean Corpuscular Hemoglobin (MCH) dan Konsentrasi Hemoglobin Eritrosit Rata-Rata atau Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration (MCHC) untuk mengukur jumlah dan kepekatan hemoglobin.⁵

Dalam studi ini, peneliti ingin mengetahui apakah ada hubungan asupan vitamin B12 terhadap kadar hemoglobin dan volume eritrosit rata rata pada hewan coba yang diberikan diet restriksi vitamin B12. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis hubungan tersebut

berdasarkan asupan vitamin B12 yang dikonsumsi.

Metode

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental in vivo dengan random sampling, menggunakan tikus Sprague Dawley jantan berumur 36-40 minggu, yang diperoleh dari Badan Penelitian dan Kesehatan RI. Besar sampel dihitung dengan metode Federer, sebanyak 12 ekor tikus. Kedua tikus tersebut disimpan di lingkungan dengan suhu terkontrol. Tikus ditempatkan di bawah siklus terang dan gelap 12 jam di kandang isolasi mikro berventilasi, dengan akses ke makanan dan air, dan dipuaskan semalaman sebelum dikorbankan. Hewan uji dibagi menjadi dua kelompok, yaitu kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Kelompok perlakuan diberi pakan defisiensi vitamin B12, AIN93M (Diet test, Florida, USA), sedangkan kelompok kontrol diberi pakan standar (RatBio, Bogor, Indonesia) selama 16 minggu untuk setiap kelompok. Setelah perlakuan, plasma dan jaringan hati disimpan dalam freezer pada suhu -80 ° C. Komite Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) FKUI RSCM telah menyetujui penelitian ini dengan nomor: 184 / UN2. F1 / ETIK / 2017.

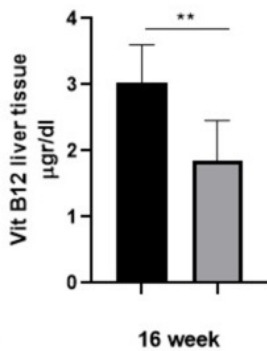
Setelah kondisi puasa, darah diambil dari sinus supraorbital pada waktu yang ditentukan. Hewan coba dilakukan dekapitasi dan organ hati diambil. Hati tikus beku diresuspendi dalam PBS sebelum homogenisasi. Homogenat hati digunakan dalam pengukuran Vitamin B12. Kadar Vitamin B12 ditentukan dengan menggunakan kit standar ELISA (Rat Vitamin B12 ELISA, FineTest, China), setelah dibagi dengan jumlah protein total yang ditentukan lewat metode Bradford, kadar vitamin B12 di jaringan hati ditentukan. Kadar Hb plasma ditentukan dengan menggunakan alat Easytouch. Sedangkan kadar MCV melalui pemeriksaan hematologi.

Hasil dinyatakan sebagai mean norm error (SEM). Perbedaan statistik dihitung menggunakan uji-t Student. Signifikansi statistik telah ditunjukkan sebagai * p < 0,05, ** p < 0,01, *** p < 0,001.

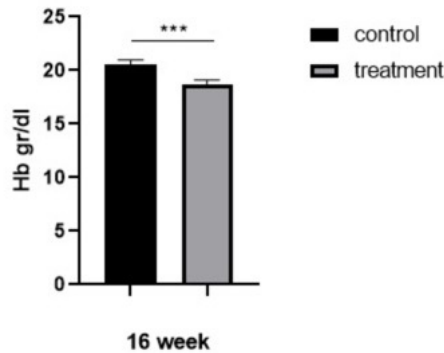
Hasil dan Diskusi

Pada penelitian ini didapatkan hasil vitamin B12 pada jaringan hati pada kelompok perlakuan di usia 16 minggu diketahui 3,6±0.6 g/dl dan kelompok kontrol 1,34 ± 0,17 g/dl, dengan nilai p<0.01 menggunakan Analisa t-test independent. Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh amani et.al, dimana pada hewan coba yang diberikan pakan dengan restriksi vitamin B12 didapatkan penurunan kadar plasma vitamin B12. Pada kondisi normal, diet vitamin B12 mengikat protein yang disebut R-faktor, yang disekresikan oleh saliva. Setelah kompleks di usus kecil, vitamin B12 dipecah dari R-faktor oleh enzim pankreas, memungkinkan untuk terikat glikoprotein yang disebut faktor intrinsik, yang disekresikan oleh sel parietal lambung. Kompleks vitamin B12 dan faktor intrinsik yang baru terbentuk kemudian dapat berikatan dengan reseptor di ileum, yang memungkinkan penyerapan B12.^{7,8}

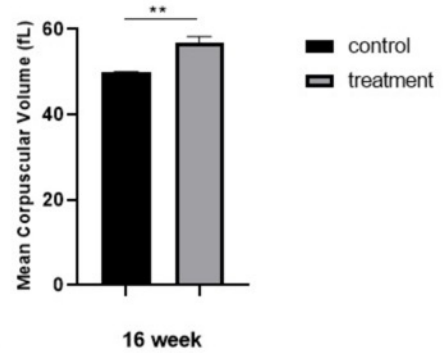
Di Amerika Serikat dan Inggris, prevalensi defisiensi



Gambar 1. Vitamin B12 jaringan hati, Mean \pm SE (n=6 per grup)
Kelompok Pemberian Pakan:
Kontrol: pakan standar;
Perlakuan: AIN-93M dengan restriksi vitamin B12.
**p<0.01



Gambar 2. Level Hb Plasma, Mean \pm SE (n=6 per grup)
Kelompok Pemberian Pakan:
Kontrol: pakan standar;
Perlakuan: AIN-93M dengan restriksi vitamin B12.
***p<0.001



Gambar 3. Mean Corpuscular Volume, Mean \pm SE (n=6 per grup)
Kelompok Pemberian Pakan:
Kontrol: pakan standar;
Perlakuan: AIN-93M dengan restriksi vitamin B12.
**p<0.01

vitamin B12 adalah sekitar 6% pada orang berusia kurang dari 60 tahun, dan hampir 20% pada mereka yang lebih dari 60 tahun.⁹ Faktor risiko tertentu meningkatkan prevalensi defisiensi vitamin B12 seperti Insufisiensi diet dari bahan yang kaya vitamin B12, kondisi autoimun yang mengurangi faktor intrinsik yang berperan pada penyerapan vitamin B12 dan penggunaan jangka panjang metformin atau obat penekan asam lambung.^{10,11} Setelah konfirmasi defisiensi B12, etiologi harus ditangani. Seringkali, sebagian besar penyebab dari defisiensi vitamin B12 adalah gangguan pada proses absorbs, namun adanya riwayat pembedahan termasuk gastrektomi, reseksi ileum terminal, atau bypass lambung Dapat menjadi factor resiko. Dalam kasus lain, riwayat kepatuhan terhadap pola makan vegan yang ketat mungkin menjadi sumbernya. Jika pemeriksaan GI dan diet keduanya negatif, kemungkinan penyebabnya adalah autoimun.¹²

Pada penelitian ini didapatkan hasil hemoglobin pada kelompok perlakuan di usia 16 minggu diketahui 18,7 \pm 0.39 gr/dl dan kelompok kontrol 20,5 \pm 0.46 gr/dl g/dl, dengan nilai p<0.001 menggunakan Analisa t-test independent. Pada penelitian ini didapatkan terjadinya penurunan kadar hemoglobin dibandingkan kelompok control setelah dilakukan pemberian diet restriksi vitamin B12. Beberapa penelitian menunjukan bahwa Pada pasien yang kekurangan vitamin B12, pengukuran hematologi akan menunjukkan kondisi anemia, yang bermanifestasi sebagai penurunan hemoglobin, selain itu juga penurunan jumlah eritrosit yang normal.¹³

Nilai MCV pada penelitian ini didapatkan hasil pada kelompok perlakuan di usia 16 minggu diketahui 18,7 \pm 0.39 gr/dl dan kelompok kontrol 20,5 \pm 0.46 gr/dl, dengan nilai p<0.001 menggunakan Analisa t-test independent. Setelah diabsorbsi dan beredar di plasma, vitamin B12 akan memasuki sel dan terlibat dalam jalur metabolisme yang penting dalam fungsi hematologi. Gangguan vitamin B12 yang menyebabkan gangguan absorpsi, berakibat banyaknya gangguan. Vitamin B12 adalah kofaktor untuk enzim metionin sintase, yang digunakan dalam konversi homosistein menjadi metionin. Sebagai produk sampingan dari reaksi ini, metil-THF diubah menjadi THF, untuk diubah menjadi zat antara yang digunakan dalam sintesis basa pirimidin DNA.¹⁵ Pada defisiensi vitamin B12, homosistein tidak dapat diubah menjadi metionin, dengan demikian, metil-THF tidak dapat diubah menjadi THF.¹⁶ Akibatnya, kadar homosistein menumpuk, dan basa pirimidin tidak dapat terbentuk, memperlambat sintesis DNA dan

menyebabkan anemia megaloblastik.

Pada kondisi defisiensi vitamin B12, ukuran Mean Corpuscular Volume (MCV), yang mengukur ukuran sel darah merah, akan meningkat. Hal ini sesuai dengan diagnosis anemia makrositik. Pernyataan ini sesuai dengan hasil penelitian, dimana terlihat bahwa kadar hemoglobin kelompok perlakuan lebih rendah secara bermakna dibandingkan kelompok kontrol, sedangkan nilai MCV kelompok perlakuan nampak lebih besar dibandingkan kelompok kontrol. Kadar hemoglobin yang rendah disebabkan karena sintesis dan pematangan RBC tidak berjalan secara normal, karena adanya defisiensi vitamin B12, sintesis DNA terganggu, sehingga dihasilkan ukuran RBC yang besar dan berwarna pucat, karena rendahnya kadar HB didalamnya. Teori ini didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Devi et.al bahwa pada populasi umum menunjukkan bahwa di antara pasien dengan anemia, sekitar 1% hingga 2% disebabkan oleh defisiensi B12.¹⁷ Penelitian lain menunjukkan bahwa di antara pasien dengan makrositosis anemia, 18% hingga 20% disebabkan oleh defisiensi B12.¹⁸

Pernyataan Etik

Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan etik dari Komite Etik Riset Kesehatan-Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia / Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo (FKUI / RSCM) dengan nomor: 184 / UN2.F1 / ETIK / 2017.

Pernyataan Konflik Kepentingan

Penulis menyatakan bahwa tidak terdapat konflik kepentingan dalam penulisan artikel ini.

Referensi

1. Thimmappa N, S. B. V, G. P, B. K. S. Evaluation of clinical, biochemical and hematological parameters in macrocytic anemia. *Int J Adv Med*. 2019;6(2):489.
2. Zhu Y, Minović I, Dekker LH, Eggersdorfer ML, van Zon SKR, Reijneveld SA, et al. Vitamin status and diet in elderly with low and high socioeconomic status: The lifelines-MINUTHE study. *Nutrients* [Internet]. 2020;12(9):1–17.
3. Kumar KJ, Kumar VHS, Kulkarni P, Jayashree K. Prevalence of folate deficiency among adolescent school girls in rural areas of Mysuru district, Karnataka, India. *Sri Lanka J Child Heal* [Internet]. 2020;49(3):230–4.
4. Wolffenbuttel BHR, Wouters HJCM, de Jong WHA, Huls G, van der Klauw MM. Association of vitamin B12, methylmalonic acid, and functional parameters. *Neth J Med* [Internet]. 2020;78(1):10–24.
5. Padalino B, Rubino G, Lacinio R, Petazzi F. A New Classification to Diagnose Type of Anemia in Standardbred Horses: A Retrospective Study. *J Equine Vet Sci* [Internet]. 2016;44:21–5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jevs.2016.03.004>
6. Amani P, Prijanti AR, Jusuf AA, Kartinah NT, Ujianti I, Murthi AK, et al. Cobalamin restriction with AIN-93M chow modification: Hematology and cardiovascular parameter assessment. In: *AIP Conference Proceedings*. 2019.
7. Brzeźniakiewicz-Janus K, Rupa-Matysek J, Tukiendorf A, Janus T, Franków M, Lancé MD, et al. Red Blood Cells Mean Corpuscular Volume (MCV) and Red Blood Distribution Width (RDW) Parameters as Potential Indicators of Regenerative Potential in Older Patients and Predictors of Acute Mortality – Preliminary Report. *Stem Cell Rev Reports* [Internet]. 2020;16(4):711–7.
8. Malik A, Trilok-Kumar G. Status of Vitamin B12 among healthy adult and elderly population in India: A review. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* [Internet]. 2020;66:S361–8.
9. Rakshitha, Rao GM, Saritha Kamath U. Effect of vitamin b12 supplementation on neurologic and cognitive functions in older people review. *Biomed* [Internet]. 2020;40(3):264–6.
10. Derin S, Koseoglu S, Sahin C, Sahan M. Effect of vitamin B12 deficiency on olfactory function. *Int Forum Allergy Rhinol*. 2016;6(10):1051–5.
11. Al-Hamdi A, Al-Gahhafi M, Al-Roshdi S, Jaju S, Al-Mamari A, Al Mahrezi AM. Vitamin B12 deficiency in diabetic patients on metformin therapy: A cross-sectional study from oman. *Sultan Qaboos Univ Med J* [Internet]. 2020;20(1):e90–4.
12. Shipton MJ, Johal NJ, Dutta N, Slater C, Iqbal Z, Ahmed B, et al. Haemoglobin and Hematinic Status Before and After Bariatric Surgery over 4 years of Follow-Up. *Obes Surg* [Internet]. 2021;31(2):682–93.
13. Chiang C-P, Wu Y-C, Chang JY-F, Wang Y-P, Wu Y-H, Sun A. Anemia, hematinic deficiencies, hyperhomocysteinemia, and gastric parietal cell antibody positivity in atrophic glossitis patients with iron deficiency. *J Formos Med Assoc* [Internet]. 2020;119(2):587–94.
14. Jin Y-T, Wu Y-C, Wu Y-H, Chang JY-F, Chiang C-P, Sun A. Anemia, hematinic deficiencies, hyperhomocysteinemia, and gastric parietal cell antibody positivity in burning mouth syndrome patients with or without microcytosis. *J Dent Sci* [Internet]. 2021.
15. Al-Musharaf S, McTernan PG, Hussain SD, Aleisa KA, Alnaami AM, Wani K, et al. Prevalence and indicators of vitamin b12 insufficiency among young women of childbearing age. *Int J Environ Res Public Health* [Internet]. 2021;18(1):1–13.
16. Koseoglu SZA, Toprak D, Dogan N. The relationship between BMI, WHR and serum vitamin B12, folic acid and ferritin levels in adults. *Prog Nutr* [Internet]. 2020;22(1):127–36.
17. Devi A, Rush E, Harper M, Venn B. Vitamin b12 status of various ethnic groups living in new zealand: An analysis of the adult nutrition survey 2008/2009. *Nutrients*. 2018;10(2).
18. Watson J, Lee M, Garcia-Casal MN. Consequences of Inadequate Intakes of Vitamin A, Vitamin B12, Vitamin D, Calcium, Iron, and Folate in Older Persons. *Curr Geriatr Reports*. 2018;7(2):103–13.