

1. Pemeriksaan sitokin-sitokin lain yang mempengaruhi produksi *hepcidin* seperti IL-1 dan TGF- β .
2. Perlu dilakukan penelitian lanjut mengenai fungsi kognitif bagi subjek yang sudah mengalami gangguan homeostasis besi.

Saran untuk pelayanan

1. Pada anak obes umur 12-14,75 tahun harus dilakukan upaya pencegahan berlanjutnya GHB melalui pengendalian BB dengan cara intervensi diet, peningkatan aktivitas fisik, perubahan perilaku makan, dan konseling.
2. Perlu dilakukan pengawasan lanjut terhadap sampel yang sudah inflamasi, *hepcidin* tinggi, dan GHB untuk dilakukan intervensi sejak dini untuk mencegah gangguan fungsi kognitif.
3. Penelitian ini mendukung data anak obes di Indonesia, yaitu obesitas pada anak menjadi ancaman terhadap kesehatan masyarakat, sehingga memerlukan perhatian khusus dari semua pihak dalam upaya pencegahan obesitas.

DAFTAR PUSTAKA

- Aeberli, I., Hurrell, R.F., Zimmermann, M.B. 2009. Overweight Children Have Higher Circulating Heparin Concentrations and Lower Iron Status but Have Dietary Iron Intakes And Bioavailability Comparable with Normal Weight Children. *Int J Obes* 33: 1111-7.
- Agustriadi, O. dan Suega, K. 2006. Tinjauan Pustaka: *Hepcidin pada anemia penyakit kronik*. *Jurnal Penyakit Dalam*: 141-8.

- Alemzadeh, R., Lifshitz, F., Rising, R. (Ed). 2007. Obesity in children. Dalam: *Pediatric Endocrinology*. London: 1-25.
- Andrews, N.C. 2008. Forging a Field: The Golden Age of Iron Biology. *Blood Journal* 112: 219-30.
- Anttila, R., Cook, J.D., Siimes, M.A. 1997. Body Iron Stores in Relation to Growth and Pubertal Maturation in Healthy Boys. *J Haematol* 96; 12-8.
- Black, S., Kushner, I., Samols, D. 2004. C-Reactive Protein. *J Biochem*. 279;47: 48487-90.
- Chudek, J. dan Wiecek, A. 2008. Adipose Tissue, Inflammation and Endothelial Dysfunction. *Pharmacological Reports* 58: S81–8.
- Chung, B., Matak, P., McKie, A.T., Sharp, P. 2007. Leptin Increase The Expression of The Iron Regulatory Hormone Hecpidin In Huh7 Human Hepatome Cells. *J Nutr*. 2366–70.
- Deicher, R. dan Horl, W.H. 2004. Hecpidin: A Molecular Link Between Inflammation and Anaemia. *Nephrol Dial Transp*, 19: 521-4.
- DRG Prohormon ELISA. 2007. *Hecpidin analysis*. USA: DRG International Corp.
- Dwyer, T. 1995. Hyperlipidemia in children. *Hongkong J Paediatr*. 1: 69-76.
- Elmqvist, J.K., Ahima, R.S., Elias, C.F., Flier, J.S., Saper, C.B. 1998. Leptin Activates Distinct Projections from Dorsomedial and Ventromedial Hypothalamic Nuclei. *Proc Nat Acad Sci USA* 95: 741-6.
- Elghetany, M.T. dan Banki, K. 2007. Erythrocytic disorders. Dalam: *Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*. Philadelphia. 507.
- Endo, H., Takagi, Y., Nozue, T. 1992. Benefician Effects of Dietary Intervention of Serum Lipid and Apoprotein Levels in Obese Children. *AJDC* 146: 303 – 5.
- Gabay, C. 2006. Interleukin-6 and Chronic Inflammation. *Arth Reas*, 8:S2-S3.
- Ganz, T. 2006. Iron in hematology: Hecpidin and Its Role in Regulating Systemic Iron Metabolism. *J Haematol*: 29-35.

- Gidding, S.S., Bao, W., Srinivasan, S.R., Brenson, G.S. 1995. Effects of Secular Trends in Obesity on Coronary Risk in Children: The Bogalusa heart study. *J Pediatr* 127: 868-74.
- Giudiche, E.M., Santoro, N., Amato, A., Brienza, C., Calabro, P., Wiegerinck, E.T. 2009. Hcpidin in Obese Children as a Potentian Mediator of The Association between Obesity and Iron Deficiency. *J endocrinol* 94: 5102-7.
- Glader, B. 2006. Anemia of Inadequate Production: Anemia of Chronic Disease. In: Behrmen, R.E., Kliegman, R.M., Arvin, A.M. (Eds). *Nelson Textbook of Pediatrics*, 18th eds. Philadelphia: Saunders Elsevier Co.
- Guillaume, M. 1999. Defining Obesity in Childhood: Current Practice. *Am J Clin Nutr* 70: 126S-130S.
- Hamiel, O.P., Newfield, R.S., Koren, I., Agmon, A., Lilos, P., Philip, M. 2003. Greater Prevalence of Iron Deficiency in Overweight and Obese Children and Adolescents. *Int J Obes.* 27: 416-8.
- Hidayati, Irawan, Hidayat. 2009. *Obesitas Pada Anak*. BIKI FK UNAIR. RS Dr Setomo.
- Hegyl, K., Fulop, K., Kovacs, K., Toth, S., Falus, A. 2004. Leptin – induced signal transduction pathway. *Cell Biol Int* 28: 159-69.
- Heird WC. 2002. Parenteral Feeding Behavior and Children's Fat Mass. *Am J Clin Nutr* 75: 451-2.
- Heinrich, P.C., Behrmann, I., Haan, S., Hermann, H.M., Newn, M.V., Schaper, F. 2003. Principles of Interleukin (IL)-6 Type Cytokine Signaling and Its Regulation. *J Biochem* 347: 1-20.
- Hilmah, R., Prawirohartono, E.P., Julia, M. 2008. Association between Obesity and Lipid Profile in Children 10-12 years.
- Hintze, K.J. dan Clung, J.P. 2011. Hcpidin: A Critical Regulator of Iron Metabolism During Hypoxia. *Advances in Hematology*. USA.
- Hoffbrand, A.V., Pettit, J.E., Moss, P.A.H. 2005. Anemia Hipokrom dan Penimbunan Besi. Dalam: *Kapita Selektta Hematologi*. Edisi 4. Jakarta: 21-4.
- Iron Disorder Institute. Nov 3rd 2006. *Anemia of Chronic Disease*, 2.

- Jialal, I., Devaraj, S., Singh, U. 2006. C-Reactive Protein and The Vascular Endothelium, Implication for Plaque Instability. *JACC*, 47: 1379-81.
- Kemna, E.H.J.M., Tjalsma, H., Willems, H.L., Swinkels, D.W. 2008. *Hepcidin: From Discovery to Differential Diagnosis*. *Haematologica*, 93: 90-7.
- Krebs, N.F., Himes, J.H., Jacobson, D., Nicklas, T.A., Guilday, P., Styne, D. 2007. Assessment of Child and Adolescent Overweight and Obesity. *J Pediatr* 120: 193-228.
- Kroot, J.J.C., Larakkers, C.M.M., Kemna, E.H.M.J., Biemond, B.J., Swinkels, D.W. 2009. Letters to Editors: Regulation of Serum Hepcidin Level in Sickle Cell Disease. *Haematologica*, p.886.
- Lauches, B.C. 2011. Soluble Transferrin Receptor Assay - A Differentiator for Diagnosing Iron Deficiency Anaemia.
- Lestari ERP. 2008. *Diabetes mellitus pada obesitas*, 2.
- Lissau, I. dan Sorensen, T.I.A. 1994. Parental Neglect During Childhood and Increase Risk of Obesity in Young Adulthood. *Lancet* 343: 324-7.
- Moller, R., Tafeit, T.E., Sudi, T.K., Reibnegger, G. 2000. Quantifying the Appleness or Pearness of The Human Body by The Subcutaneous Adipose Tissue Distribution. *Ann Hum Biol* 27: 47-55.
- Moran, R. 1999. Evaluation and Treatment of Childhood Obesity. *Am Fam Physician* 59: 859-73.
- Morrison, J.A., Barton, B., Biro, F.M., Sprecher, D.L., Falkner, F., Obarzanek, E. 1994. Sexual Maturation and Obesity in 9- and 10-Year Old Black and White Girls: The National Heart, Lung and Blood Institute Growth and Health Study. *J Pediatr* 124: 889-95.
- Musrifa, S. 2006. *Perbandingan Kadar C-Reaktif Protein pada Penderita Preeklampsia dan Hamil Normal*, FKUI.
- Neels, J.G. dan Olefsky, J.M. 2006. Inflamed Fat: What Start The Fire?. *J Clin Invest*. 116: 33-5.
- Nicolas, G., Vaulont, S., Kahn, A. 2007. *Use of Hepcidin as A Regulator of Iron Homeostasis*.
- Nasar, S.S. 1995. Obesitas pada Anak: Aspek Klinis dan Pencegahan. Dalam: Samsuddin, Nasar, S.S., Sjarif, D.R. (Ed). *Masalah Gizi Ganda dan*

- Tumbuh Kembang Anak. Naskah lengkap Pendidikan Kedokteran Berkelanjutan Ilmu Kesehatan Anak XXXV; Jakarta 11-12 Agustus 1995. Jakarta: Binarupa Aksara: h. 68 – 81.
- Nead, K.G., Halterman, J.S., Kaczorowski, J.M., Auinger, P., Weitzman, M. 2009. Overweight Children and Adolescents: A Risk Group for Iron Deficiency. *J Pediatr*. 114: 104-8.
- Pi-Sunver, F.X. 1994. Obesity. Dalam: Shils, M.E., Olson, J.A., Shike, M. (Ed). *Modern Nutrition in Health and Disease*. Edisi ke-7, Tokyo: Lea & Fabigen; h. 984-1006.
- Pepys, M.B. dan Hirschfield, G.M. 2003. C-Reactive Protein: A Critical Update. *J Clin Invest*. 111: 1805-12.
- Prestegard, E. 2006. The Future of Point of Care Testing Using C-Reactive Protein an Ideal Tool for Diagnosis, Prognosis, and Therapy Management. *European endocrine review*.
- Ray, R.M. 2001. Always Management in The Obese Child. *Pediatr Clin North Am* 48: 1055-63.
- Richardson, M.W., Visintainer, P.F., Wittcop, C.A. 2009. The Abnormal Measures of Iron Homeostasis in Pediatric Obesity are Associated with The Inflammation of Obesity. *J Pediatr Endocrinol*. 713269.
- Sacher, R.A. dan McPerson, R.A. 2004. Metode Hematologi. Dalam: *Tinjauan Klinis Hasil Pemeriksaan Laboratorium*. Edisi 11. Jakarta. 21-41.
- Samsudin. 1993. *Obesitas pada Anak, Penanggulangan dan Pencegahannya*. Disampaikan pada Kongres Nasional Ilmu Kesehatan Anak ke-X, Semarang, 13 – 17 Juni 1993.
- Satoto, Karati, S., Darmojo, B., Tjokroprawiro, A., Kodyat, B.A. 1998. Gemuk, Obesitas dan Penyakit Degeneratif. Dalam: *Epidemiologi dan Strategi Penanggulangan*. Widyakarta Nasional Pangan dan Gizi VI, Serpong, 17-20 Februari 1998: 787-808.
- Sbarbati, A., Osculati, F., Silvagni, D., Benati, D., Galie, M., Camoglio, F.S., Rigotti, G., Maffei, C. 2009. Obesity and Inflammation: Evidence for An Elementary Lesion. *AAP*: 220-3.
- Semple, S.J. 2006. C-Reactive Protein - Biological Function, Cardiovascular Disease and Physical Exercise. *SAJSM*, 18: 24-8.

- Sjarif, D.R. 2002. Obesitas pada Anak dan Permasalahannya. Dalam: Trihono, P.P., Purnamasi, S., Sjarif, D.R., Hegar, B., Gunardi, H., Oswari, H., (Ed). *Hot Topics in Pediatrics II*. Naskah Lengkap Pendidikan Kedokteran Berkelanjutan Ilmu Kesehatan Anak XLV, Jakarta, 18-19 Februari 2002. Jakarta: Balai penerbit FKUI; h. 219-34.
- Skinner, A.C., Steiner, M.J., Henerson, F.W., Perrin, E.M. 2010. Multiple Markers of Inflammation and Weight Status: Cross Sectional Analyses Throughout Childhood. *J Pediatr*: 125: 801-9.
- Slyper, A.H. 1998. Childhood Obesity, Adipose Tissue Distribution, and The Pediatric Practitioner. *J Pediatr*, 102: 1-9.
- Soedibyo, S., Firmansyah, A., Djer, M.M. 1998. Prevalence and Influencing Factors of Obesity in Elementary School Pupils. *Pediatr Indones*. 38: 193-204.
- Styne, D. 2001. Childhood and Adolescent Obesity. Prevalence and Significance. *Pediatr Clin North Am* 48: 823 – 54.
- Taiz, L.S. 1991. Obesity. Dalam: McLaren, D.S., Burman, D., Belton, N.R., Williams, A.T. (Ed). *Textbook of Paediatric Nutrition*. Edisi ke-3. Edinburg: Churchill Livingstone; h. 485-509.
- Tilg, H. dan Moschen, A.R. 2006. Adipocytokines Mediators Linking Adipose Tissue, Inflammation and Immunity. *Nature Rev Immunol* 6: 772-83.
- Trayhurn, P. 2005. Adipose Tissue in Obesity - An Inflammatory Issue. *J Endocrinol*: 1003-5.
- Valle, M., Martos, R., Gascon, F., Canete, R., Zafra, M.A., Morales, R. 2005. Low Grade Systemic Inflammation, Hypoadipopectinemia and A High Concentration of Leptin are Present in Very Young Obese Children, and Correlate with Metabolic Syndrome. *Diabetes Metab* 31: 55-62.
- Vanitallia TB. 1998. Predicting obesity in children. *Nutr Rev* 56: 154-155.
- Weiss, G. dan Goodnough, L.T. 2005. Medical Progress: Anemia of Chronic Disease. *J N Engl* 352:1011-23.
- Wellen, K.E. dan Hostamisliligil, G.S. 2003. Obesity Induced Inflammatory Changes in Adipose Tissue. *J Clin Invest* 112: 1785-8.

- Whitaker, R.C., Wright, J.A., Pepe, M.S., Seidel, K.D., Dietz, W.H. 1997. Predicting Obesity in Young Adulthood from Children and Parenteral Obesity. *N Engl J Med* 337: 869-73.
- Wirawan, R. 2011. *Pemeriksaan Laboratorium Hematologi*. Badan Penerbit FK-UI. Jakarta: 205-7.
- Woorwood, M. 2001. Iron Deficiency Anemia and Iron Overload. Dalam: Lewis, S.M., Bain, B.J., Bates. *Dacie and Lewis Practical Haematology*. Churchill Livingstone: 115-24.
- Xu, H. 2003. Chronic Inflammation in Fat Plays A Crucial Role in The Development of Obesity – Related Insulin Resistance. *J Clin Invest* 112: 1821- 30.
- Yager, J.Y. dan Harfield, D.S. 2002. Neurologic Manifestations of Iron Deficiency in Childhood. *Pediatr Neurol* 27: 85-92.

Lampiran 1

NASKAH PENJELASAN UNTUK MENDAPAT PERSETUJUAN DARI KELUARGA/ SUBYEK PENELITIAN

Peranan *Hepcidin* Terhadap Status besi pada inflamasi akibat obesitas pada anak

Obesitas pada anak merupakan salah satu masalah kesehatan yang paling penting di berbagai negara. Obesitas merupakan keadaan patologik dengan terdapatnya penimbunan lemak yang berlebihan dari yang diperlukan untuk fungsi. Terdapat berbagai masalah kesehatan yang akan timbul

sehubungan dengan kondisi obesitas antara lain terjadinya peradangan kronik. Akibatnya, dapat mempengaruhi gangguan keseimbangan besi didalam tubuh. Berupa besi cadangan bisa normal atau meningkat, tapi besi dalam sirkulasi darah menurun, yang jika berlangsung lama akan menyebabkan suatu keadaan di mana darah tidak mampu mengerjakan tugasnya (mengantarkan oksigen dan zat-zat gizi ke seluruh bagian tubuh) secara adekuat. Kondisi ini dapat mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan anak, termasuk tingkat intelegensia/kecerdasan anak.

Kejadian akibat obesitas tersebut berhubungan dengan keberadaan suatu hormon yang disebut *hepcidin*.

Kami bermaksud mengadakan penelitian untuk mempelajari peranan *hepcidin* sebagai nilai diagnostik pada penderita obesitas yang mengalami gangguan keseimbangan besi tubuh. Diharapkan hasil penelitian ini akan bermanfaat untuk penanganan penderita yang mengalami gangguan keseimbangan besi tubuh akibat obesitas dan juga membantu pemerintah dalam rangka upaya menurunkan angka kejadian obesitas dengan segala konsekuensinya. Bila ibu/bapak setuju untuk berpartisipasi diharapkan ibu/bapak dapat memberikan persetujuan secara tertulis.

Kami akan menanyakan dan mencatat identitas anak/kemenakan ibu/bapak (nama, alamat, tanggal lahir, jenis kelamin, jenis makanan yang dimakan sehari-hari, riwayat mendapatkan tablet penambah darah, riwayat transfusi), serta penyakit lain yang diderita anak/kemenakan ibu/bapak. Selanjutnya akan dilakukan pemeriksaan meliputi pengukuran berat badan dan tinggi badan pada anak/kemenakan ibu/bapak.

Kami akan melakukan pemeriksaan darah anak gemuk kemudian mengukur kadar *hepcidin*, IL-6, *ferritin*, sTfR. Pengambilan darah akan dilakukan oleh petugas laboratorium yang sudah terlatih dan berpengalaman dengan menggunakan jarum suntik sekali pakai (masing-masing satu jarum untuk anak), semua biaya pemeriksaan akan ditanggung oleh peneliti.

Pengambilan darah sebanyak 5 cc akan dilakukan pada pembuluh darah vena di lengan anak. Efek samping yang dapat timbul akibat pengambilan darah ini adalah nyeri, bisa pusing, dan bahkan bisa terjadi ayok bila volume yang diambil terlampaui banyak. Namun pengambilan darah ini dilakukan oleh petugas terlatih sehingga efek samping seperti itu sangat kecil kemungkinannya, dan bila hal itu terjadi kami menyiapkan segala sarana yang dibutuhkan untuk penanganan efek samping tersebut secara memadai. Semua biaya pemeriksaan dan efek samping bila ada akan ditanggung oleh peneliti.

Keikutsertaan anak/kemenakan ibu/bapak dalam penelitian ini bersifat suka rela tanpa paksaan, karena itu ibu/bapak dapat menolak ikut atau

berhenti ikut dalam penelitian ini tanpa takut akan kehilangan hak untuk mendapat pelayanan kesehatan yang dibutuhkan oleh anak/ kemenakan ibu/bapak.

Semua data dari penelitian ini akan dicatat dan dipublikasikan tanpa membuka data pribadi anak/kemenakan ibu/bapak. Data pada penelitian ini akan dikumpulkan dan disimpan dalam data manual maupun elektronik

Setelah membaca dan mengerti atas penjelasan yang kami berikan mengenai pentingnya nilai diagnostik *hepcidin* serta tindakan yang akan kami lakukan, kami mengucapkan terima kasih atas kesediaan ibu/bapak bergabung dengan kami demi kesembuhan anak ibu/bapak, serta partisipasinya dalam perkembangan ilmu pengetahuan.

Tanda tangan/identitas peneliti:

Nama : dr. Nadirah Rasyid Ridha, M.Kes, SpA
Alamat : Taman Sudiang Indah Blok A4 No 5, Makassar
Telepon : 081355353592

Lampiran 2

SURAT PERSETUJUAN

Setelah mendengar, mengikuti, dan menyadari pentingnya penelitian:

PERAN HEPCIDIN TERHADAP STATUS BESI PADA INFLAMASI AKIBAT OBESITAS PADA ANAK

Maka saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama :
Umur :
Alamat :

Menyetujui anak saya: diikutkan dalam penelitian ini.

Nama :

Jenis Kelamin: Laki/Perempuan

Umur :tahun

Alamat :

Saya mengerti bahwa pada pengambilan darah anak/kemakanan saya, darah diambil dengan memakai spuit sebanyak 5 cc dengan jarum sekali pakai melalui pembuluh darah vena di lengan. Saya mengerti bahwa dapat terjadi keluhan seperti nyeri atau pusing bahkan sampai syok bila volume yang diambil terlampau banyak dan saya mengerti bahwa volume darah yang diambil pada anak/kemakanan saya ini masih dalam batas aman, seta dalam pengawasan petugas yang seksama oleh orang yang terlatih, sehingga kemungkinan sangat kecil terjadi kondisi yang membahayakan tersebut. Namun jika terjadi kondisi yang membahayakan, maka pihak peneliti dan petugas telah menyiapkan fasilitas penanganan yang optimal dan memadai. Semua biaya pemeriksaan dan biaya pengobatan bila terjadi komplikasi yang membahayakan tersebut ditanggung oleh peneliti.

Makassar,

2012

Saksi

Orangtua/Wali

1.....

(.....)

2.....

Penanggung jawab Medis

Penanggung Jawab Peneliti

Prof. Dr. dr. Dasril Daud, SpA(K)

dr. Nadirah Rasyid Ridha. M.Kes. SpA

Lampiran 3

KOMISI ETIK PENELITIAN BIOMEDIS PADA MANUSIA

FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS HASANUDDIN

KETERANGAN KELAIKAN ETIK

(*ETHICAL CLEARANCE*)

No:

Komisi Etik Biomedis pada Manusia, Fakultas Kedokteran Universitas Hassanuddin telah mempelajari dengan seksama Rancangan Penelitian yang diajukan dengan judul:

**PERANAN HEPCIDIN TERHADAP STATUS BESI PADA
INFLAMASI AKIBAT OBESITAS PADA ANAK**

Nama : Nadirah Rasyid Ridha

Nomer CHS : P0200310011

Pembimbing : Prof.Dr.dr. Dasril Daud, SpA(K)

Menyatakan **memenuhi persyaratan etik** untuk pelaksanaan penelitian dengan catatan sewaktu-waktu komisi dapat melaksanakan pemantauan.

Makassar,

Ketua Komisi Etik Fakultas Kedokteran

Prof. Dr.dr.Suryani As'ad,M.Sc.SpGK

NIP 131 569 703

Lampiran 4.

**PROSEDUR PENGUKURAN STATUS GIZI
DENGAN MENGGUNAKAN GRAFIK NCHS 2000**

I. Alat dan bahan:

- a. Timbangan berdiri yang sudah ditera dengan ketelitian 0,1 kg (100 gram)
- b. Pita ukur plastik dengan ketelitian 0,1 cm
- c. Grafik *length-for-age* dan *weight-for-age percentile; 2 to 20 years; boys*

d. Grafik *length-for-age* dan *weight-for-age percentile; 2 to 20 years; girls*

II. Cara pengukuran:

- a. Berat badan siswa diukur dengan menggunakan timbangan injak yang sudah ditera dengan ketelitian 0,1 kg dalam pakaian ringan.
- b. Tinggi badan diukur menggunakan pita ukur plastik yang sudah ditera dengan ketelitian 0,1 cm, tanpa alas kaki, dari ujung kepala sampai ke tumit, diusahakan siswa berada pada satu garis lurus.
- c. Plotkan ukuran panjang badan tersebut pada kurva yang sesuai dengan umur dan jenis kelamin siswa, tarik garis lurus sampai memotong persentil 50, beri tanda pada titik potong tersebut. Tarik garis lurus sampai pada pinggir kurva berat badan. Pada titik tersebut adalah berat badan ideal yang sesuai dengan tinggi badan penderita.
- d. Tentukan status gizi penderita tersebut dengan memakai rumus BB aktual dikali 100% dan dibagi dengan BB ideal.

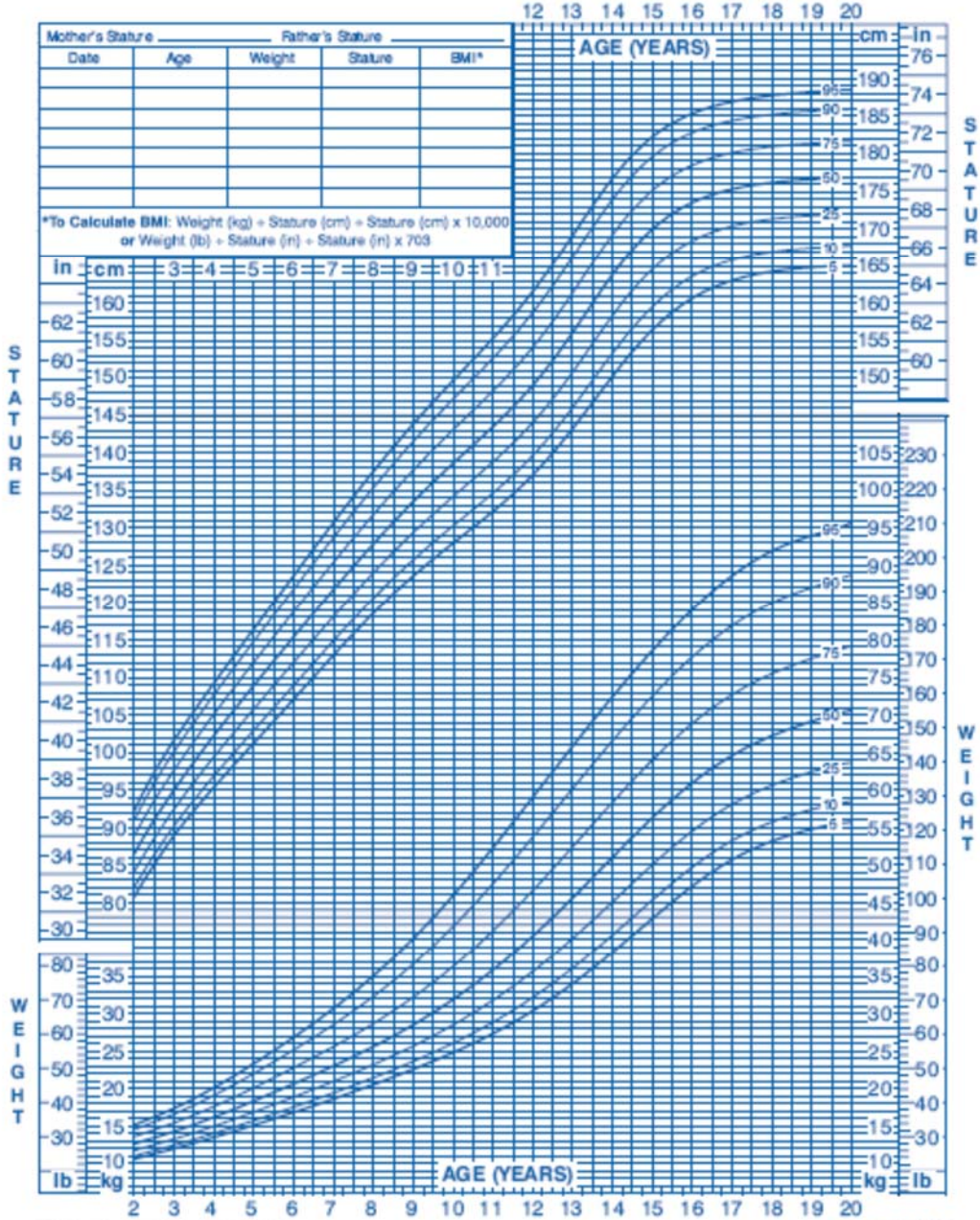
III. Interpretasi:

- a. Obesitas, jika hasil perhitungan memakai rumus $\geq 120\%$
- b. Overweight, jika hasil perhitungan memakai rumus terletak antara 110% sampai dengan 120%
- c. Gizi baik, jika hasil perhitungan memakai rumus terletak antara 90% sampai dengan 110%
- d. Gizi kurang, jika hasil perhitungan memakai rumus terletak antara 70% sampai dengan 110%

e. Gizi buruk, jika hasil perhitungan memakai rumus $< 70\%$

2 to 20 years: Boys
Stature-for-age and Weight-for-age percentiles

NAME _____
 RECORD # _____



Published May 30, 2000 (modified 11/21/03).
 SOURCE: Developed by the National Center for Health Statistics in collaboration with the National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion (2000).
<http://www.cdc.gov/growthcharts>

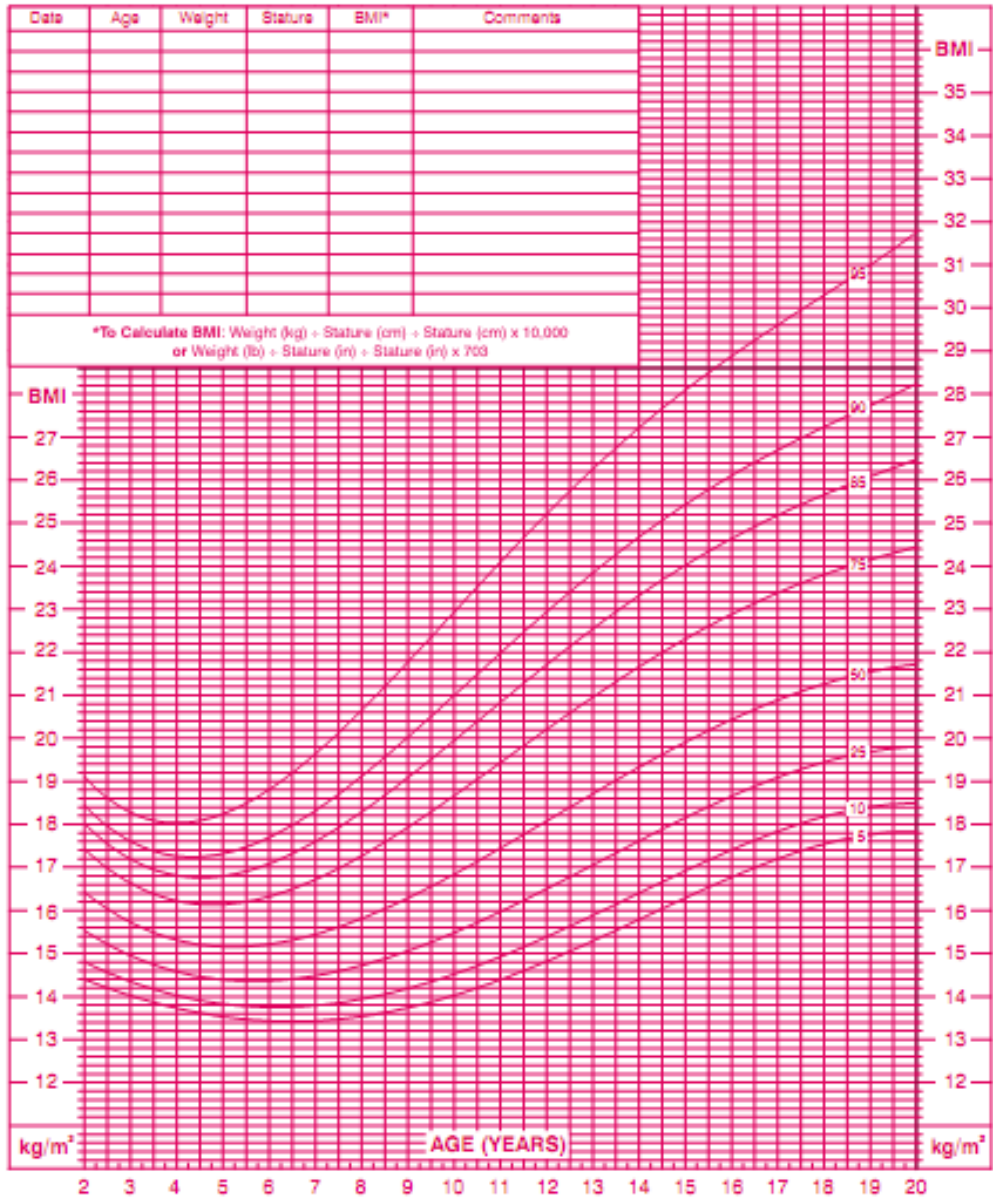


SAFER • HEALTHIER • PEOPLE™

2 to 20 years: Girls
Body mass index-for-age percentiles

NAME _____

RECORD # _____



Published May 30, 2000 (modified 10/16/00).
 SOURCE: Developed by the National Center for Health Statistics in collaboration with
 the National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion (2000).
<http://www.cdc.gov/growthcharts>



Lampiran 6

Prosedur pemeriksaan *Hepcidin*

➤ *Persiapan pasien*

- ✓ Memberi penjelasan pada orang tua pasien mengenai tindakan pengambilan darah vena.
- ✓ Menenangkan subyek penelitian

➤ *Persiapan spesimen*

Alat dan bahan

- ✓ *Disposable syringe* 3 ml
- ✓ Alkohol, kain kasa dan plester
- ✓ Lidocain 0,5% (bila perlu)
- ✓ Pipet bermeter
- ✓ Tabung polipropilen dengan antikoagulan (lithium heparin) berukuran 5 ml dan 2 ml
- ✓ Media transpor dengan es
- ✓ Media penyimpanan (lemari pendingin)
- ✓ Media pengiriman (*dry-ice* dengan *express mail*)
- ✓ DRG *Hepcidin* Prohormone ELISA Kit EIA-4644

Pengambilan spesimen (serum)¹⁶

- ✓ Subyek yang telah memenuhi kriteria inklusi kemudian diambil sampel darahnya melalui vena perifer sebanyak 2 ml dan dimasukkan ke dalam tabung polipropilen ber-EDTA ukuran 5 ml.
- ✓ Waktu pengambilan sampel darah diseragamkan pada pagi hari jam 10.00 oleh 1 petugas terlatih dan spesimen diberi label identitas subyek penelitian.
- ✓ Sampel darah kemudian dibiarkan agar mengendap (*clotting*) selama 30 menit pada suhu kamar (19-24°C) dan serumnya dipisahkan dengan cara sentrifusi pada kecepatan 2200 x g selama 10 menit.¹⁶
- ✓ Serum *dipipet* segera setelah sentrifugasi dengan pipet sebanyak 0,5 – 1 ml dan masukkan ke dalam tabung polipropilen berukuran 2 ml.
- ✓ Tabung tersebut diberi label/kode subjek

Penyimpanan dan pengiriman spesimen

- ✓ Spesimen serum disimpan pada suhu -80°C . Hindari *freeze-thaw cycle* (spesimen hanya boleh membeku sekali hingga saat pemeriksaan laboratorium dilakukan). Setelah semua jumlah spesimen yang dibutuhkan terkumpul, spesimen kemudian dikirim dengan media transport spesimen (*dry-ice* dengan *express mail*).
- *Pemeriksaan hepcidin*

Prinsip pengujian

DRG *Hepcidin Prohormone ELISA Kit* adalah suatu *solid phase enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)* yang kerjanya berdasarkan pada prinsip *competitive binding*. Sumur-sumur mikrotiter dilapisi dengan antibodi poliklonal terhadap *antigenic site* pada molekul prohormon *Hepcidin* (28-47 aa). Prohormon *hepcidin* endogen dari sampel pasien berkompetisi dengan konjugat biotin prohormon *hepcidin* untuk berikatan dengan antibodi pelapis tersebut. Setelah inkubasi, konjugat yang tidak terikat kemudian dicuci. Jumlah dari konjugat biotin yang terikat adalah proporsi terbalik terhadap konsentrasi prohormon *hepcidin* dalam sampel tersebut. Setelah penambahan larutan substrat tersebut, maka intensitas warna yang terjadi merupakan proporsi terbalik terhadap konsentrasi prohormon *hepcidin* dalam sampel pasien.

Cara kerja

Komponen kit

1. Isi kit
 - a. Sumur-sumur mikrotiter, terdiri atas 12 x 8 strip, 96 sumur; masing-masing sumur dilapisi dengan antibodi anti-*hepcidin* (poliklonal).
 - b. *Standard (standard 0-6)*, 7 vial (*lyophilized*), 1 mL; konsentrasi 10, 50, 100, 250, 500, 1000 ng/mL peptida *hepcidin* sintetik (28-47). Berisi methylisothiazolone < 0,02% dan bromonitrodioxane < 0,02% sebagai pengawet.
 - c. Kontrol, 1 vial (*lyophilized*), 1 mL, nilai kontrol dan rentangannya terlampir pada label vial atau *QC-Datasheet*. Berisi methylisothiazolone < 0,02% dan bromonitrodioxane < 0,02% sebagai pengawet.

- d. *Assay buffer*, 1 vial, 14 mL, mengandung *methylisothiazolone* < 0,02% dan bromonitrodioxane < 0,02% sebagai pengawet.
 - e. Konjugat biotin, 1 vial, 14 mL, fragmen *hepcidin* terkonjugasi ke biotin, mengandung *methylisothiazolone* < 0,02% dan *bromonitrodioxane* < 0,02% sebagai pengawet.
 - f. Kompleks enzim, 1 vial, 14 mL, mengandung *horseradish peroxidase*, mengandung *methylisothiazolone* < 0,02% dan *bromonitrodioxane* < 0,02% sebagai pengawet.
 - g. Larutan substrat, 1 vial, 14 mL, tetrametilbenzidin (TMB)
 - h. Larutan Stop, 1 vial, 14 mL, mengandung H₂SO₄ 0,5M.
 - i. Larutan pencuci, 1 vial, 30 mL (dipekatkan 40 x)
 - j. Perlengkapan dan bahan yang dibutuhkan namun tidak disertakan dalam kit: pembaca lempeng mikrotiter terkalibrasi DRG (450 ± 10 nm), kertas serap dan aquades.
2. Penyimpanan dan stabilitas kit
 Saat disimpan pada suhu 2-8°C, reagen yg belum dibuka akan tetap reaktif hingga tanggal kadaluarsa. Reagen yang sudah terbuka akan tetap reaktif selama 2 bulan jika disimpan pada suhu 2-8°C.
3. Persiapan reagen
 Biarkan semua reagen dan strip yang dibutuhkan mencapai suhu ruangan sebelum digunakan.

Standard: larutkan *lyophilized* yang ada dalam vial *standard* dengan aquades 1 mL. *Standard* yang sudah dilarutkan akan tetap stabil selama 6 hari pada suhu 2-8°C. Untuk penyimpanan yang lebih lama bekukan pada suhu -20°C.

Kontrol: larutkan *lyophilized* yang ada dalam vial *standard* dengan aquades 1 mL dan biarkan selama minimal 10 menit, kocok kontrol beberapa kali sebelum digunakan. Kontrol yang sudah dilarutkan akan stabil selama 6 hari pada suhu 2-8°C. Untuk penyimpanan yang lebih lama bekukan pada suhu -20°C.

Larutan pencuci: campurkan 30 mL larutan pencuci yang dipekatkan dengan 1170 mL air yang telah di-deionisasi hingga mencapai volume akhir 1200 mL. Larutan pencuci yang telah dicampur stabil hingga 2 minggu pada suhu kamar.

4. Pengenceran spesimen

Jika pada pengujian awal, spesimen mengandung kadar *hepcidin* yang melebihi *standard* tertinggi, maka spesimen tersebut dapat diencerkan dengan *assay buffer* dan diuji sesuai yang dijelaskan dalam prosedur pengujian. Untuk perhitungan konsentrasi maka faktor dilusi ini harus diperhitungkan juga. Misalnya:

- a) Pengenceran 1:10 → 10µL serum + 90 µL *assay buffer*
- b) Pengenceran 1:100 → 10µL larutan 1:10 + 90µL *assay buffer*

Prosedur pengujian

- a. Semua reagen dan spesimen harus dibiarkan mencapai suhu ruangan sebelum digunakan. Semua reagen harus dicampur tanpa menimbulkan busa.
- b. Ketika uji telah dimulai maka harus diselesaikan tanpa interupsi
- c. Gunakan pipet plastik sekali pakai untuk tiap *standard*, kontrol atau sampel untuk menghindari kontaminasi silang.
- d. *Absorbance* (yang diserap) adalah fungsi dari waktu inkubasi dan suhu. Sebelum memulai uji, direkomendasikan agar semua reagen telah siap, tutupnya dilepas, semua sumur-sumur yang diperlukan telah disiapkan di tempatnya, dsb. Ini akan membuat jedah waktu yang hampir sama untuk tiap langkah prosedur tanpa interupsi.
- e. Sebagai ketentuan umum, reaksi enzimatik berbanding lurus terhadap waktu dan suhu.
- f. Setiap siklus harus menyertakan sebuah kurva *standard*.
- g. Langkah-langkah pengujian:
 - 1. Masukkan sumur mikrotiter sesuai jumlah sampel ke dalam tatakannya,
 - 2. Masukkan 100µL *Assay buffer* ke dalam masing-masing sumur,
 - 3. Masukkan masing-masing 50µL *standard*, kontrol dan sampel pada sumur masing-masing dengan menggunakan ujung pipet sekali pakai,
 - 4. Masukkan 100 µL konjugat biotin ke dalam masing-masing sumur,
 - 5. Kocok selama 10 detik. Penting untuk benar-benar tercampur pada langkah ini,
 - 6. Inkubasi selama 120 menit pada suhu kamar (tanpa menutup lempengnya),
 - 7. Tumpahkan keluar isi-isi sumur secara cepat, bilas sumur-sumur tersebut 5 kali dengan larutan pencuci yang diencerkan (400 µL per sumur). Segera bersihkan tetesan yang tersisa di sumur-sumur dengan

kertas serap. Sensitivitas dan ketepatan uji ini sangat dipengaruhi oleh benar-tidaknya prosedur pencucian.

8. Tambahkan 100 μ L kompleks enzim ke masing-masing sumur,
9. Inkubasikan selama 60 menit pada suhu kamar,
10. Segera tumpahkan keluar isi sumur-sumur tersebut. Bilas sumur-sumur tersebut 5 kali dengan larutan pencuci yang diencerkan (400 μ L per sumur). Segera bersihkan tetesan yang tersisa di sumur-sumur dengan kertas serap,
11. Tambahkan 100 μ L larutan substrat ke masing-masing sumur,
12. Inkubasikan selama 30 menit pada suhu kamar,
13. Hentikan reaksi enzimatik dengan cara menambahkan 100 μ L larutan Stop ke masing-masing sumur,
14. Baca OD pada 450 \pm 10 nm dengan *microtiter plate reader* dalam 10 menit setelah menambahkan larutan stop.

Perhitungan hasil

1. Hitung nilai *absorbance* rata-rata untuk tiap set *standard*, kontrol dan sampel pasien,
2. Buat sebuah kurva *standard* dengan cara memetakan rata-rata *absorbance* tersebut yang diperoleh dari masing-masing *standard* terhadap konsentrasinya dengan nilai *absorbance* pada aksis vertikal (Y) dan konsentrasi pada aksis horisontal (X),
3. Tentukan konsentrasi yang berkaitan dari kurva *standard* dengan menggunakan nilai *absorbance* rata-rata untuk tiap sampel.
4. Metode otomatis: hasil dalam IFU telah dihitung secara otomatis dengan menggunakan *4PL (4 Parameter Logistic) curve fit*. Persamaan reduksi data lainnya dapat memberikan hasil-hasil yang sedikit berbeda,
5. Konsentrasi sampel-sampel tersebut dapat segera dibaca dari kurva *standard* ini. Sampel-sampel dengan konsentrasi yang lebih tinggi dari *standard* tertinggi harus diencerkan lagi. Untuk perhitungan konsentrasi maka faktor pengenceran ini harus diperhitungkan:

Standard optical units (450 nm)

Standard 0 (0 ng/mL) 1.85

Standard 1 (10 ng/mL) 1.72

Standard 2 (50 ng/mL) 1.38
Standard 3 (100 ng/mL) 1.17
Standard 4 (250 ng/mL) 0.82
Standard 5 (500 ng/mL) 0.63
Standard 6 (1000 ng/mL) 0.48

Lampiran 7

Prosedur pemeriksaan *Ferritin*

Prinsip :

Sampel serum pasien dan poliklonal antibodi yang dikonjugasi dengan alkali fosfatase diinkubasi bersama-sama dalam tes Unit yang berisi manik-manik berlapis antibodi monoklonal spesifik terhadap *Ferritin*, pada suhu 37°C selama 30 menit dengan pengguncangan berkala. *Ferritin* dalam sampel diikat untuk membentuk kompleks *sandwich Antibody*. Konjugat yang tidak berikatan disingkirkan dengan pencucian secara permusingan. Setelah itu ditambahkan substrat dan tes unit diinkubasi lagi selama 10 menit. Substrat *Chemiluminescens* PPD (suatu ester fosfat dari adaman tyldioxetan) mengalami hidrolisa dengan adanya alkali fosfatase membentuk senyawa antara yang tidak stabil. Terbentuknya senyawa ini secara terus menerus menghasilkan emisi sinar cukup lama. Kompleks yang terikat, dengan demikian juga jumlah *photon* yang dipancarkan seperti terukur oleh luminometer berbanding lurus dengan konsentrasi *Ferritin* dalam sampel.

Metode : *Immunochemiluminescent*

Sampel :

Jenis : Serum
Jumlah : 500 µL
Stabilitas : 7 hari pada 2-8°C
2 minggu pada -20°C

Alat : Immulite 2000

Langkah Kerja :

1. Lakukan Kalibrasi alat
Jenis kalibrator Ferritin Adjustor
2. Lakukan Kontrol
Jenis kontrol CON6 dan lyphocheck Immunoassay Plus Control
Kontrol dilakukan setelah hasil kalibrasi memenuhi syarat.
3. Langkah Kerja :

- Masukkan reagen wedge kedalam carousel reagent dan tekan [GO] pada alat untuk membaca barcode reagent. Cek status reagen pada layar monitor.
- Urutkan sampel sesuai lembar kerja dengan cara urutan dari kiri ke kanan dengan lubang No.1 dikosongkan.
- Tuang serum kealam sampel cup holder, setelah dituang serum ditaruh ke lubang yang kosong begiru setersunya
- Masukkan sampel cup holder diikuti Tes Unit Ferritin ke alat Imulite dan untuk selanjutnya ikuti instruksi kerja alat.

Nilai Rujukan : Laki-laki : 28-365 ng/mL
 Perempuan : 10-148 ng/m

TOTAL ALAT :

1. Tabung plain 6 cc
2. Centrifuge 5702 (Eppendorf)
3. Mikropipet (Socorex)
4. Tabung Koagulo
5. Rak tabung
6. Immulite 2000 reader

Lampiran 8

Prosedur pemeriksaan sTfR

Prinsip Tes

Partikel yang diperkaya dengan pengujian immunoturbidimetric. Reseptor transferrin manusia yang terlarut, beraglutinasi dengan partikel lateks yang dilapisi dengan antibodi reseptor transferrin yang anti-larut. Endapan ditentukan secara fotometris.

Reagen – cairan yang bekerja

R1 TES/HCl buffer: 20 mmol/L, pH 7,7; NaCl: 500 mmol/L; pengawet

R2 Partikel lateks dilapisi dengan monoklonal anti-antibodi sTfR manusia (tikus);
TRIS/HCl buffer: 20 mmol/L, pH 8,0; pengawet

Tindakan pencegahan dan peringatan

Untuk penggunaan diagnostik in vitro. Latihan pencegahan normal diperlukan untuk menangani semua reagen laboratorium. Lembar data keselamatan tersedia bagi pengguna profesional sesuai permintaan. Pembuangan semua bahan limbah harus sesuai dengan peraturan lokal.

Penanganan *Reagent*

Siap untuk digunakan.

Campur pak **cobas c** dengan baik sebelum ditempatkan di *analyzer*

Penyimpanan dan stabilitas

STFR

Periode penyimpanan pada 2-8°C

Lihat tanggal kadaluarsa pada Label pak **cobas c**.

Ketika digunakan *on-board* dan dibekukan pada penganalisis: 12 minggu

9% NaCl pengencer

Periode penyimpanan pada 2-8°C

Lihat tanggal kadaluarsa pada Label pak **cobas c**.

Ketika digunakan *on-board* dan dibekukan pada penganalisis: 12 minggu

Pengumpulan Spesimen dan persiapan

Untuk pengambilan spesimen dan persiapan, gunakan hanya tabung yang sesuai atau penampung koleksi. Hanya spesimen yang tercantum di bawah yang diuji dan dapat diterima:

Serum.

Plasma: Li-heparin

Tipe sampel yang terdaftar adalah sampel yang diuji dengan pilihan kumpulan tabung sampel yang secara komersial tersedia pada saat pengujian, yaitu tidak semua tabung yang ada dari produsen dites. Sistem pengumpulan sampel dari berbagai produsen yang berbeda mungkin mengandung bahan yang berbeda, yang mungkin dalam beberapa kasus dapat mempengaruhi hasil. Ketika mengolah sampel di tabung primer (sistem pengumpulan sampel), ikuti petunjuk pabrikan tabung. Lakukan sentrifuga sampel yang mengandung endapan, sebelum melakukan pengujian.

Stabilitas: 3 hari pada 15-25°C

7 hari pada 2-8°C

4 minggu pada suhu (-15)-(-25)°C (hanya bekukan sekali)

Bahan yang disediakan

Lihat bagian "Reagen – cairan yang bekerja" untuk reagen.

Bahan yang dibutuhkan (tetapi tidak diberikan)

Lihat bagian "Informasi Memesan".

Air distilasi

Peralatan laboratorium umum

Pengujian

Agar kinerja pengujian optimal, ikuti petunjuk yang diberikan dalam dokumen ini untuk analyzer yang dipertimbangkan. Mengacu pada manual operator yang tepat bagi instruksi pengujian spesifik-analyzer. Kinerja aplikasi yang tidak divalidasi oleh Roche, tidak dijamin dan harus didefinisikan oleh pengguna.

Aplikasi untuk serum dan plasma

definisi tes cobas c 311

Jenis pengujian	2 End Point
Waktu reaksi / titik pengujian	10 / 8-17
Panjang gelombang (sub/utama)	800/570 nm
Arah reaksi	Menaik
Unit	mg/L (nmol/L, ng/mL)
Pereaksi pipetting	Pengencer (H ₂ O)
R1	110 µL -
R3	110 µL -

Jumlah sampel

Sampel

Pengenceran sampel

		<i>Sampel Pengencer (NaCl)</i>	
Normal	2 µL	-	-
Berkurang	10 µL	10 µL	90 µL
Meningkat	4 µL		

Definisi tes cobas c 501

Jenis pengujian	2 End Point
Waktu reaksi / titik pengujian	10 / 13-25
Panjang gelombang (sub/utama)	800/570 nm
Arah reaksi	Menaik
Unit	mg/L (nmol/L, ng/mL)
Pereaksi pipetting	Pengencer (H ₂ O)
R1	110 µL -
R3	110 µL -

Jumlah sampel sampel

	<i>Sampel</i>	<i>Pengenceran Sampel Pengencer (NaCl)</i>	
Normal	2 µL	-	-
Berkurang	10 µL	10 µL	90 µL
Meningkat	4 µL		

Kalibrasi

Kalibrator	S1: H ₂ O S2-6: Preciset sTfR
Model kalibrasi	RCM2

Frekuensi Kalibrasi kalibrasi penuh
- setelah reagen lot berubah
- dan jika dibutuhkan, ikuti prosedur kontrol kualitas

Keterlacakan: Metode ini telah dibakukan sesuai dengan persiapan referensi in-house.

Kontrol Kualitas

Untuk kontrol kualitas, gunakan bahan kontrol yang tercantum dalam Bagian "Informasi Pemesanan". Bahan kontrol lain dapat digunakan sebagai tambahan.

Interval dan batas kontrol harus diadaptasi ke laboratorium masing-masing sesuai dengan kebutuhan individu. Nilai yang diperoleh harus berada dalam batas yang ditentukan. Setiap laboratorium harus menetapkan pengukuran

korektif yang akan diambil jika nilainya berada di luar batas. Ikuti peraturan pemerintah yang dapat diterapkan, serta panduan lokal untuk kontrol kualitas.

Perhitungan

Sistem Roche/Hitachi **cobas c** secara otomatis menghitung konsentrasi analit untuk setiap sampel.

Konversi faktor: $\text{mg/L} \times 11.8 = \text{nmol/L}^a$
 $\text{nmol/L} \times 0.085 = \text{mg/L}$
 $\text{mg/L} \times 0.1 = \text{mg/dL}$
 $\text{mg/dL} \times 10 = \text{mg/L}$

a) Berdasarkan masa molekular 85 kDa untuk mensirkulasi reseptor *transferrin*

Keterbatasan - interferensi

Kriteria: Pemulihan dalam waktu $\pm 10\%$ dari nilai awal pada konsentrasi sTfR 2.00 mg/L (0.20 mg/dL).

Ikterus: Tidak ada gangguan signifikan sampai dengan indeks I 60 (perkiraan konsentrasi bilirubin terkonjugasi dan tak terkonjugasi: 1026 $\mu\text{mol/L}$ (60 mg/dL)).

Hemolisis: Tidak ada gangguan signifikan sampai dengan indeks H 800 (perkiraan konsentrasi hemoglobin: 497 $\mu\text{mol/L}$ (800 mg/dL)).

Lipemia (Intralipid): Tidak ada gangguan signifikan sampai dengan indeks L 1000. Ada korelasi yang lemah antara konsentrasi trigliserida dan indeks L (sesuai dengan turbiditas).

Faktor rheumatoid <750 IU/mL tidak mengganggu.

Tidak ada efek pengait terlihat hingga konsentrasi sTfR 80 mg/L

Antibodi spesifik untuk sTfR. Tidak ada reaktivitas silang dengan diferrotransferrin, apotransferrin atau ferritin dibawah kondisi pengujian.

Obat: Tidak ada gangguan ditemukan pada konsentrasi terapeutik dengan menggunakan panel obat umum.

Dalam kasus gammopathy yang sangat jarang, dalam IgM jenis tertentu (Waldenstrom macroglobulinemia), dapat menyebabkan hasil yang tidak dapat diandalkan.

Untuk pengujian menggunakan antibodi tikus, penemuan yang keliru bisa didapat dari sampel yang diambil dari pasien yang telah ditangani dengan antibodi monoklonal tikus, atau telah menerimanya untuk tujuan diagnostik.

Untuk tujuan diagnostik, hasil yang ada harus selalu diukur sejalan dengan riwayat medis pasien, pemeriksaan klinis dan temuan lainnya.

Persyaratan Cuci Khusus: penggunaan langkah cuci khusus diperlukan ketika kombinasi tes tertentu berjalan bersamaan dengan sistem Roche/Hitachi **cobas c**. Untuk informasi mengenai kombinasi tes yang memerlukan langkah cuci khusus, silahkan mengacu pada versi terakhir dari *Carry over evasion list* yang ditemukan dalam *NaOHD/SMS/Multiclean Method Sheet* dan manual operator untuk instruksi lebih jauh.

Rentang pengukuran

0.50-40.0 mg/L (5.9-472 nmol/L, 0.05-4.00 mg/dL)

Tentukan sampel yang memiliki konsentrasi lebih tinggi dengan fungsi jalankan ulang. Pelarutan sampel dengan fungsi jalankan ulang, adalah larutan 1:2. Hasil dari sampel yang dilarutkan dengan fungsi jalankan ulang, otomatis dikalikan dengan faktor 2.

Batasan deteksi lebih rendah

0.50 mg/L (5.9 nmol/L, 0.05 mg/dL)

Batas deteksi yang lebih rendah merupakan tingkat analit terendah yang dapat terukur, dimana dapat dibedakan dari nol. Hal ini dihitung sebagai nilai yang mendasari tiga SD

di atas standar terendah (standar 1 + 3 SD, pengulangan, n = 21)

Nilai yang Diharapkan

Laki-laki (n = 208) 2,2-5,0 mg / L 26-59 nmol/L 0.22-0.50 mg/dL
(Usia 18-60 tahun)

Wanita (n = 211) 1,9-4,4 mg / L 22-52 nmol/L 0.19-0.44 mg/dL
(Usia 18-45 tahun)

Setiap laboratorium harus menyelidiki kemampuan transfer dari nilai yang diharapkan, untuk populasi pasien sendiri dan jika diperlukan, tentukan sendiri referensi kisarannya.

Data kinerja spesifik

Data kinerja representatif pada *analyzer* tercantum di bawah ini. Hasil diperoleh di masing-masing laboratorium dapat berbeda.

Ketepatan/Presisi

Kemampuan reproduksi ditentukan dengan menggunakan sampel manusia dan kontrol di internal protokol (*within-run* n = 21, total n = 63). Hasil berikut diperoleh:

<i>Within-run</i>	Mean $\mu\text{g/L}$ (<i>pmol/L, ng/mL</i>)	SD $\mu\text{g/L}$ (<i>pmol/L, ng/mL</i>)	CV %
sTfR Control Set Level 1	2.16 (25.5, 0.22)	0.03 (0.35, 0.002)	1.5
sTfR Control Set Level 2	6.82 (80.5, 0.68)	0.06 (0.71, 0.006)	0.9
Human serum 1	1.93 (22.8, 0.19)	0.04 (0.47, 0.004)	2.1
Human serum 2	3.38 (39.9, 0.34)	0.04 (0.47, 0.004)	1.3

<i>Total</i>	<i>Mean</i> <i>µg/L</i> <i>(pmol/L, ng/mL)</i>	<i>SD</i> <i>µg/L</i> <i>(pmol/L, ng/mL)</i>	<i>CV</i> <i>%</i>
sTfR Control Set Level 1	2.05 (24.2, 0.21)	0.08 (0.94, 0.01)	4.0
sTfR Control Set Level 2	6.67 (78.7, 0.67)	0.11 (1.30, 0.01)	1.6
Human serum 3	1.37 (16.2, 0.14)	0.05 (0.59, 0.01)	3.8
Human serum 4	12.1 (143, 1.21)	0.2 (2.36, 0.02)	1.4

Perbandingan metode

Nilai sTfR untuk serum manusia dan sampel plasma yang diperoleh pada analyzer (y)

Roche / Hitachi **cobas c** 501, dibandingkan dengan nilai yang ditentukan dengan menggunakan reagen yang sama pada analyzer (x) Roche / Hitachi 917.

Ukuran sampel (n) = 119

Melewati / Bablok

Regresi linier

$y = 0.976x + 0.26$ mg/L

$y = 0.979x + 0.24$ mg/L

$\tau = 0.957$

$r = 1.000$

Nilai berkisar antara 1.41 hingga 39.9 mg/L (16.6 hingga 471 nmol/L, 0.14 hingga 3.99 mg/dL).

Lampiran 9

Prosedur Pemeriksaan IL-6

Persiapan Sampel:

- i. Serum darah yang diambil disentrifus untuk menghilangkan partikel.
- ii. Serum darah diambil dengan menggunakan teknik standar dan serum dipisahkan dari sel-sel darah sesegera mungkin. Sampel dapat disimpan dalam suhu kamar selama 1 jam dan disentrifus selama 10 menit (4 °C) dan serum diekstraksi.
- iii. Plasma darah yang dikumpulkan menggunakan natrium sitrat, EDTA dan heparin sebagai antikoagulan.
- iv. Ketika melakukan uji secara perlahan-lahan membawa sampel darah ke suhu kamar.

Persiapan reagen:

1. Ambil reagen kit dari lemari es dan simpan pada suhu kamar (20-25 °C). Aduk dengan lembut dan berputar sebelum *pipetting*.
2. Kaliberasi pengencer II (1x) campur dengan baik sebelum pengenceran. Tambahkan 1 volume pengencer kalibrator II (5x) sampai 4 volume air suling atau deionisasi. Aduk sebelum digunakan.
3. Cuci buffer (1x); tambahkan 60 ml *buffer wash* (20x) dan encerkan sampai volume 1200 ml dengan air suling.
4. Substrat solusi: substrat solusi A dan B dicampur dalam volume yang sama sampai 15 menit sebelum digunakan.

Strips Used	Substrate A (mL)	Substrate B (mL)	Substrate Solution (mL)
2 strips (16 wells)	1.5	1.5	3.0
4 strips (32 wells)	3.0	3.0	6.0
6 strips (48 wells)	4.0	4.0	8.0
8 strips (64 wells)	5.0	5.0	10.0
10 strips (80 wells)	6.0	6.0	12.0
12 strips (96 wells)	7.0	7.0	14.0

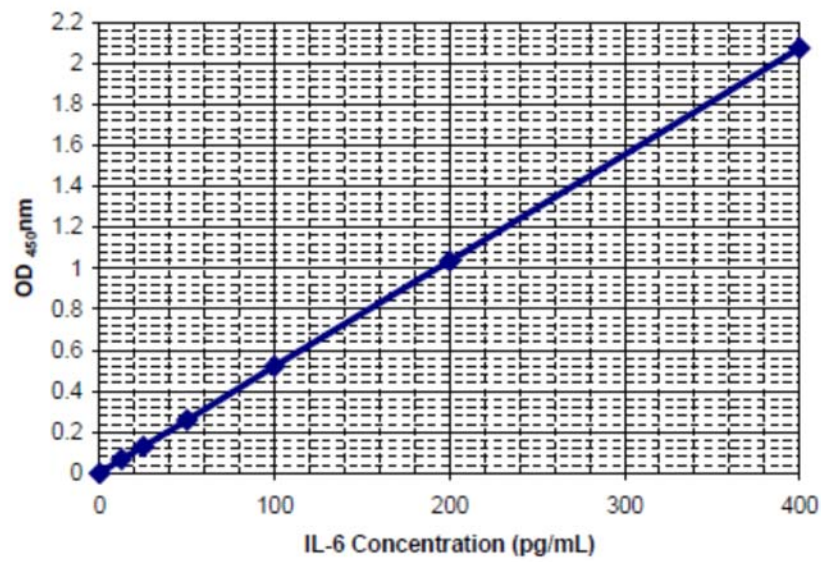
1A, 1B	Standard 1	0 pg/mL	(S1)	2A, 2B	Standard 5	100 pg/mL	(S5)
1C, 1D	Standard 2	12.5 pg/mL	(S2)	2C, 2D	Standard 6	200 pg/mL	(S6)
1E, 1F	Standard 3	25 pg/mL	(S3)	2E, 2F	Standard 7	400 pg/mL	(S7)
1G, 1H	Standard 4	50 pg/mL	(S4)	2G, 2H	IL-6 samples		

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	S1	S5	2	6	10	14	18	22	26	30	34	38
B	S1	S5	2	6	10	14	18	22	26	30	34	38
C	S2	S6	3	7	11	15	19	23	27	31	35	39
D	S2	S6	3	7	11	15	19	23	27	31	35	39
E	S3	S7	4	8	12	16	20	24	28	32	36	40
F	S3	S7	4	8	12	16	20	24	28	32	36	40
G	S4	1	5	9	13	17	21	25	29	33	37	41
H	S4	1	5	9	13	17	21	25	29	33	37	41

Prosedur pemeriksaan:

1. Persiapkan buffer cuci (1X) dan IL-6 Standard sebelum memulai prosedur pemeriksaan.
2. Tambahkan 100µL Standar atau Sampel ke sumur yang sesuai antibodi pra-dilapisi *Microtiter Plate* dan menetasakan 1 jam pada suhu kamar.
3. Tanpa membuang standar dan sampel, tambahkan 50µL Anti-IL6 konjugat biotin untuk masing-masing sumur. Aduk rata. Tutup dan menetasakan selama 1 jam pada suhu kamar.
4. Cuci Piring microtiter menggunakan salah satu metode tertentu ditunjukkan di bawah ini: Mencuci manual: Hapus campuran inkubasi oleh aspirating isi piring ke bak cuci atau wadah yang tepat sampah. Menggunakan botol semprot, mengisi setiap sumur sepenuhnya dengan Buffer Cuci (1X) maka aspirasi isi piring ke wastafel atau kontainer sampah yang tepat. Ulangi ini prosedur yang empat kali lebih untuk total LIMA mencuci. Setelah mencuci akhir, membalikkan piring, dan noda kering dengan memukul piring ke kertas penyerap atau handuk kertas sampai kelembaban tidak muncul.
Catatan: Pegang sisi bingkai plat tegas saat mencuci piring untuk memastikan bahwa semua strip tetap aman dalam bingkai.
5. Mengeluarkan 100µl dari Konjugat avidin untuk setiap Aduk dengan baik. Tutup dan menetasakan selama 1 jam pada suhu kamar.
6. Siapkan Solusi Substrat tidak lebih dari 15 menit sebelum akhir inkubasi kedua (lihat Persiapan Reagen).
7. Ulangi prosedur mencuci seperti yang dijelaskan pada Langkah 4.
8. Tambahkan Solusi Substrat 100µL ke sumur masing-masing. Tutup dan menetasakan selama 15 menit di kamar
9. Tambahkan solusi substrat 100µL dengan baik. Campur dengan baik
10. Baca dengan menggunakan optical density pada 450 nm dengan menggunakan mikrotiter

Standard (pg/mL)	O.D. (450 nm)	Mean	Zero Standard Subtracted (Std.)-(S1)
0	0.050, 0.048	0.049	0
12.5	0.115, 0.120	0.118	0.069
25	0.178, 0.180	0.179	0.130
50	0.310, 0.305	0.308	0.259
100	0.570, 0.574	0.572	0.523
200	1.080, 1.088	1.084	1.035
400	2.120, 2.126	2.123	2.074



Lampiran 10

Prosedur Pemeriksaan hs-CRP

Metode: fotometrik dengan metode imuno-turbidimetri

Prinsip: *cresolphthalein complexon* bereaksi dengan CRP dalam larutan alkali memberi warna re-violet.

Alat: *disposable syringe*, antikoagulan heparin, alkohol, kain kasa dan plester, tabung mikro, rak sampel, pipet vilumetrik 500ul

Bahan:Reagen: R1: *ethanolamine* 0,75 mmol/l, pH 10,7 dan detergen

R2: substrat (larutan siap pakai) terdiri dari:

1. *O-cresolphthalein complexon*: 0,3 mmol/l
2. *8-hydroxyquinoline* : 34,5 mmol/l
3. *Hydrochloric acid pH 1.1* : 100 mmol/l

Cara kerja: Cara kerja otomatis dengan ABX Pentra 400 (Horiba ABX)

1. Aktifkan alat ABX Pentra 400
2. Siapkan reagen dan letakkan dalam tempat reagen. Tes dapat dilakukan setelah melakukan kontrol
3. Masukkan sampel darah yang sudah disentrifus ke dalam rak tabung dengan penutup tabung dibuka terlebih dahulu
4. Tempatkan larutan kerja pada rak reagen sesuai program kalsium
5. Masukkan nomor identitas sampel, nama pasien dan mengkonfirmasi posisi sampel sesuai nomor rak kemudian memilih tes kalsium
6. Tes akan berjalan secara otomatis. Alat akan secara otomatis mengambil reagen 1, reagen 2 dan sampel.
7. Hasil tes akan ditampilkan pada monitor dalam bentuk *print out*

Lampiran 11

Data Dasar Pasien

No	Nama	Jk	Umur	Status Gizi	Ferritin	hs-CRP	IL-6	sTfR	Rasio	Hepcidin
1	AH	L	12,2	Obesitas	66,6	0,58	7,76	2,57	1,41	18,98
2	AW	L	12	Superobes	45,29	4,11	3,08	2,73	1,64	34,13
3	AL	L	13,2	Obesitas	146,4	1,08	15,7	2,54	1,17	12,13
4	AC	L	14,7	Superobes	79,87	1,44	1,07	1,8	0,95	19,04
5	AN	L	14,2	Superobes	126,2	2,37	2,44	1,78	0,85	21,43
6	AS	L	14,4	Superobes	78,19	2,13	7,59	1,96	1,04	12,63
7	BJ	L	12,3	Obesitas	25,31	1,47	1,77	2,24	1,6	24,12
8	CV	L	12	Superobes	52,19	1,57	3,46	3,17	1,84	29
9	DA	P	14	Obesitas	42,05	0,89	4,43	1,42	0,88	8,82
10	F L	P	12,6	Obesitas	57,69	7,62	13,9	1,93	1,09	17,9
11	FP	P	14,7	Obesitas	161	0,29	6,43	1,52	0,69	20,78
12	FC	L	14,3	Superobes	141,2	2,02	1,08	1,56	0,73	14,87
13	GT	L	13	Superobes	40,56	0,96	1,65	3,12	1,94	19,98
14	GP	L	13,2	Superobes	89,49	2,13	3,91	2,3	1,18	15,94
15	JT	L	14,6	Obesitas	113,2	0,6	2,3	1,81	0,88	10,26
16	JE	L	13,2	Superobes	122,2	3,9	13	1,38	0,66	23,98
17	JV	P	12,3	Obesitas	13,01	2,69	5,04	1,6	1,44	12,69
18	JB	L	13,3	Superobes	67,95	9,53	16,3	1,7	0,93	11,44
19	KA	L	12	Superobes	50,12	2,5	2,43	2,75	1,62	20,91
20	KL	L	13,6	Superobes	67,09	0,62	4,05	1,88	1,03	25,39
21	LB	P	14,4	Obesitas	253,6	1,24	16,2	1,33	0,55	19,17
22	LW	P	14,2	Obesitas	64,38	2,02	3,75	1,86	1,03	18,09
23	MA	L	13	Obesitas	110,2	6,91	3,61	2,42	1,19	19,81
24	OW	P	12	Obesitas	44,7	0,34	1,64	1,14	0,69	16,25
25	PL	P	14,8	Obesitas	27,58	2,47	1,25	2,42	1,68	12,69
26	PG	L	14,3	Obesitas	85,96	1,78	2,53	2,12	1,1	15,94
27	RL	L	14,4	Obesitas	80,61	0,37	1,63	1,56	0,82	12,44
28	RT	L	14	Obesitas	18,18	0,66	0,75	4,09	3,25	11,26
29	RK	L	12,2	Superobes	135,3	2,27	7,79	1,84	0,86	23,59
30	RY	L	13,8	Superobes	84,19	1,61	16,2	1,57	0,81	17,45
31	RT	L	14,5	Superobes	45,87	1,19	7,73	2,33	1,4	22,27
32	SD	L	12,5	Superobes	73,5	1,55	8,12	2,79	1,5	12,81
33	VR	P	13,8	Superobes	29,6	0,84	7,87	1,62	1,1	19,81
34	VG	L	13,4	Superobes	123,7	1,34	7,34	2,33	1,11	19,68

35	WJ	L	14,3	Obesitas	95,34	1,41	4,12	2,3	1,16	14,19
36	YL	L	13	Superobes	190,4	9,48	13	2,62	1,15	24,25
37	CS	P	13	Obesitas	17,91	0,4	5,17	2,03	1,62	16,63
No	Nama	Jk	Umur	Status Gizi	Ferritin	hs-CRP	IL-6	sTfR	Rasio	Hepcidin
38	AG	L	12,6	Superobes	104,9	3,92	2,61	2,33	2,02	15,25
39	NFF	P	12,3	Obesitas	97,28	0,54	1,21	1,81	0,93	14,75
40	B E	L	13,7	Obesitas	114,4	1,18	5,26	1,88	0,91	18,85
41	AO	L	12	Gizi Baik	25,68	0,178	1	2,25	1,59	17,9
42	AL	P	14,2	Gizi Baik	23,23	0,656	0,92	1,65	1,21	5,5
43	AT	L	13,3	Gizi Baik	46,99	1,587	1,86	3,11	1,86	20,39
44	AZ	P	13	Gizi Baik	82,13	0,248	1,14	1,52	0,79	6,34
45	BC	L	12	Gizi Baik	71,07	0,395	3,55	1,67	0,89	12,13
46	BT	L	14	Gizi Baik	73,7	0,463	2,51	1,17	0,62	17,2
47	CL	P	12	Gizi Baik	29,31	0,366	2,3	1,98	1,35	15,31
48	CA	P	12	Gizi Baik	51,67	0,216	2,33	1,9	1,11	14,62
49	DJ	L	13,3	Gizi Baik	88,57	0,654	1,87	1,82	0,93	21,1
50	EW	P	14	Gizi Baik	66,34	0,001	0,75	1,65	0,9	17,76
51	EC	P	13	Gizi Baik	71,04	1,492	3,4	1,5	0,81	23,85
52	EA	P	12,6	Gizi Baik	82,69	2,116	2,64	1,2	1,03	22,8
53	ET	L	14,4	Gizi Baik	51,3	0,26	0,56	1,71	1	12,63
54	FE	L	12	Gizi Baik	32,2	0,154	0,86	2,07	1,37	22,8
55	IG	L	12,2	Gizi Baik	77,26	1,191	2,43	1,97	1,04	9,01
56	JA	L	14	Gizi Baik	116,1	0,58	3,62	1,89	0,92	12,38
57	JH	L	14	Gizi Baik	168,6	0,513	4,21	1,41	0,63	9,51
58	JR	L	13,3	Gizi Baik	99,31	0,325	3,66	1,49	0,75	15,63
59	JT	L	12,3	Gizi Baik	53,19	0,333	2,37	1,72	1	4,97
60	JU	L	12	Gizi Baik	41,87	0,261	2,52	2,36	1,56	22,4
61	JO	L	14	Gizi Baik	87,69	0,296	1,02	1,67	0,86	16,96
62	KE	L	13,2	Gizi Baik	138,2	0,245	8,06	2,25	1,05	13,12
63	KV	L	12,8	Gizi Baik	87,12	0,635	3,05	3,19	1,64	20,39
64	KW	L	14,5	Gizi Baik	68,08	0,588	3,62	2,61	1,42	23,39
64	LO	P	14,7	Gizi Baik	49,73	0,98	2,16	2,11	1,24	22,86
66	MA	L	14	Gizi Baik	67,14	0,821	0,88	2,36	1,29	15,37
67	MS	P	14,2	Gizi Baik	88,89	1,126	3,32	1,11	0,57	14,5
68	MH	L	14	Gizi Baik	23,65	0,452	0,58	2,17	1,57	12,19
69	RF	L	14	Gizi Baik	67,04	2,003	1,09	1,83	1	15,12
70	RP	L	14,5	Gizi Baik	86,94	0,16	0,43	2,18	1,12	17,47
71	RL	L	14,2	Gizi Baik	64,33	3,484	2,55	2,24	1,23	21,88
72	RY	L	12,9	Gizi Baik	192,8	0,341	6,08	1,42	0,63	24,72

73	SJ	L	14	Gizi Baik	91,05	0,432	0,89	1,65	0,84	16,06
74	WY	L	13	Gizi Baik	106,8	0,429	2,45	1,71	0,84	17,58
75	WI	L	13	Gizi Baik	74,59	0,624	4,18	1,84	0,98	6,21