

ARTIKEL PENELITIAN

Pengembangan Metode Identifikasi Kadar Ion Besi Sampel Urin Berbasis Separasi Magnetik

*Ellsie Viendra Permana¹⁾, Erick Khristian¹⁾, Nidya Oktaviani¹⁾,
Muhammad Rizaldi Ridwan¹⁾, Salma Siti¹⁾, Devi Maharani¹⁾

¹⁾Teknologi Laboratorium Medik, Fakultas Ilmu dan Teknologi Kesehatan, Universitas Jenderal Achmad Yani, Cimahi, Indonesia

Correspondence author: Ellsie Viendra Permana, ellsie.viendra@lecture.unjani.ac.id, Cimahi, Indonesia

Abstrak

Kelebihan zat besi (*iron overload*) disebabkan oleh hemokromatosis herediter, transfusi darah berulang, atau asupan besi yang berlebihan yang sering terjadi pada pasien thalasemia. Kandungan ion besi dalam tubuh dapat dimonitor secara semi-kuantitatif melalui uji kadar ferritin. Namun kadar ferritin juga dipengaruhi oleh faktor lain seperti reaksi inflamasi, konsumsi alkohol, penurunan fungsi hati, dan lainnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan metode baru dalam menentukan kadar ion besi dalam urin sebagai pendamping uji ferritin. Beberapa senyawa pembentuk presipitat ion besi yang diidentifikasi meliputi sulfid, peroksida, dan hidroksida, dengan hasil optimum diperoleh dari presipitasi menggunakan hidroksida berdasarkan parameter kestabilan dan kecepatan pengendapan dengan magnet. Sebelum analisis, sampel urin diperlakukan dengan penambahan magnesium untuk menghindari gangguan dari presipitasi ion fosfat. Hasil pengendapan optimum menggunakan hidroksida dicapai pada menit ketiga untuk ion besi dengan kadar 0,5 – 2,5 g/L. Nilai absorbansi turbiditas awal pada menit pertama berkisar antara 0,336 hingga 0,44, sedangkan absorbansi maksimum saat presipitasi maksimum berkisar antara 0,393 hingga 0,806, meningkat seiring dengan kenaikan konsentrasi Fe^{2+} dalam larutan. Setelah penarikan magnet dengan palladium ke dasar kuvet, absorbansi menurun dan stabil sejak menit kesembilan dengan rentang absorbansi 0,047 – 0,173. Absorbansi mencapai titik terendah pada menit keempat belas dengan rentang 0,002 – 0,03. Kurva standar yang dihasilkan dari selisih absorbansi turbiditas presipitat dan absorbansi supernatant setelah magnetisasi menunjukkan linearitas sebesar 0,94, menandakan hubungan yang baik antara konsentrasi ion besi dan absorbansi. Metode yang dikembangkan dalam penelitian ini memiliki potensi untuk diterapkan dalam pemantauan kadar zat besi pada pasien dengan resiko *iron overload*.

Kata Kunci: Ion Besi, Magnetik, Pengendapan, Urin

Abstract

Iron overload can be caused by various factors, including genetic disorders such as hereditary hemochromatosis and secondary causes like repeated blood transfusions or excessive iron intake, which is often seen in thalassemia patients. This study aims to develop a new method for determining iron ion levels in urine. Several compounds that form iron precipitates were identified, resulting in iron deposits with paramagnetic properties, including sulfide, peroxide, and hydroxide. The optimal results were obtained from precipitation using hydroxide, based on stability parameters and sedimentation speed with a magnet. Urine samples were pre-treated with magnesium to avoid interference from phosphate ion precipitation. The optimum precipitation results using hydroxide were achieved at the third minute for iron ions at 0.5 – 2.5 g/L concentrations. The initial turbidity absorbance values obtained at the first minute ranged from 0.336 to 0.44. The maximum turbidity absorbance at maximum precipitation was found to be between 0.393 and 0.806, increasing with higher concentrations of Fe^{2+} in the solution. After magnetic retrieval with palladium to the bottom of the cuvette, the absorbance decreased and stabilized from the ninth minute onward, with an absorbance range of 0.047 – 0.173. The absorbance reached its lowest point at the fourteenth minute, showing a very close range between 0.002 and 0.03. The standard curve generated from the difference in turbidity absorbance of the precipitate and the supernatant absorbance after magnetization exhibited a linearity of 0.94.

Keywords: Iron ion, Magnetic force, Precipitation, Urine

PENDAHULUAN

Kelebihan besi dalam tubuh, atau iron *overload*, merupakan kondisi medis yang dapat menyebabkan kerusakan serius pada organ tubuh jika tidak terdiagnosis dan ditangani dengan tepat. *Iron overload* dapat disebabkan oleh berbagai faktor, termasuk gangguan genetik seperti hemokromatosis herediter dan penyebab sekunder seperti transfusi darah berulang atau asupan besi yang berlebihan seperti yang sering terjadi pada pasien *Thalasemia* (Palmer *et al.*, 2018). Transfusi darah adalah tindakan medis yang dibutuhkan penderita *Thalasemia*, namun dapat mengakibatkan akumulasi zat besi dalam tubuh. Penumpukan zat besi yang berlebihan dapat mengakibatkan komplikasi serius, termasuk sirosis hati, diabetes mellitus, dan penyakit jantung (Papanikolaou & Pantopoulos, 2005; Pietrangelo, 2016). Oleh karena itu, penting untuk melakukan analisis terhadap kadar besi dalam tubuh secara rutin untuk mencegah komplikasi tersebut.

Kandungan ion besi dalam tubuh dapat dimonitor secara kuantitatif menggunakan metode TIBC (*Total Iron Binding Capacity*), X-Ray CT, SQUID, dan Uji Ferritin (Saito, 2019). Namun keseluruhan test tersebut tidak selalu aplikatif bagi masyarakat dengan kondisi ekonomi terbatas di Indonesia. Meskipun pengukuran kadar ferritin merupakan indikator umum untuk mendeteksi kelebihan besi, pengujian ini memiliki beberapa kelemahan. Kadar ferritin yang tinggi dapat disebabkan oleh kondisi lain seperti inflamasi, konsumsi alkohol, penurunan fungsi hati, dan lainnya. Selain itu, peningkatan kadar ferritin tidak selalu terlihat pada tahap awal kelebihan besi pada pasien *Thalasemia* (Wang *et al.*, 2010).

Analisis kadar ion besi dalam urin dapat memberikan informasi tambahan, terlebih terhadap pertimbangan jumlah konsumsi suplemen zat besi penambah darah pada pasien *Thalasemia* (Howard *et al.*, 1991; Pietrangelo, 2016). Penentuan kadar ion besi dalam urin diharapkan dapat memberikan wawasan lebih jelas mengenai ekskresi besi dan metabolisme tubuh.

Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan metode baru dalam menganalisis kadar ion besi urin, sehingga kadar ion besi dapat terukur tanpa ada interverensi dari matrix lainnya. Pengembangan metode ini mencakup konversi ion besi menjadi oksida besi yang bersifat paramagnetik dan pemisahan menggunakan magnet. Analisis turbidimetri pada sampel sebelum dan setelah pemisahan menggunakan magnet palladium akan dilakukan dengan alat spektrofotometer UV-Vis sederhana. Penelitian ini dapat memberikan kontribusi signifikan terhadap pemantauan kadar zat besi di kalangan pasien *Thalasemia* dan meningkatkan

pemahaman tentang manajemen *iron overload* di Indonesia.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental yang dilakukan di Laboratorium Kimia, Program Studi Teknologi Laboratorium Medik Universitas Jenderal Achmad Yani (UNJANI). Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan metode baru dalam menentukan kadar ion besi (Fe^{2+}) dalam urin dengan menghasilkan data kuantitatif.

Sampel: Sampel urin diambil dari pasien yang telah mendapatkan persetujuan etik. **Reagen:** Larutan standar ion Fe(II) dari $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Merck). Agen presipitan: Natrium Sulfit (Na_2SO_3), Peroksida (H_2O_2), Hidroksida (NaOH), dan logam Zinc (Zn) (semua dari Merck). 1,10-Phenanthroline (Sigma Aldrich) untuk pengujian perbandingan. Magnesium Sulfat (MgSO_4) untuk menghilangkan gangguan dari ion fosfat. **Alat:** Spektrofotometer UV-Vis (Genesys 105 UV-Vis – ThermoScientific) untuk pengukuran turbiditas pada panjang gelombang 860 nm. Magnet koin Palladium untuk pemisahan (menarik) presipitat besi ke bagian bawah kuvet.

A. Persiapan Larutan Standar

Larutan standar ion Fe(II) dibuat dengan mencampurkan $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dalam air suling untuk mencapai konsentrasi yang diinginkan, berkisar antara 1 $\mu\text{mol/L}$ hingga 2 mmol/L.

B. Optimasi Agen Presipitan

Pada penelitian ini dilakukan optimalisasi pemilihan agen presipitan yang menghasilkan feromagnetik paling ideal. Pengujian dilakukan pada kadar ion besi 2mg/L. Dalam tahapan ini dilakukan pengujian pereaksian larutan standar ion besi $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ terhadap berbagai senyawa (H_2O_2 , Na_2SO_4 , NaOH, dan logam Zinc). Parameter yang diujikan ialah waktu pembentukan presipitat, yang berkorelasi dengan ukuran partikel yang dihasilkan. Parameter lain yang diujikan ialah kestabilan dengan memperhatikan kecepatan pembentukan presipitat, untuk mencegah terbentuknya oksida besi yang tidak dapat tertarik oleh magnet.

C. Optimasi Waktu Pembentukan Ion Besi

Optimasi waktu pembentukan presipitat ion besi, dan optimasi pengukuran kadar presipitat besi dilakukan dengan pengukuran turbiditas presipitat besi. Keseluruhan percobaan dilakukan

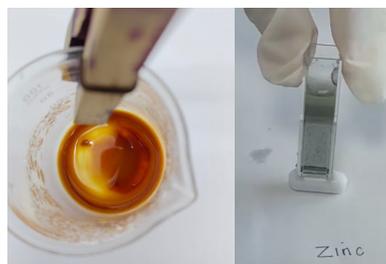
dengan menggunakan deret larutan standar ion besi $\text{Fe}(\text{SO}_4) \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dengan variasi konsentrasi 0,5gr/L; 1gr/L; 2gr/L; dan 2,5gr/L. Turbiditas larutan diukur menggunakan alat Spektrofotometer Uv-Vis pada panjang gelombang 860 nm.

D. Pengukuran Kadar Ion Besi Pada Urin

Persiapan Sampel Urin: MgSO_4 ditambahkan kedalam sampel urin untuk membentuk kompleks dengan ion fosfat, kemudian dilakukan sentrifugasi untuk menghilangkan gangguan (Bariyah et al., 2010). Larutan standar ion besi ditambahkan kedalam sampel urin dengan konsentrasi akhir 0,5gr/L; 1gr/L; 2gr/L; dan 2,5gr/L. Pengukuran absorbansi turbiditas dilakukan pada panjang gelombang 860 nm. Absorbansi sebelum dan setelah penarikan magnet dibandingkan untuk menentukan konsentrasi ion besi dalam urin.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini didapatkan bahwa tidak semua endapan besi memiliki sifat magnetik (dapat ditarik oleh magnet). Diantara oksida besi dan garam endapan besi yang bersifat paramagnetik diantaranya adalah FeO , Fe_3O_4 , $\text{Fe}(\text{OH})_2$ dan $\text{Fe}(\text{OH})_3$. Hasil presipitasi (pengendapan) ion besi menggunakan peroksida H_2O_2 menghasilkan $\text{Fe}(\text{OH})_3$ yang bersifat paramagnetik, namun sangat cepat untuk berubah menjadi Fe_2O_3 yang tidak bersifat magnetik (**Gambar 1** kiri). Sementara presipitasi menggunakan logam Zinc menghasilkan reaksi redoks spontan yang menghasilkan ion Zn^{2+} dan endapan besi Fe dengan sifat magnet yang besar. Meskipun demikian, reaksi ini berlangsung lambat dan sisa serbuk Zn yang tertinggal dapat memberikan absorbansi tambahan serta ikut tertarik oleh magnet (**Gambar 1** kanan).



Gambar 1. Presipitat $\text{Fe}(\text{OH})_3$ (kiri) hasil penambahan peroksida H_2O_2 , dan presipitat Fe (kanan) hasil penambahan Zinc



Gambar 2. Presipitat FeS dan FeSO₄ hasil penambahan reagen Na₂SO₄

Gambar 2 menunjukkan bahwa penggunaan sulfid yang berasal dari natrium sulfid (Na₂SO₃) menghasilkan presipitat berwarna hijau muda kekuningan, dengan ukuran partikel presipitat yang sangat kecil. Presipitat tersebut terdiri dari ferrous sulfate (FeSO₄) dan/atau ferrous sulfide (FeS), yang bersifat paramagnetik tetapi memiliki kecepatan penarikan magnet yang lebih lambat. Hal ini mungkin disebabkan oleh ukuran partikulatnya yang kecil, sehingga memperlambat proses penarikan magnet. Lambatnya penarikan ini juga menyebabkan permukaan presipitat lebih mudah teroksidasi oleh paparan oksigen dari udara, membentuk FeO atau Fe₂O₃, keduanya bersifat non-paramagnetik dan berwarna kuning karat. Sementara presipitasi ion Fe²⁺ menggunakan hidroksida dengan sumber NaOH, menghasilkan presipitat Fe(OH)₂ berwarna hijau toska tua, dengan pembentukan koagulasi presipitat yang relatif jauh lebih cepat dibandingkan presipitasi menggunakan sulfid, dan ukuran partikel yang lebih besar. Hal ini membuat presipitat besi tersebut dapat tertarik oleh magnet palladium dengan cepat, dan terlihat dengan jelas batas antara filtrat dengan supernatannya. Bahkan presipitat tersebut dapat pula mengendap dengan sendirinya tanpa bantuan magnet, walaupun dalam waktu yang lebih lama, sehingga mengakibatkan oksidasi pada komposisi besi di area permukaan sampel larutan. Pengendapan presipitat dengan magnet memerlukan waktu 5-8 menit hingga pengendapan optimal, sementara pengendapan tanpa bantuan magnet membutuhkan waktu setidaknya 11 menit dengan pengendapan yang belum optimal (masih terdapat presipitat kecil pada supernatan).

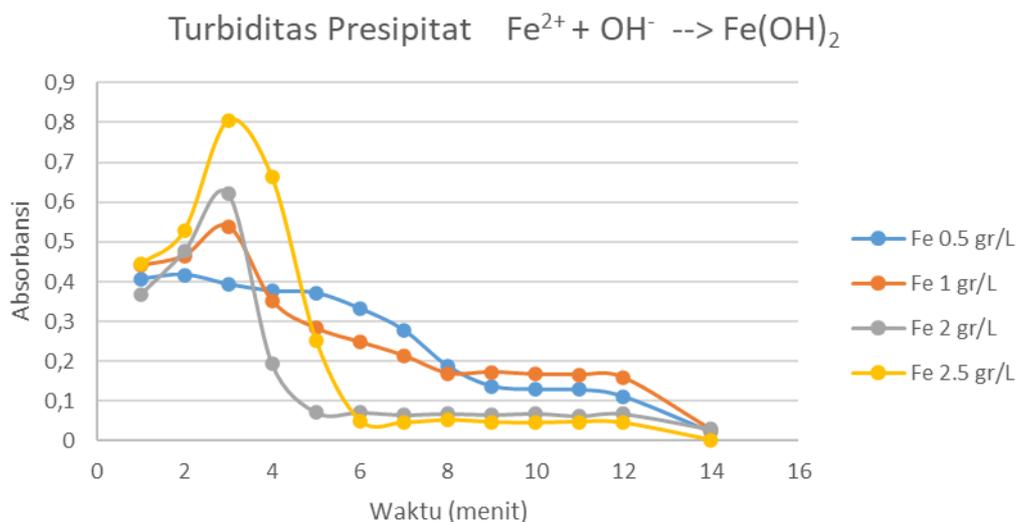


Gambar 3. Pengendapan presipitat Fe(OH)₂ dengan magnet (kuvet kiri) dan tanpa bantuan magnet (kuvet kanan)

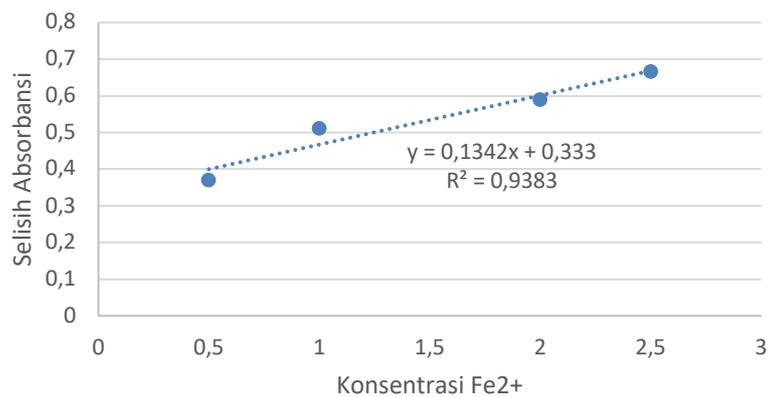
Kekeruhan yang timbul ialah hasil dari terbentuknya presipitat $\text{Fe}(\text{OH})_2$ yang kemudian ditarik oleh magnet. Absorbansi turbiditas sebelum dan setelah penarikan oleh magnet diukur dan dihitung selisihnya untuk menentukan konsentrasi ion besi dalam larutan. Sementara endapan ion besi dalam urin yang terbentuk berbeda morfologi serta sifatnya. Pengendapan ion besi dalam urin tidak menghasilkan endapan hijau toska tua seperti pada larutan standar, melainkan endapan hijau toska yang lebih cerah dan memiliki viskositas seperti gel dan cenderung lebih stabil terhadap pengendapan dengan magnet. Hal tersebut dikarenakan keberadaan ion fosfat PO_4^{3+} . Untuk mengatasi hal tersebut, maka sampel urin terlebih dahulu ditreatment dengan penambahan MgSO_4 untuk membentuk kompleks dengan ion fosfat, yang kemudian dilanjutkan dengan penambahan (*spiking*) standar ion besi.



Gambar 4. Deret standar $\text{Fe}(\text{OH})_2$ dalam larutan urin normal (0,5; 1; 2; 2,5 gr/L)



Gambar 5. Pengukuran Turbiditas - Absorbansi yang meningkat berdasarkan waktu, presipitasi optimal pada menit ke-3 dan turun setelah penarikan presipitat dengan magnet setelah menit ke-5



Gambar 6. Kurva Standar Pengukuran Fe²⁺ dari selisih absorbansi puncak dan absorbansi dasar

Dilakukan optimasi waktu pembentukan presipitat ion besi, lalu didapatkan hasil pengendapan optimum pada menit ke 3, untuk ion besi dengan kadar 0,5 – 2,5 gr/L. Nilai absorbansi awal yang diperoleh pada menit ke-1 berada pada rentang 0,336 – 0,44. Dan absorbansi maksimum ketika dicapai presipitasi maksimum ialah pada rentang 0,393 – 0,806, meningkat seiring dengan kenaikan konsentrasi Fe²⁺ dalam larutan. Setelah penarikan dengan magnet palladium ke dasar kuvet, absorbansi menurun dan stabil semenjak menit ke 9, dengan range absorbansi 0,047 – 0,173. Absorbansi mencapai titik terendahnya pada menit ke-14 dengan range absorbans yang sangat dekat antara 0,002 – 0,03. Seluruh kuvet dengan berbagai standar konsentrasi memberikan nilai absorbansi akhir di titik yang berdekatan, yang menunjukkan bahwa nilai absorbansi tersebut merupakan hasil serapan noise komponen lain selain ion besi. Kurva standard yang dihasilkan dari selisih absorbansi turbiditas presipitat dengan absorbansi supernatant setelah magnetisasi memiliki linearitas 0,94. Hal ini memberikan gambaran yang sangat baik terhadap metode pengukuran kadar ion besi dalam larutan dengan cara presipitasi ion besi diikuti pengukuran selisih absorbansi turbiditas dengan penarikan magnetik.

SIMPULAN

Penelitian ini berhasil mengembangkan metode baru untuk menentukan kadar ion besi dalam urin dengan menggunakan teknik presipitasi yang diikuti dengan pengukuran turbiditas dan pemisahan menggunakan magnet. Metode ini menunjukkan efektivitas dalam memisahkan ion besi dari matriks lain. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan hidroksida sebagai

agen presipitan menghasilkan endapan yang optimal pada menit ketiga. Nilai absorbansi turbiditas yang diperoleh menunjukkan peningkatan seiring dengan meningkatnya konsentrasi Fe^{2+} , dan linearitas kurva standar mencapai 0,94, menandakan hubungan yang baik antara konsentrasi ion besi dan selisih absorbansi. Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengkaji validitas, reliabilitas, akurasi, dan presisi dari metode yang telah dikembangkan dalam pengukuran kadar ion besi dalam urin ini. Pengujian dapat mencakup analisis sensitivitas dan spesifisitas metode terhadap variasi konsentrasi ion besi serta pengaruh dari komponen lain dalam sampel urin. Selain itu, dapat pula dilakukan studi perbandingan dengan metode pengukuran konvensional untuk mengevaluasi kinerja metode baru ini.

REFERENSI

- Bariyah, K., Nuryanto, R., & Suyati, L. (2010). Pengaruh Kation Fe^{2+} terhadap Proses Elektrokimiawi Magnesium pada Model Larutan Pekatan Air Laut (Bittern). *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi*, 13(3), 95–100. <https://doi.org/10.14710/JKSA.13.3.95-100>
- Howard, R. L., Buddington, B., & Alfrey, A. C. (1991). Urinary albumin, transferrin and iron excretion in diabetic patients. *Kidney International*, 40(5), 923–926. <https://doi.org/10.1038/KI.1991.295>
- Palmer, W. C., Vishnu, P., Sanchez, W., Aqel, B., Riegert-Johnson, D., Seaman, L. A. K., Bowman, A. W., & Rivera, C. E. (2018). Diagnosis and Management of Genetic Iron Overload Disorders. *Journal of General Internal Medicine*, 33(12), 2230. <https://doi.org/10.1007/S11606-018-4669-2>
- Papanikolaou, G., & Pantopoulos, K. (2005). Iron metabolism and toxicity. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 202(2), 199–211. <https://doi.org/10.1016/J.TAAP.2004.06.021>
- Pietrangelo, A. (2016). Iron and the liver. *Liver International*, 36, 116–123. <https://doi.org/10.1111/LIV.13020>
- Saito, H. (2019). Storage Iron Turnover from a New Perspective. *Acta Haematologica*, 141(4), 201–208. <https://doi.org/10.1159/000496324>
- Wang, W., Knovich, M. A., Coffman, L. G., Torti, F. M., & Torti, S. V. (2010). Serum ferritin: Past, present and future. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1800(8), 760–769. <https://doi.org/10.1016/J.BBAGEN.2010.03.011>