

KARYA AKHIR

**KHASIAT PEMBERIAN PROBIOTIK *SACCHAROMYCES BOULARDII*
TERHADAP KADAR HEMOGLOBIN, RETIKULOSIT, RETIKULOSIT
HEMOGLOBIN, *RED DISTRIBUTION WIDTH* PADA PENGOBATAN
ANAK DENGAN DEFISIENSI BESI**

**EFFICACY OF *SACCHAROMYCES BOULARDII* TO HAEMOGLOBIN,
RETICULOCYTES, RETICULOCYTE HEMOGLOBIN CONTENT LEVEL,
AND RED DISTRIBUTION WIDTH ON CHILDREN WITH IRON
DEFICIENCY**



OLEH

SIDRAH DARMA

C110216205

PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS (Sp.1)

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2021

**KHASIAT PEMBERIAN PROBIOTIK *SACCHAROMYCES BOULARDII*
TERHADAP KADAR HEMOGLOBIN, RETIKULOSIT, RETIKULOSIT
HEMOGLOBIN, *RED DISTRIBUTION WIDTH* PADA PENGOBATAN
ANAK DENGAN DEFISIENSI BESI**

Karya Akhir

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar Spesialis Anak

Program Studi

Ilmu Kesehatan anak

Disusun dan diajukan oleh

SIDRAH DARMA

Kepada

PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS (Sp.1)

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2021

LEMBAR PENGESAHAN TUGAS AKHIR

**KHASIAT PEMBERIAN PROBIOTIK *SACCHAROMYCES BOULARDII*
TERHADAP KADAR HEMOGLOBIN, RETIKULOSIT, RETIKULOSIT
HEMOGLOBIN, *RED DISTRIBUTION WIDTH* PADA PENGOBATAN
ANAK DENGAN DEFISIENSI BESI**

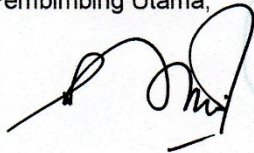
Disusun dan diajukan oleh:

SIDRAH DARMA
NIM: C110216205

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka
Penyelesaian Program Pendidikan Dokter Spesialis Ilmu Kesehatan Anak
Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin
Pada tanggal 4 November 2021
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

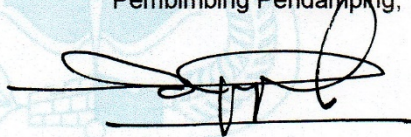
Menyetujui,

Pembimbing Utama,



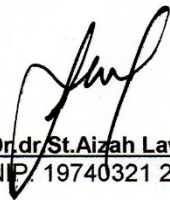
dr. Setia Budi Salekede, SpA(K)
NIP. 19580505 198502 1 002

Pembimbing Pendamping,



Dr. dr. Idham Jaya Ganda, Sp.A(K)
NIP. 19581005 198502 1 001

Ketua Program Studi,



Dr. dr. St. Aizah Lawang, M. Kes, Sp.A(K)
NIP. 19740321 200812 2 002

Dekan Fakultas/
Sekolah Pascasarjana,



Prof. dr. Budi, Ph.D, Sp.M(K), M. Med.Ed
NIP. 19671103 199802 1 001

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR


Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Sidrah Darma
Nomor Mahasiswa : C110216205
Program Studi : Ilmu Kesehatan Anak

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa karya akhir yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan karya akhir ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.



Makassar, November 2021
Yang menyatakan,


Sidrah Darma

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan karya akhir ini.

Penulisan karya akhir ini merupakan salah satu persyaratan dalam rangka penyelesaian Program Pendidikan Dokter Spesialis di IPDSA (Institusi Pendidikan Dokter Spesialis Anak) Universitas Hasanuddin, Makassar.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa penulisan karya akhir ini tidak akan terselesaikan dengan baik tanpa bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang tulus kepada **dr. Setia Budi Salekede, Sp.A(K), Dr. dr. Nadirah Rasyid Ridha, M.Kes, Sp.A(K), dan Dr. dr. Idham Jaya Ganda, Sp.A(K)** sebagai pembimbing materi dan metodologi penelitian yang dengan penuh perhatian dan kesabaran senantiasa membimbing dan memberikan dorongan kepada penulis sejak awal penelitian hingga penulisan karya akhir ini.

Penulis juga mengucapkan banyak terima kasih kepada penguji yang telah banyak memberikan masukan dan perbaikan untuk karya akhir ini, yaitu **Prof. dr. Husein Albar, Sp.A(K) dan Dr. dr. Martira Maddeppungeng, Sp.A(K).**

Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada:

1. Rektor dan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin atas kesediaannya menerima penulis sebagai peserta pendidikan pada Program Studi Ilmu Kesehatan Anak, Universitas Hasanuddin.
2. Koordinator Program Pendidikan Dokter Spesialis I, Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin yang senantiasa memantau dan membantu kelancaran pendidikan penulis.
3. Ketua Departemen, Ketua dan Sekretaris Program Studi Ilmu Kesehatan Anak Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin beserta seluruh staf pengajar (*supervisor*) Departemen Ilmu Kesehatan Anak atas bimbingan, arahan, dan nasehat yang tulus selama penulis menjalani pendidikan.
4. Direktur RSUP dr. Wahidin Sudirohusodo, Direktur RSP Universitas Hasanuddin, dan Direktur RS Jejaring atas ijin dan kerjasamanya untuk memberikan kesempatan kepada penulis untuk menjalani pendidikan di rumah sakit tersebut.
5. Semua staf administrasi di Departemen Ilmu Kesehatan Anak Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin dan semua paramedis di RSUP dr. Wahidin dan rumah sakit jejaring yang lain atas bantuan dan kerjasamanya selama penulis menjalani pendidikan.
6. Orang tua saya **Drs. H. Darwis Muhammase** dan **Dra. Hj. Sitti Normah Pangerang**, serta kedua mertua saya **(Alm) H. Andi Gaffar**

Hamzah dan **Hj. Andi Nachlan Latief** yang senantiasa mendukung dalam doa dan dorongan yang sangat berarti sehingga penulis mampu menjalani proses Pendidikan.

7. Suami tercinta saya **Andi Rachman A.G., S.T.** dan anak-anak kesayangan saya **Andi Muhammad Fakhri Al Rashid** dan **Andi Muhammad Fiqri Al Rashid** yang dengan penuh kesabaran mendoakan dan menjadi sumber inspirasi dan semangat hidup bagi penulis, serta **Tante Cia** dan seluruh anggota keluarga yang lain atas doa dan dukungannya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan karya akhir ini.
8. Semua teman sejawat peserta Program Pendidikan Dokter Spesialis I Ilmu Kesehatan Anak, terutama angkatan Januari 2017 : **dr. Gabriela Angel Mustakim, dr. Eva, dr. Nurul Sylvana Soraya, dr. Andi Noor Fadli Idrus, dr. Misjunaling Palayukan,** dan **dr. Ahmad Ihsan** atas bantuan dan kerjasamanya yang menyenangkan, berbagai suka, dan duka selama penulis menjalani pendidikan.
9. Teman – teman PPDS semester I dan (**dr. Amalia Dwi Ananda K. Sanrang dkk**) tim penelitian penulis (**dr. Misjunaling Palayukan, dr. Rini Wulandari, dr. Utari Prasetyaningrum, dr. Zulyudisiawan Muin,** dan **dr. Randy Suryawan**) yang telah berbaik hati membantu dan bekerjasama dengan baik selama penelitian berlangsung.
10. Semua pihak yang tidak sempat penulis sebutkan satu persatu yang turut membantu menyelesaikan karya akhir ini.

Dan akhirnya penulis berharap semoga tulisan ini dapat memberikan manfaat bagi perkembangan Ilmu Kesehatan Anak di masa mendatang. Tak lupa penulis mohon maaf untuk hal-hal yang tidak berkenan dalam penulisan ini karena penulis menyadari sepenuhnya bahwa penulisan hasil penelitian ini masih jauh dari kesempurnaan.

Makassar, November 2021

Sidrah Darma

ABSTRAK

Pendahuluan : *Saccharomyces boulardii* merupakan probiotik jenis ragi yang saat ini mulai berkembang penelitiannya untuk diketahui pengaruhnya terhadap berbagai macam penyakit dan diharapkan dapat menjadi solusi potensial dalam menanggulangi anemia defisiensi besi.

Tujuan : Menilai khasiat probiotik *Saccharomyces boulardii* pada pengobatan anak dengan defisiensi besi.

Metode : Desain penelitian ini adalah *randomised control trial (RCT)*, *double blind*. Penelitian dilakukan terhadap 400 orang anak usia 1 – 18 tahun di 15 LKSA yang ada di kota Makassar.

Hasil : Total 94 orang anak dengan defisiensi besi terdiri atas 2 kelompok secara random. 46 anak mendapat plasebo bersama terapi standar dan 48 anak mendapat *S. boulardii* bersama terapi standar. Terapi diberikan selama 7 hari, kemudian dinilai kadar hemoglobin, retikulosit, Ret-He, dan RDW-SD antar kedua kelompok. Kadar Ret-He pada kelompok *S. boulardii* lebih tinggi disbanding kelompok kontrol dengan nilai $p = 0.037$ ($p < 0.037$). Sedangkan kadar hemoglobin, retikulosit, dan RDW-SD pada kelompok *S. boulardii* lebih rendah disbanding kelompok kontrol ($p = 0.535$, $p = 0.914$, $p = 0.433$) . Tidak terdapat perbedaan signifikan terhadap selisih kadar hemoglobin, retikulosit, Ret-He, dan RDW-SD antara kelompok plasebo dan *S. boulardii*

Kesimpulan : Anak dengan defisiensi besi yang mendapat *S. boulardii* bersama terapi standar selama 7 hari menunjukkan kadar Ret-He yang lebih tinggi daripada yang mendapatkan plasebo bersama terapi standar.

Kata Kunci : *Saccharomyces boulardii*, Defisiensi besi, Anak

ABSTRACT

Background : *Saccharomyces boulardii* is a yeast type probiotic which research is recently starting to develop to determine its effect on various diseases and is expected to be a potential solution in overcoming iron deficiency.

Objective : The aim of this study to assess the efficacy of the probiotic *Saccharomyces boulardii* in of children with iron deficiency therapy.

Methods : The study design was a randomized control trial (RCT), double blind. The study was conducted on 400 children aged 1-18 years in 15 orphanage in the city of Makassar.

Result : A total of 94 children with iron deficiency were randomized into 2 groups. Forty-six children received placebo with standard therapy, whereas the other 48 received *S. boulardii* with standard therapy. Therapy was given for 7 days, then assessed hemoglobin, reticulocyte, Ret-He, and RDW-SD levels between the two groups. Ret-He value in the *S. boulardii* group were higher than the control group with $p = 0.037$ ($p < 0.05$). However, hemoglobin, reticulocytes, and RDW-SD values in the *S. boulardii* group were lower than in the control group ($p = 0.535$, $p = 0.914$, $p = 0.433$, respectively). There was no significant difference in the difference in hemoglobin, reticulocyte, Ret-He, and RDW-SD levels between the placebo and *S. boulardii* groups.

Conclusion : Children with iron deficiency receiving *S. Boulardii* with standard therapy for 7 days show higher Ret-He levels than those receiving placebo with standard therapy.

Key words : *Saccharomyces boulardii*, Iron deficiency, Child

DAFTAR ISI

| | |
|--|--------------|
| HALAMAN JUDUL | i |
| HALAMAN PENGAJUAN KARYA AKHIR | ii |
| HALAMAN PENGESAHAN | iii |
| HALAMAN PERYATAAN KEASLIAN | iv |
| HALAMAN PENGANTAR | v |
| ABSTRAK | ix |
| DAFTAR ISI..... | xi |
| DAFTAR TABEL..... | xv |
| DAFTAR GAMBAR..... | xvii |
| DAFTAR ARTI SINGKATAN | xviii |
| BAB I. PENDAHULUAN | |
| 1.1. Latar Belakang | 1 |
| 1.2 Rumusan Masalah..... | 7 |
| 1.3 Tujuan Penelitian | 7 |
| 1.3.1 Tujuan Umum | 7 |
| 1.3.2 Tujuan Khusus..... | 7 |
| 1.4 Hipotesis Penelitian | 8 |
| 1.5 Manfaat Penelitian | 8 |
| 1.5.1 Pengembangan Ilmu | 8 |
| 1.5.2 Pengembangan/Pemecahan Masalah Medis | 9 |
| 1.5.3 Data Penelitian Selanjutnya | 9 |

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Anemia Defisiensi Besi

| | |
|--|----|
| 2.1.1 Definisi Anemia Defisiensi Besi..... | 10 |
| 2.1.2 Epidemiologi Anemia Defisiensi Besi..... | 12 |
| 2.1.3 Etiologi Anemia Defisiensi Besi..... | 14 |
| 2.1.4 Metabolisme dan Absorpsi Besi | 18 |
| 2.1.5 Faktor yang Mempengaruhi Absorpsi Besi | 28 |
| 2.1.6 Gejala Klinis | 30 |
| 2.1.7 Pemeriksaan Laboratorium | 34 |
| 2.1.8 Penatalaksanaan | 42 |
| 2.1.9 Diagnosis Banding | 44 |

2.2 Probiotik

| | |
|--|----|
| 2.2.1 Definisi Probiotik | 45 |
| 2.2.2 Koloni Usus dan Mikroorganisme Probiotik | 46 |
| 2.2.3 Fungsi Probiotik | 48 |
| 2.2.4 Metabolisme Probiotik..... | 55 |
| 2.2.5 Dosis Probiotik | 57 |
| 2.2.6 Toksisitas Probiotik | 58 |
| 2.2.7 Toksonomi <i>Saccharomyces Boulardii</i> | 59 |
| 2.2.8 Mekanisme Kerja <i>Saccharomyces boulardii</i> | 60 |
| 2.2.9 Peranan Probiotik Pada Anemia Defisiensi Besi | 63 |

| | |
|--------------------------|----|
| 2.3 Kerangka Teori | 70 |
|--------------------------|----|

BAB III. KERANGKA KONSEP..... 71

BAB IV. METODE PENELITIAN

| | | |
|---------|--|----|
| 4.1 | Desain Penelitian | 72 |
| 4.2 | Lokasi dan Waktu Penelitian | 72 |
| 4.3 | Populasi dan Sampel Penelitian | 72 |
| 4.3.1 | Populasi Target | 73 |
| 4.3.2 | Populasi Terjangkau | 73 |
| 4.3.3 | Sampel | 73 |
| 4.3.4 | Cara Pengambilan Sampel | 73 |
| 4.3.5 | Perkiraan Besar Sampel | 74 |
| 4.4 | Kriteria Inklusi dan Eksklusi | 75 |
| 4.4.1 | Kriteria Inklusi..... | 75 |
| 4.4.2 | Kriteria Eksklusi..... | 75 |
| 4.4.3 | Kriteria <i>Drop Out</i> | 75 |
| 4.5 | Izin Penelitian dan <i>Ethical Clearance</i> | 76 |
| 4.6 | Cara Kerja | 76 |
| 4.6.1 | Alokasi Subyek..... | 76 |
| 4.6.2 | Prosedur Penelitian | 77 |
| 4.6.2.1 | Pencatatan Data Sampel | 77 |
| 4.6.2.2 | Pemeriksaan Laboratorium | 77 |
| 4.6.3 | Prosedur Terapi | 77 |
| 4.6.4 | Evaluasi Klinis | 79 |
| 4.6.5 | Alur Penelitian | 79 |
| 4.6.6 | Identifikasi dan Klasifikasi Variabel | 80 |

| | |
|---|------------|
| 4.6.7 Definisi Operasional dan Kriteria Objektif | 80 |
| 4.6.7.1 Definisi Operasional..... | 80 |
| 4.6.7.2 Kriteria Objektif | 83 |
| 4.6.8 Pengolahan dan Analisis Data | 85 |
| BAB V HASIL PENELITIAN | |
| 5.1 Jumlah Sampel | 87 |
| 5.2 Karakteristik Sampel | 89 |
| 5.3 Evaluasi Hasil Terapi | 91 |
| 5.3.1 Perbandingan kadar Hb, Ret, Ret-He, dan RDW-SD pada masing – masing kelompok perlakuan | 91 |
| 5.3.2 Perbandingan kadar Hb, Ret, Ret-He, dan RDW-SD antara kelompok plasebo dan <i>S.</i> <i>boulardii</i> | 93 |
| BAB VI PEMBAHASAN | 101 |
| BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN | 112 |
| DAFTAR PUSTAKA..... | 114 |
| LAMPIRAN..... | 120 |

DAFTAR TABEL

| Nomor | Halaman |
|---|---------|
| 1. Kadar Hemoglobin Sesuai Usia | 10 |
| 2. Pemeriksaan Laboratorium Anemia Defisiensi Besi | 37 |
| 3. Respon terapi besi | 44 |
| 4. Mikroorganisme Probiotik | 48 |
| 5. Beberapa Deskripsi Produk <i>S. boulardii</i> di Eropa & Amerika | 58 |
| 6. Perbandingan Mekanisme kerja Probiotik | 61 |
| 7. Efek Probiotik pada Beberapa Tipe Defisiensi Besi | 68 |
| 8. Karakteristik Sampel Berdasarkan Klinis | 89 |
| 9. Karakteristik Sampel Berdasarkan Parameter Laboratorium | 90 |
| 10. Analisis Kadar Hb, Ret, Ret-He, dan RDW-SD kelompok plasebo dan <i>S. boulardii</i> Sebelum Perlakuan | 90 |
| 11. Analisis Kadar Hb, Ret, Ret-He, dan RDW-SD Kelompok Plasebo Sebelum dan Sesudah Perlakuan | 92 |
| 12. Analisis Kadar Hb, Ret, Ret-He, dan RDW-SD Kelompok <i>S. boulardii</i> Sebelum dan Sesudah Perlakuan | 92 |
| 13. Analisis Kadar Hb, Ret, Ret-He, dan RDW-SD kelompok plasebo dan <i>S. boulardii</i> Sebelum dan Sesudah Perlakuan | 94 |
| 14. Perbandingan Selisih Kadar Hb, Ret, Ret-He, dan RDW-SD kelompok plasebo dan <i>S. boulardii</i> Sebelum dan Sesudah Perlakuan | 95 |

15. Perbandingan Perubahan Kadar Hb, Ret, Ret-He, dan RDW-SD kelompok plasebo dan *S. boulardii* Sebelum dan Sesudah Perlakuan

96

DAFTAR GAMBAR

| Nomor | | |
|-------|---|----|
| 1. | Insidens Anemia Defisiensi Besi | 13 |
| 2. | Distribusi ADB sesuai Umur & Jenis Kelamin di Indonesia | 13 |
| 3. | Homeostasis Besi | 19 |
| 4. | Metabolisme Zat Besi | 20 |
| 5. | Mekanisme Penyerapan Zat Besi di Enterosit Duodenum | 21 |
| 6. | Absopsi Besi | 22 |
| 7. | Pengaturan Besi oleh Mukosa Usus | 24 |
| 8. | Mikrograf Elektron dari Sel-Sel Goblet Mukosa Usus | 24 |
| 9. | Peranan Hcpidin Pada Homeostasis Besi | 27 |
| 10. | Konjunktiva anemis | 31 |
| 11. | <i>Angularis Cheilitis</i> | 31 |
| 12. | Glossitis | 32 |
| 13. | Koilonikia (<i>Spoon nail</i>) | 32 |
| 14. | Hipokromik Mikrositik | 35 |
| 15. | Mikroflora Usus | 47 |
| 16. | Mekanisme Kerja Probiotik | 49 |
| 17. | Probiotik Dimetabolisme Oleh Mikroba Komensal Usus | 50 |
| 18. | Mikrografi elektron <i>S. boulardii</i> | 59 |
| 19. | Mekanisme Kerja Probiotik <i>S. boulardii</i> | 61 |
| 20. | Mekanisme Regulasi Besi di Lumen Usus | 64 |
| 21. | Skema Penelitian | 88 |

DAFTAR ARTI SINGKATAN

| SINGKATAN | ARTI DAN KETERANGAN |
|------------------|---|
| AAD | <i>Antibiotic-Associated Diarrhea</i> |
| ADB | Anemia Defisiensi Besi |
| ASI | Air Susu Ibu |
| BB | Berat Badan |
| B. longum | <i>Bifidobacterium Longum</i> |
| CFU | <i>Colony Forming Unit</i> |
| DCs | <i>Dendritic Cells</i> |
| DNA | <i>Deoxyribonucleic Acid</i> |
| DMT-1 | <i>Duodenal Metal Transporter 1</i> |
| E. coli | <i>Escherichia coli</i> |
| Fe ²⁺ | Besi Ferro |
| Fe ³⁺ | Besi Ferri |
| FEP | <i>Free erythrocyte protoporphyrins</i> |
| Hb | Hemoglobin |
| HFE | <i>High Fe²⁺</i> |
| IDAI | Ikatan Dokter Anak Indonesia |
| IECs | <i>Intestinal Epithelial Cells</i> |
| IgA | Immunoglobulin A |
| IgM | Immunoglobulin M |
| IL 6 | Interleukin 6 |
| IRE | <i>Iron Responsive Element</i> |
| IREG 1 | <i>Iron-Regulated Transporter 1</i> |

| | |
|------------------------|---|
| JNK 2 | Janus Kinase 2 |
| <i>L. acidophyllus</i> | <i>Lactobacillus acidophyllus</i> |
| LPS | Lipopolisakarida |
| MCH | <i>Mean Corpuscular Hemoglobin</i> |
| MCV | <i>Mean Corpuscular Volume</i> |
| MP-ASI | Makanan Pendamping ASI |
| mRNA | <i>Messenger-Rybonucleic Acid</i> |
| pH | <i>Power of Hydrogen</i> |
| PRC | <i>Packed Red Cell</i> |
| RCT | <i>Randomized Controlled Trial</i> |
| RDW | <i>Red Cell Distribution Width</i> |
| Riskesmas | Riset Kesehatan Dasar |
| <i>S. aureus</i> | <i>Staphylococcus aureus</i> |
| SCFA | <i>Short Chain Fatty Acids</i> |
| SEANUTS | <i>South East Asia Nutrition Survey</i> |
| sIgA | <i>Secretory Immunoglobulin A</i> |
| TIBC | <i>Total Iron Binding Capacity</i> |
| TfR | <i>Transferrin Receptor</i> |
| TLR | <i>Toll Like Receptor</i> |
| TTD | Tablet Tambah Darah |
| WHO | <i>World Health Organization</i> |

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Anemia merupakan masalah kesehatan global yang prevalensinya terus meningkat setiap tahun. Anemia yang paling banyak terjadi baik di negara maju maupun negara berkembang adalah anemia defisiensi besi. Anemia defisiensi besi ini merupakan anemia yang disebabkan karena defisiensi zat besi dan dapat diderita oleh siapapun termasuk bayi, anak-anak, bahkan orang dewasa baik pria maupun wanita. (WHO, 2015)

Anemia defisiensi besi (ADB) adalah anemia akibat kekurangan zat besi untuk sintesis hemoglobin, dan merupakan defisiensi nutrisi paling banyak pada anak dan menyebabkan masalah kesehatan paling besar di seluruh dunia, terutama di negara berkembang termasuk Indonesia. (IDAI, 2009)

Zat besi merupakan mikromineral yang berperan penting dalam proses pembentukan hemoglobin dalam sel darah merah. Zat besi merupakan komponen penting dalam hemoglobin yang berfungsi mengikat zat-zat yang akan diangkut oleh hemoglobin. Asupan zat besi yang cukup dapat membantu meningkatkan kadar hemoglobin dalam darah serta mengoptimalkan fungsinya sebagai pengangkut oksigen ke seluruh jaringan tubuh. (Sunberg, M., 2011)

Diperkirakan sekitar 30% populasi dunia mengalami anemia defisiensi besi, dan kebanyakan mereka hidup di negara berkembang. Di Indonesia anemia defisiensi besi juga merupakan salah satu masalah kesehatan utama yang angka kejadiannya cukup tinggi. Berdasarkan laporan Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas, 2013), sebanyak 21,7% penduduk di Indonesia mengalami anemia. Angka kejadian ADB pada anak usia 12 – 59 bulan sebesar 28,1%, 5 – 14 tahun sebesar 26,4%, dan usia 15 – 24 tahun sebesar 18,4%. Kondisi ini perlu mendapat perhatian serius sebab anemia memiliki dampak luas yang dapat menurunkan kualitas sumber daya manusia karena dapat menyebabkan gangguan pertumbuhan dan perkembangan pada anak, menurunkan konsentrasi, dan menurunkan produktivitas kerja. (Riskesdas, 2018)

Pada kondisi kekurangan zat besi dapat terjadi gangguan metabolisme di pusat kendali emosi dan kognitif, serta menurunkan aktivitas enzim triptofan dan tirosin hidroksilase yang mengakibatkan gangguan produksi serotonin dan dopamin. Hal ini membuat anak tidak mampu mengendalikan diri dan perasaan, tidak mampu memusatkan perhatian, dan terjadi gangguan perilaku. Besi sangat dibutuhkan untuk metabolisme susunan saraf pusat karena peranannya dalam sintesis neurotransmitter, pembentukan mielin dan pertumbuhan otak. Sistem neurotransmitter susunan saraf pusat sangat sensitif terhadap perubahan status besi. Bila kandungan besi total dalam otak berkurang 15% di bawah normal, dapat mengakibatkan gangguan sistem neurotransmitter tersebut.

Defisiensi besi selama periode kritis perkembangan otak diduga menyebabkan kerusakan ireversibel sehingga menyebabkan keterlambatan perkembangan. (Masloman, N, 2006)

Suplementasi besi pada remaja putri merupakan upaya pemerintah untuk menanggulangi anemia defisiensi besi. Proporsi remaja putri yang mendapat tablet tambah darah (TTD) di sekolah sekitar 80.9%. (Riskesdas, 2018)

Pada anemia defisiensi besi, dapat terjadi gangguan absorpsi besi di usus dan juga adanya gangguan mukosa usus. Selain itu, saat pemberian terapi besi dapat menyebabkan diare yang akan berakibat gangguan pada mukosa usus, sehingga absorpsi mineral (termasuk zat besi) di usus menurun. Bakteri patogen yang ada di usus seperti *E. coli* juga dapat menurunkan absorpsi besi. (Ghanchi, A., 2019)

Solusi potensial yang bisa dikembangkan untuk mengatasi masalah anemia defisiensi besi adalah dengan mengoptimalkan peran probiotik. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa probiotik mempengaruhi penyerapan besi di usus. Penelitian terhadap probiotik *Lactobacillus plantarum* menunjukkan hasil positif terhadap peningkatan penyerapan besi di usus. (Sunberg, M., 2011) Probiotik bekerja di traktus intestinal dengan menurunkan pH dan bakteri patogen di usus, sehingga besi yang diserap akan meningkat dan terjadi perbaikan mukosa usus. (Anugroho, D., 2014)

Probiotik merupakan mikroorganisme hidup yang saat ini banyak dikembangkan dan memberi manfaat kesehatan, umumnya dalam

memperbaiki atau memulihkan flora usus. Berbagai mikroorganisme sebagai sumber probiotik adalah berasal dari bakteri *Lactobacillus species*, *Bifidobacterium species*, ragi *Saccharomyces boulardii*, dan jamur. (Silalahi, Jansen, 2006)

Probiotik berperan dalam penyerapan zat besi dengan bekerja secara langsung pada sel epitel dengan meningkatkan ekspresi dan ekskresi musin dari sel goblet yang menghambat proliferasi kuman patogen atau komensal dan mempengaruhi integritas barrier mukosa. Probiotik juga meningkatkan stabilitas *tight junction*, yang mengurangi permeabilitas patogen dan produknya sehingga mukosa usus tidak terikat pada patogen tetapi lebih pada zat yang dibutuhkan tubuh, seperti zat besi. Probiotik mempengaruhi kekebalan mukosa dengan meningkatkan jumlah penghasil sIgA sel di lamina propria, yang mencegah kolonisasi pada epitel dengan mengikat bakteri dan antigen sehingga mempengaruhi keseimbangan gastrointestinal. Probiotik juga memperbaiki permukaan apikal usus sehingga mempengaruhi transporter logam divalen-1 (DMT-1) di *brush border*, dimana DMT 1 memiliki peranan penting dalam transpor besi. Probiotik memiliki efek imunomodulator dengan menurunkan sitokin proinflamasi (interleukin 6, interleukin 12, interleukin 17 dan TNF- α) dan meningkatkan sitokin anti inflamasi (interleukin 10 dan TGF- β) serta meningkatkan aktivitas *Natural Killer cell*. (Ohland et al, 2010)

Penelitian yang dilakukan Mogilner et al pada tahun 2007 melaporkan bahwa pemberian *Lactobacillus GG* menurunkan proses

apoptosis enterosit pada hewan coba tikus dengan *short bowel syndrom*. Probiotik bermanfaat menghasilkan *short chain fatty acid* (SCFA) yang berperan dalam meningkatkan proses proliferasi epitel enterosit, sehingga mempengaruhi morfologi dan fisiologi mukosa epitel usus dengan cara memperlebar dan memperdalam villi dan kripta usus, sehingga absorpsi zat makanan meningkat. Selain itu, probiotik dapat meningkatkan jumlah sel goblet pada mukosa intestinal dengan mensekresi mukus dari sel goblet yang merupakan salah satu faktor pendukung *barrier* intestinal, sehingga mencegah invasi kuman patogen ke dalam saluran cerna. (Matur et al, 2014)

Penelitian yang dilakukan oleh Yaghchi et al menjelaskan bahwa terjadi peningkatan kadar serum besi dan *total iron binding capacity* (TIBC) pada hewan coba yang terpapar toksin aluminium dan mendapatkan terapi probiotik *saccharomyces boulardii*. (Yaghchi et al, 2018)

Beberapa cara eliminasi kuman patogen oleh probiotik, seperti *Saccharomyces boulardii*, antara lain meningkatkan status imun mukosa usus, proses inhibisi, mengeluarkan hasil akhir metabolik seperti misalnya asam yang akan menurunkan pH lingkungan saluran cerna, dalam suasana asam dapat hidup dengan sedangkan bakteri patogen tidak dapat hidup. Probiotik juga mampu menurunkan konsentrasi endotoksin bakteri secara signifikan. Hal ini dimungkinkan oleh karena kemampuan probiotik meningkatkan pertahanan mukosa untuk mencegah translokasi kuman (Collins, M.D. and Glenn R.G., 1999).

Saccharomyces boulardii merupakan probiotik jenis ragi yang saat ini mulai berkembang penelitiannya untuk diketahui pengaruhnya terhadap berbagai macam penyakit. Sediaan probiotik yang digunakan penelitian ini hanya mengandung 1 strain probiotik (*Saccharomyces boulardii*), berbeda dengan beberapa penelitian yang telah dilakukan sebelumnya yang menggunakan multi-strain probiotik dengan menggunakan probiotik jenis bakteri. Peranan probiotik *Saccharomyces boulardii* sebagai terapi suportif pada tatalaksana anemia defisiensi besi masih sangat jarang dilaporkan. Suatu penelitian yang dilaporkan oleh Yaghici et al pada mencit yang terpapar toksin alumunium sehingga mengalami disregulasi hematopoiesis kemudian diberikan terapi probiotik *S. boulardii*, menunjukkan peningkatan kadar serum besi dan *total iron binding capacity* (TIBC). (Yaghici et al, 2018). Oleh karena itu, **penting** dilakukan penelitian ini untuk mengetahui apakah terdapat khasiat pemberian probiotik *saccharomyces boulardii* pada anak dengan anemia defisiensi besi.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui bagaimana khasiat pemberian probiotik *saccharomyces boulardii* pada anak yang menderita anemia defisiensi besi, sehingga ini merupakan penelitian awal yang nantinya diharapkan dapat digunakan sebagai salah satu alternatif terapi suportif untuk mengatasi permasalahan anemia. Oleh karena itu, peneliti memandang **perlu** melakukan penelitian ini.

Penelitian tentang pengaruh pemberian probiotik *saccharomyces boulardii* terhadap anemia defisiensi besi pada anak **belum pernah** diteliti sebelumnya di Indonesia.

1.2 Rumusan Masalah

Dengan memperhatikan latar belakang permasalahan, maka dirumuskan masalah penelitian sebagai berikut : apakah probiotik *saccharomyces boulardii* dapat mempengaruhi kadar hemoglobin, retikulosit, retikulosit hemoglobin (Ret-He), dan *red distribution width* (RDW) pada pengobatan anak dengan defisiensi besi?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Menilai khasiat probiotik *Saccharomyces boulardii* pada pengobatan anak dengan defisiensi besi.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Menentukan anak yang mengalami defisiensi besi setelah dilakukan pemeriksaan ferritin, hemoglobin, retikulosit, retikulosit hemoglobin (Ret-He), dan *red distribution width* (RDW).
2. Mengukur kadar hemoglobin, retikulosit, Ret-He, dan RDW anak yang menderita defisiensi besi sebelum diberikan terapi standar bersama plasebo dan terapi standar bersama *Saccharomyces boulardi*.

3. Mengukur kadar hemoglobin, retikulosit, Ret-He, dan RDW anak yang menderita defisiensi besi setelah diberikan terapi standar bersama plasebo dan terapi standar bersama *Saccharomyces boulardi*.
4. Membandingkan selisih kadar hemoglobin, retikulosit, Ret-He, dan RDW sebelum dan sesudah pemberian terapi standar bersama plasebo dan terapi standar bersama *Saccharomyces boulardi* pada anak dengan defisiensi besi.

1.4 Hipotesis

Hipotesis yang diajukan pada penelitian ini adalah :

- 1) Kadar hemoglobin, retikulosit, dan Ret-He, anak dengan defisiensi besi yang diberikan terapi standar bersama probiotik *Saccharomyces boulardii* lebih tinggi dibandingkan dengan terapi standar bersama plasebo.
- 2) Kadar RDW-SD anak dengan defisiensi besi yang diberikan terapi standar bersama probiotik *Saccharomyces boulardii* lebih rendah dibandingkan dengan terapi standar bersama plasebo.

1.5 Manfaat Penelitian

1.5.1 Pengembangan Ilmu

1. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah informasi ilmiah mengenai khasiat pemberian probiotik *Saccharomyces boulardii*

untuk meningkatkan kadar hemoglobin, retikulosit, Ret-He, dan RDW pada pengobatan anak dengan defisiensi besi.

2. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi dan pengembangan yang berarti terhadap penelitian-penelitian tentang khasiat pemberian probiotik *Saccharomyces boulardii* terhadap anak dengan defisiensi besi.

1.5.2 Manfaat untuk pengembangan / pemecahan masalah medis

1. Memberi informasi dan membantu klinisi dalam penanggulangan defisiensi besi, sehingga dapat tercapai efektivitas dan efisiensi dalam pengobatan penderita.
2. Penelitian ini diharapkan dapat mempercepat pemulihan (tercapainya kadar hemoglobin, retikulosit, Ret-He, dan RDW-SD yang normal) dan menurunkan angka kejadian defisiensi besi pada anak.

1.5.3 Data penelitian selanjutnya

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi dan pengembangan yang berarti terhadap penelitian-penelitian selanjutnya tentang khasiat pemberian probiotik *Saccharomyces boulardii* terhadap anak dengan defisiensi besi. Penelitian selanjutnya untuk mengetahui bagaimana khasiat pemberian probiotik terhadap kejadian defisiensi besi pada anak.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Defisiensi Besi

2.1.1 Definisi Defisiensi Besi

Anemia adalah berkurangnya nilai hemoglobin dari batas normal sesuai usia. Batasan anemia yang ditetapkan WHO untuk anak usia 6 bulan – 5 tahun yaitu 11 g/dL, usia 5 – 11 tahun sebesar 11.5 g/dL, dan untuk anak usia lebih dari 12 tahun adalah 12 g/dL. (Purnamasari, R., et al, 2018)

| Umur | Kadar Hb normal |
|-------------------|-----------------|
| Bayi baru lahir | 13.5 – 18.5 |
| 2 – 6 bulan | 9.5 – 13.5 |
| 6 bulan – 2 tahun | 9.5 – 13.5 |
| 2 tahun – 6 tahun | 11.0 – 14.0 |
| 6 – 12 tahun | 11.5 – 15.5 |
| Dewasa laki -laki | 13.0 – 17.0 |
| Dewasa perempuan | 12.0 – 15.0 |

Tabel 1. Kadar hemoglobin sesuai usia (WHO, 2002)

Anemia defisiensi besi (ADB) adalah anemia yang disebabkan oleh berkurangnya cadangan besi tubuh untuk membentuk eritrosit. Terri menyebutkan bahwa anemia defisiensi besi adalah anemia yang terjadi akibat kekurangan zat besi untuk membentuk sel darah merah yang normal. (Terry D.J., 2011)

Definisi anemia defisiensi besi berdasarkan beberapa indikator yang berguna untuk penilaian yang berbasis populasi, bila memungkinkan untuk mengukur beberapa indikator. Kombinasi terbaik adalah hemoglobin, reseptor transferrin serum, dan ferritin serum atau pemeriksaan sumsum tulang. Kombinasi tersebut mencerminkan kerusakan fungsional, status cadangan besi, dan efek besi terhadap jaringan tubuh. (WHO, 2015)

Anemia defisiensi besi merupakan hasil akhir keseimbangan negatif besi yang berlangsung lama. Bila kemungkinan keseimbangan besi yang negatif ini menetap, akan menyebabkan cadangan besi terus berkurang. Berikut tingkatan defisiensi besi, yaitu: (Muhammad, A. and Sianipar, O., 2005)

1) Tahap 1 : depleksi besi (*Iron depletion*).

Tahap ini ditandai dengan penurunan ferritin serum $< 12 \mu\text{g/L}$ dan besi di sumsum tulang kosong atau positif satu, sedangkan komponen yang lain seperti *total iron binding capacity* (TIBC), besi serum, saturasi transferrin, RDW, MCV, MCH, dan hemoglobin dalam batas normal.

2) Tahap 2 : eritropoiesis defisiensi besi (*Iron deficient erythropoiesis*)

Tahap kedua ini ditandai dengan penurunan kadar ferritin serum, besi serum, saturasi transferin dan besi di sumsum tulang kosong, tetapi TIBC meningkat $> 390 \mu\text{g/dL}$. Komponen lainnya masih normal.

3) Tahap 3 : anemia defisiensi besi (*Iron deficiency anemia*)

Tahap ketiga atau tahap akhir dari defisiensi besi adalah menurunnya kadar ferritin serum dan hemoglobin dalam sel darah merah. Semua komponen lain juga akan mengalami perubahan seperti gambaran morfologi sel darah menjadi mikrositik hipokrom.

2.1.2 Epidemiologi Anemia Defisiensi Besi

Secara global, sekitar 300 juta anak di seluruh dunia mengalami anemia pada tahun 2011. (WHO, 2015) ADB adalah salah satu masalah kesehatan gizi utama di dunia, di Asia Tenggara, termasuk Indonesia. Penelitian Schneider dkk di negara bagian California, Amerika Serikat, tahun 2002 pada 498 anak berusia 12 sampai 36 bulan dari keluarga berpenghasilan rendah menemukan prevalensi ADB 3.4%. Sekitar 9% remaja Amerika Serikat kekurangan besi dan 2% menderita anemia, sedangkan pada anak lelaki sekitar 50% kekurangan besi saat pubertas. Prevalensi ADB lebih tinggi pada anak kulit hitam dibanding anak kulit putih. Keadaan ini mungkin berhubungan dengan status sosial ekonomi anak kulit hitam yang lebih rendah. (Ringgorino, H.P., 2009)

Data dari *South East Asia Nutrition Survey* (SEANUTS) tahun 2013 didapatkan 55% anak usia 6-21 bulan menderita anemia. Prevalensi ADB pada anak balita di negara berkembang sekitar 40-45%. Di Indonesia, ADB merupakan salah satu masalah kesehatan gizi utama. Suatu penelitian

terhadap 990 bayi Indonesia berusia 3-5 bulan, menunjukkan prevalensi ADB 71%. (Purnamasari, R., et.al, 2018)

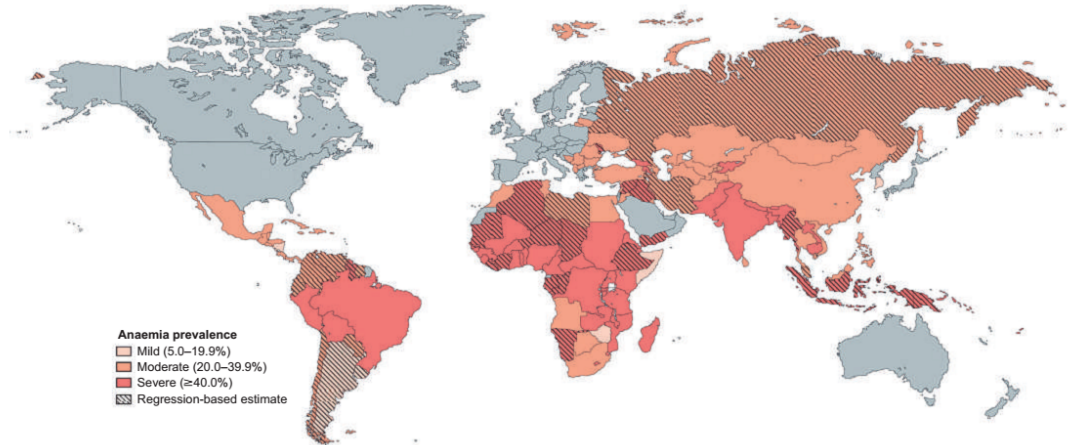
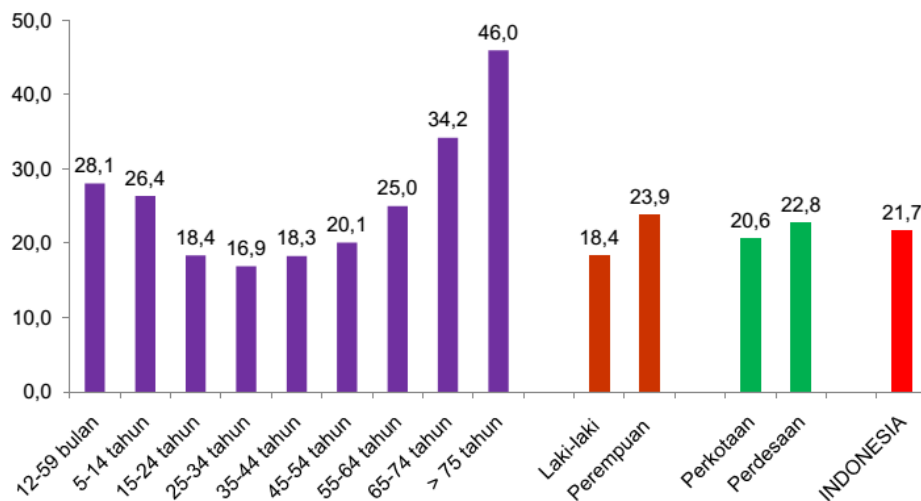


Figure 447-1 Global prevalence of anaemia in children of preschool age (0-5 yr). (Adapted from Worldwide prevalence of anaemia 1993-2005: WHO global database on anaemia. Geneva, Switzerland, 2008, World Health Organization.)

Gambar 1. Insidens Anemia Defisiensi Besi (WHO, 2015)



Gambar 2. Distribusi ADB sesuai Umur dan Jenis Kelamin di Indonesia (Riskesdas, 2013)

Di Indonesia, anemia defisiensi besi juga merupakan salah satu masalah kesehatan utama yang angka kejadiannya cukup tinggi. Berdasarkan laporan Riset Kesehatan Dasar, sebanyak 21,7% penduduk di Indonesia mengalami anemia. Angka kejadian ADB pada anak usia 12 –

59 bulan sebesar 28,1%, 5 – 14 tahun sebesar 26,4%, dan usia 15 – 24 tahun sebesar 18,4%. (Riskesdas, 2013)

Penelitian Notobroto dan Chatarina pada tahun 2000 menunjukkan bahwa prevalensi anemia pada santriwati sebanyak 87.5% dan penelitian lain di Pondok Pesantren Al Hidayah sekitar 23.53% santriwati mengalami anemia defisiensi besi. Penelitian di Pondok Pesantren Darul Ulum Peterongan Jombang didapatkan sekitar 57.5% santriwati mengalami anemia. (Sya'Bani, I.R.N dan Sumarmi, S., 2016)

2.1.3 Etiologi Anemia Defisiensi Besi

Anemia defisiensi besi sangat ditentukan oleh kemampuan absorpsi besi, diet yang mengandung besi, kebutuhan besi meningkat dan jumlah yang hilang. (Purnamasari, R., 2018)

Kekurangan besi dapat terjadi akibat: (Lestari, L.A and Helmyati, S., 2018)

1. Kebutuhan yang meningkat secara fisiologis

- **Pertumbuhan**

Pada periode partum buhan cepat pada usia 1 tahun pertama dan masa remaja, kebutuhan besi akan meningkat, sehingga pada periode ini ADB meningkat. Pada bayi berumur 1 tahun, berat badan akan meningkat 3 kali lipat dan massa hemoglobin dalam sirkulasi mencapai 2 kali lipat dibandingkan saat lahir. Bayi prematur dengan pertumbuhan sangat cepat, pada usia 1 tahun berat badannya dapat mencapai 6 kali dan massa hemoglobin dalam sirkulasi mencapai 3

kali lipat saat lahir. Kebutuhan zat besi pada remaja (perempuan maupun laki-laki) akan meningkat sejalan dengan cepatnya laju pertumbuhan, bertambahnya massa otot, dan volume darah yang meningkat. Pada masa remaja perempuan, kebutuhan besi akan lebih banyak dengan adanya menstruasi. Kebutuhan remaja laki-laki sekitar 10-12 mg/hari dan perempuan 15 mg/hari.

- Menstruasi

Penyebab kurang besi terjadi pada anak perempuan adalah kehilangan darah lewat menstruasi.

2. Kurangnya besi yang diserap

- Berhubungan dengan makanan yang tidak adekuat

Seorang bayi pada 1 tahun pertama kehidupannya membutuhkan makanan yang banyak mengandung besi. Bayi cukup bulan akan menyerap kurang lebih 200 mg besi selama tahun pertama (0,5 mg / hari) yang sebagian besar digunakan untuk pertumbuhannya. Bayi yang mendapat ASI eksklusif mengalami kekurangan pada 6 bulan pertama. Hal ini disebabkan besi yang terkandung di dalam ASI lebih mudah diserap dibandingkan besi yang terkandung dalam susu formula. Diperkirakan sekitar 40% zat dalam ASI diabsorpsi bayi, sedangkan dari MP-ASI hanya 10% zat yang dapat diabsorpsi.

- Malabsorpsi besi

Keadaan ini sering dijumpai pada anak-anak yang kurang gizi yang mukosa ususnya mengalami perubahan secara histologis dan

fungsional. Pada orang yang telah mengalami gastrektomi parsial atau total sering disertai ADB walaupun diberikan makanan yang cukup besi. Hal ini menyebabkan berkurangnya jumlah asam lambung dan makanan lebih cepat melalui bagian atas usus halus, tempat utama penyerapan besi heme dan non-heme.

3. Perdarahan

Kehilangan darah menyebabkan perdarahan merupakan penyebab penting terjadinya ADB. Kehilangan darah akan mempengaruhi keseimbangan status besi. Kehilangan darah 1 ml akan menurun drastis 0,5 mg, jadi kehilangan darah 3-4 mL / hari (1,5-2 mg besi) dapat mengakibatkan keseimbangan negatif besi.

4. Transfusi fetomaternal

Kebocoran darah kronis ke dalam sirkulasi ibu akan menyebabkan ADB pada akhir masa janin dan pada awal masa neonatus.

5. Hemoglobinuria

Keadaan ini biasanya dijumpai pada anak - anak yang memakai katup jantung buatan. Pada paroksismal nokturnal hemoglobinuria, kehilangan besi melalui urin rata-rata 1,8-7,8 mg / hari.

6. *Iatrogenic blood loss*

Pada anak yang banyak diambil darah vena untuk pemeriksaan laboratorium berisiko untuk menderita ADB.

7. *Idiopathic pulmonary hemosiderosis*

Penyakit ini jarang terjadi. Penyakit ini ditandai dengan pendarahan paru yang hebat dan berulang serta infiltrat paru. Keadaan ini dapat menyebabkan kadar Hb menurun drastis hingga 1,5 - 3 g/dl dalam 24 jam.

8. Latihan yang berlebihan

Pada atlet yang latihan berat seperti olahraga lintas alam, sekitar 40% remaja perempuan dan 17% remaja lelaki kadar ferritin serumnya <10 ug/dL. Perdarahan saluran cerna yang tidak tampak akibat iskemia yang hilang timbul pada usus selama latihan berat terjadi pada 50% pelari.

Anemia defisiensi besi yang terjadi pada bayi dan anak, dapat disebabkan oleh : (Lestari, L.A and Siti Helmyati, 2018)

1. Pengadaan zat besi yang tidak cukup

1) Cadangan besi yang tidak cukup saat lahir

- a. Berat lahir rendah, kurang bulan, atau lahir kembar
- b. Ibu menderita anemia saat hamil
- c. Kehilangan darah saat sebelum atau setelah persalinan pada masa fetus, seperti ada sirkulasi fetus ibu dan perdarahan retroplasenta

2) Asupan zat besi yang tidak adekuat

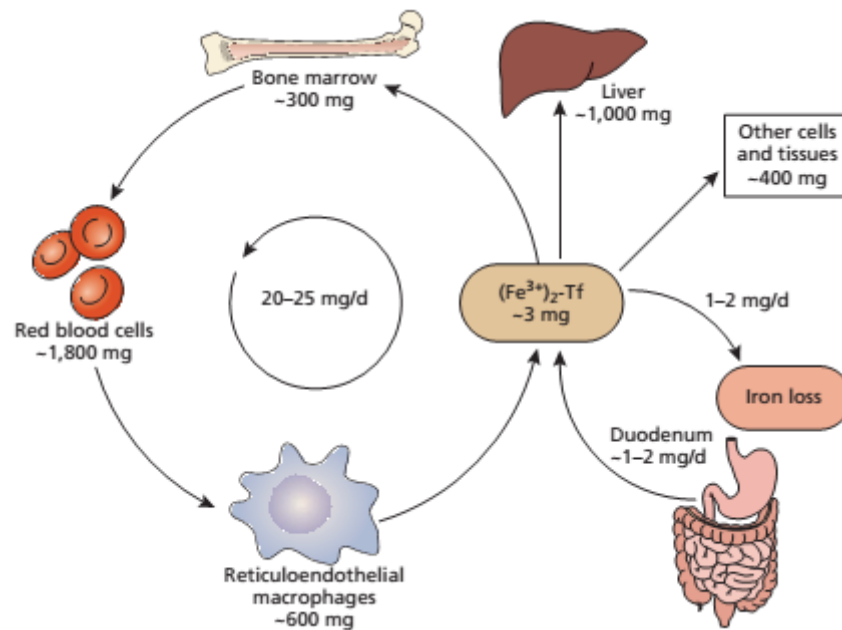
2. Absorpsi besi kurang

1) Diare menahun

- 2) Sindrom malabsorpsi
- 3) Kelainan saluran pencernaan
3. Kebutuhan zat besi yang meningkat seiring pertumbuhan anak, terutama pada anak yang lahir kurang bulan dan pada saat anak remaja.
4. Kehilangan darah
 - 1) Perdarahan yang bersifat akut atau menahun, seperti polip rektum ataupun divertikel Meckel.
 - 2) Infeksi parasit, seperti cacing tambang

2.1.4 Metabolisme dan Absorpsi Besi

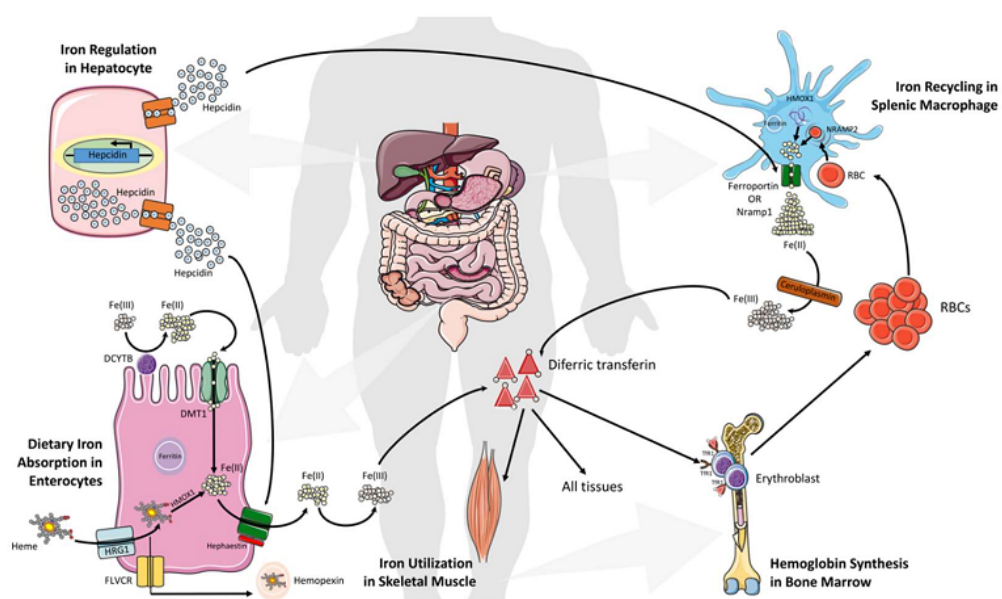
Besi merupakan salah satu dari beberapa mineral penting dalam tubuh selain zinc, selenium, yodium dan lainnya. Semua sel mengandung besi, akan tetapi hemoglobin pada sel darah merah dan mioglobin dalam otot mempunyai konsentrasi tertinggi. (Masloman, N, 2006)



Gambar 3. Homeostasis besi tubuh. Kadar besi plasma dalam tubuh sekitar $10 - 30 \mu\text{M}$. Besi yang bersirkulasi dalam plasma akan berikatan dengan transferrin (Tf). Besi dilepaskan ke sirkulasi melalui enterosit duodenum dan diabsorpsi sekitar $1 - 2 \text{ mg}$ per hari. (Leitch, H.A. and Nemeth, E., 2019)

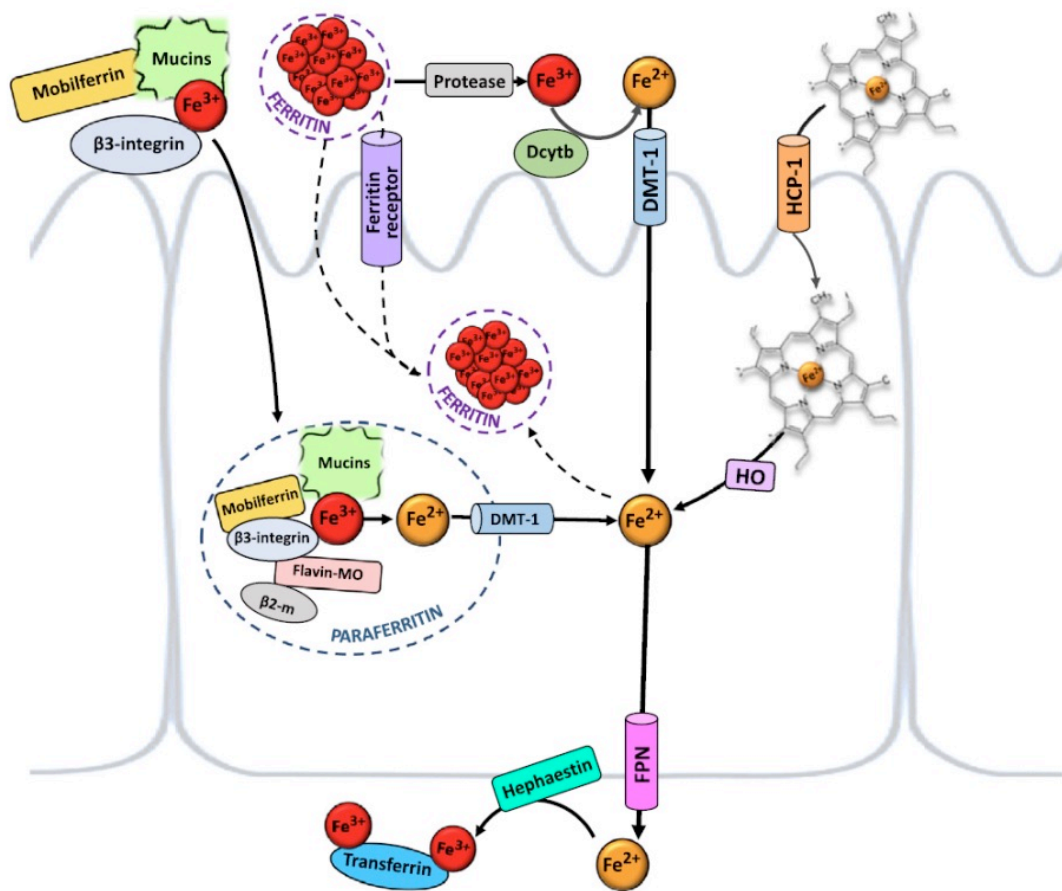
Besi bersama dengan protein (globin) dan protoferrin berperan penting dalam pembentukan hemoglobin. Selain itu, besi juga terdapat dalam beberapa enzim yang berperan dalam metabolisme oksidatif sintesis DNA, neurotransmitter, dan proses katabolisme. (Purnamasari, R., 2018)

Dalam kondisi normal, masukan besi melalui diet sekitar $15 - 25 \text{ mg}$ per hari, namun hanya sekitar $5 - 10\%$ ($1 - 2 \text{ mg}$) besi yang dapat melalui traktus gastrointestinal. Kehilangan besi melalui deskuamasi sel epitel traktus gastrointestinal hampir sama dengan yang diserap. Total rata – rata besi dalam tubuh sekitar $3 - 4 \text{ gram}$ dan lebih rendah pada wanita yang menstruasi. Besi disimpan di dalam sel, terutama dalam makrofag lien, sumsum tulang, dan hepar sebagai ferritin atau hemosiderin.



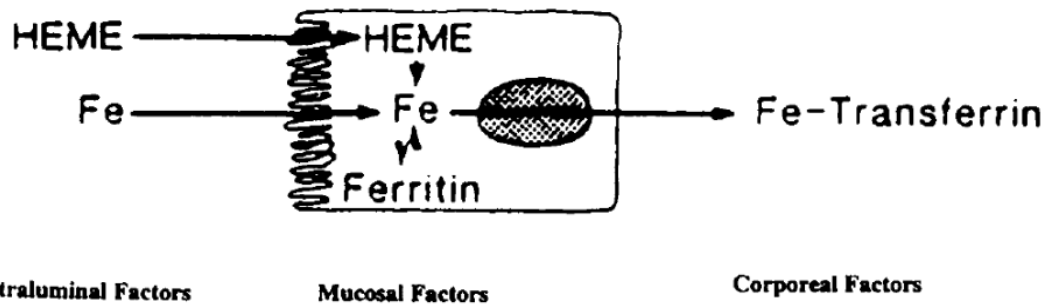
Gambar 4. Metabolisme Zat Besi. Hepcidin diproduksi oleh hepatosit. Hepatosit mengeluarkan hepcidin sesuai dengan ketersediaan besi. DMT-1 pada enterosit, menghantarkan besi dari lumen duodenum ke dalam sel setelah Fe^{3+} direduksi menjadi Fe^{2+} oleh enzim ferrereduktase. Ferroportin di membran enterosit bersama hephaestin (HEPH) untuk mengoksidasi Fe^{2+} menjadi Fe^{3+} . Di samping itu, hepcidin berikatan dengan ferroportin di makrofag dan enterosit duodenum. Transferrin (Tf) plasma mengikat dan mengedarkan besi ke seluruh tubuh; Tf- Fe^{2+} mensuplai besi ke seluruh jaringan tubuh. Sintesis dan sekresi hepcidin oleh hepatosit dipengaruhi oleh kondisi *host*, termasuk inflamasi dan hipoksia. (Yilmas, B. and Li, H., 2018)

Ada 2 cara absorpsi besi dalam usus, yakni non heme yang merupakan *enhancer* dalam penyerapan besi dan heme yang dapat langsung diserap oleh tubuh tanpa memperhatikan cadangan besi dalam tubuh, asam labung, ataupun makanan yang dikonsumsi. (Purnamasari, Rini, 2018)



Gambar 5. Mekanisme penyerapan zat besi di enterosit duodenum. Panah garis lurus menunjukkan mekanisme utama, panah garis terputus merupakan rute minor. Dcytb, duodenal cytochrome b reductase; DMT-1, divalent metal transporter-1; FPN, ferroportin; HCP-1, haem-carrier protein; Flavin-MO, flavin mono-oxygenase; β -2-m, ; β -2-microglobulin; HO, haem oxygenase. (Blanco-Rojo, R. and Vaquero, M. P., 2019)

Proses absorpsi besi non heme lebih mudah dalam bentuk ion ferro (Fe^{2+}), maka ion ferri direduksi oleh enzim ferri reduktase sitokrom (Dcytb) yang terdapat di membran apikal vilus enterosit duodenum menjadi ion ferro dahulu supaya mudah diserap. Selanjutnya ion ferro oleh DMT-1 (*Duodenal Metal Transporter 1*) masuk ke dalam sel melalui *brush border* membran apikal. (Purnamasari, R., 2018)



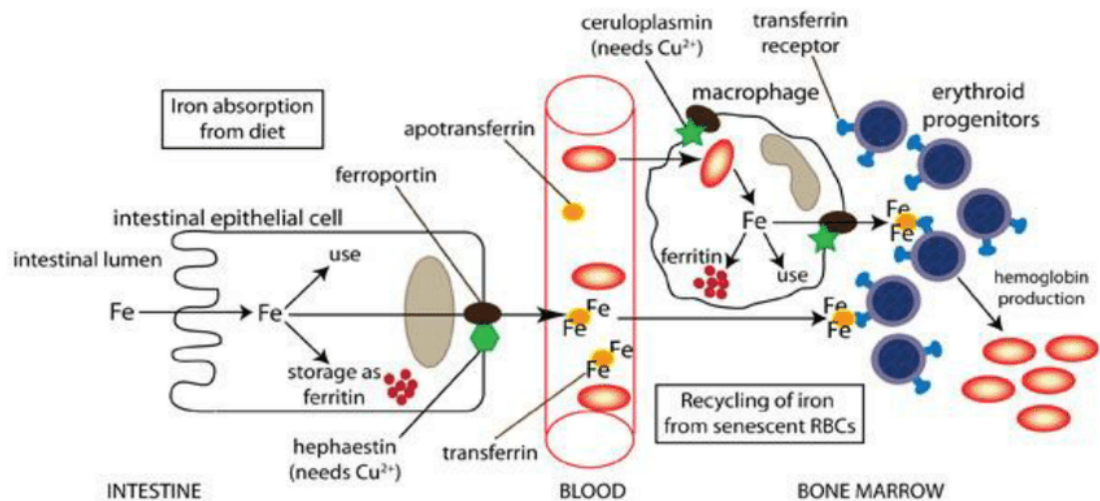
Gambar 6. Absorpsi Besi (Conrad, M.E. and Umbreit, J.N., 2002)

Absorpsi besi paling banyak terjadi pada duodenum dan jejunum proksimal, disebabkan oleh struktur epitel usus yang memungkinkan untuk itu. Proses absorpsi besi dibagi menjadi 3 fase, antara lain sebagai berikut: (Conrad, M.E. and Jay N.U., 2002)

1. Fase luminal : besi dalam makanan diolah dalam lambung kemudian siap diserap di duodenum. Yang berperan dalam fase luminal ini, antara lain: asupan besi (kuantitas dan bentuk besi heme / non heme), pH usus, factor kelasi dan presipitasi.
2. Fase mukosal : proses penyerapan dalam mukosa usus yang merupakan suatu proses yang aktif. Faktor yang berperan dalam fase ini, antara lain: factor anatomi (absorpsi besi, sel epitel usus, *mucosal life span*), motilitas intestinal, besi di mukosa, obat-obatan.
3. Fase korporeal : meliputi proses transportasi besi dalam sirkulasi, utilisasi besi oleh sel-sel yang memerlukan serta penyimpanan besi (*storage*). Faktor yang berperan, antara lain : banyaknya penyimpanan besi, eritropoiesis, anabolisme / katabolisme besi, eritropoiesis inefektif (*thalassemia*, anemia sideroblastic, *congenital dyserythropoietic anemia*), hipoxia.

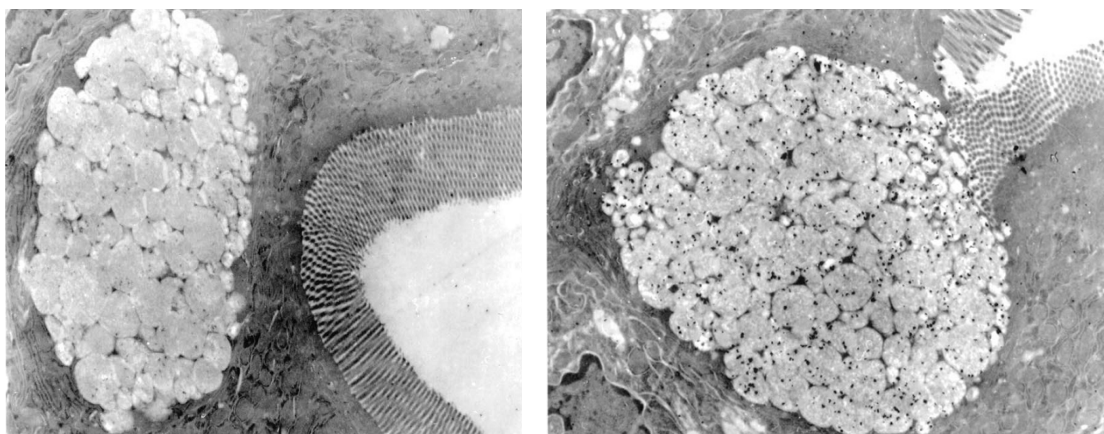
Di dalam sel (endosome) terjadi perubahan pH menjadi asam yang mengakibatkan terlepasnya Fe^{2+} yang sebagian akan disimpan di dalam sel dalam bentuk ferritin dan sebagian lagi diikat oleh ferofortin (IREG 1 atau MTP 1) keluar sel melalui duodenum. Ion ferro kemudian dioksidasi oleh ferooksidase Hephaestin (Hp) menjadi ion ferri dan berikatan dengan transferrin (Tf) masuk ke dalam sirkulasi darah. Apotransferin kemudian dilepaskan ke ekstra sel dan berikatan dengan Fe yang lain. Di dalam sirkulasi darah, ikatan Tf- Fe^{2+} akan mengikat TfR spesifik di permukaan sel (TfR1 atau TfR2) yang membutuhkan besi. Kadar TfR1 mRNA lebih tinggi di hepar dan TfR1 mRNA mengandung IRE (*Iron Responsive Element*). TfR1 mRNA juga ditemukan di sel Kupffe dan sel endotelial. Pada keadaan defisiensi besi maka kadar TfR1 meningkat, sebaliknya pada keadaan kelebihan besi kadar TfR1 berkurang. (Purnamasari, R., 2018)

Penyerapan besi dari Tf berlangsung dengan afinitas rendah. Keadaan ini terjadi melalui TfR2 yang umumnya terdapat pada organ tubuh tertentu dan TfR2 mRNA tidak mengandung IRE. Kadar TfR2 mRNA yang tinggi ditemukan di hepatosit dan kadar yang rendah ditemukan di eritrosit imatur, limpa, paru-paru, otot rangka, dan prostat. Sejumlah kecil TfR2 mRNA juga ditemukan di sel Kupffe dan sel endothelial. TfR2 mRNA terbanyak ditemukan di intraseluler, kadarnya meningkat pada kelebihan besi dan berkurang pada defisiensi besi. (Purnamasari, R., 2018)



Gambar 7. Pengaturan besi oleh mukosa usus (Purnamasari, R., 2018)

Kompleks Tf-Fe²⁺-TfR1 masuk ke dalam sel hepatosit (sel precursor eritrosit dan sel lainnya), lalu terjadi penurunan pH, sehingga Fe²⁺ dilepas. Sebagian Fe²⁺ akan disimpan dalam bentuk ferritin, sebagian lagi akan dibawa ferroportin keluar sel, dan dioksidasi oleh ferooksidase seruloplasmin (Cp). Ikatan Tf-TfR1 akan dibawa ke permukaan sel dan selanjutnya dieksositosis keluar sel menjadi apotransferrin dan TfR1. (Purnamasari, R., 2018)



Gambar 8. Mikrograf elektron dari sel-sel goblet mukosa usus normal (kiri) dan anemia defisiensi besi (kanan). Pada gambar, penelitian dilakukan pada hewan coba tikus yang telah diinkubasi dan menunjukkan peningkatan konsentrasi anti-mobilferrin dan anti-DMT-1 pada musin yang dihasilkan oleh sel goblet dari hewan coba yang mengalami defisiensi

besi. Peningkatan anti-mobilferrin dan anti-DMT 1 menghambat masukan besi ke dalam sel, sehingga absorpsi besi akan menurun. (Conrad, M.E. and Jay N.U., 2002)

Beberapa studi terbaru mendapatkan adanya peran suatu hormon peptida yang kecil bernama hepcidin pada homeostasis besi. Hepcidin adalah suatu peptida asam amino 20-, 22-, atau 25- hasil pemecahan asam amino yang lebih besar dan merupakan suatu *acute phase protein*. Hepcidin dihasilkan oleh hepatosit dan dapat dideteksi dari urin dan serum. Ekspresinya meningkat bila terjadi inflamasi, dan sebaliknya akan menurun dalam keadaan anemia defisiensi besi. Hepcidin merupakan mediator langsung pada suatu inflamasi yang beraksi sebagai regulator negatif penyerapan besi pada usus dan pelepasan oleh makrofag, sehingga pemenuhan kebutuhan besi untuk eritropoiesis menjadi tidak adekuat. (Nicolas G., Bennoun M., Porteau et al, 2002)

Hepcidin akan berikatan dengan ferroportin. Janus Kinase 2 (JNK 2) akan mengaktifkan ikatan antara hepcidin dan ferroportin dan akan terjadi internalisasi dan degradasi ferroportin. Pengaktifan JNK 2 berhubungan dengan pembatasan pengeluaran zat besi dan penurunan eritropoiesis. (Terry D.J. and Graham, D.I.Y., 2011)

Ada 4 jalur yang mempengaruhi produksi hepcidin di hati antara lain :

a) Regulasi yang dipicu oleh aktivitas eritropoesis

Eritropoesis dikendalikan oleh produksi eritropoetin di ginjal. Eritropoetin meningkatkan jumlah prekursor eritroid, yang menyebabkan meningkatnya uptake besi sehingga saturasi besi menurun. Saturasi transferrin yang rendah akan menyebabkan down

regulasi hepcidin melalui mekanisme regulasi yang berkaitan dengan cadangan besi.

b) Regulasi yang berkaitan dengan cadangan besi

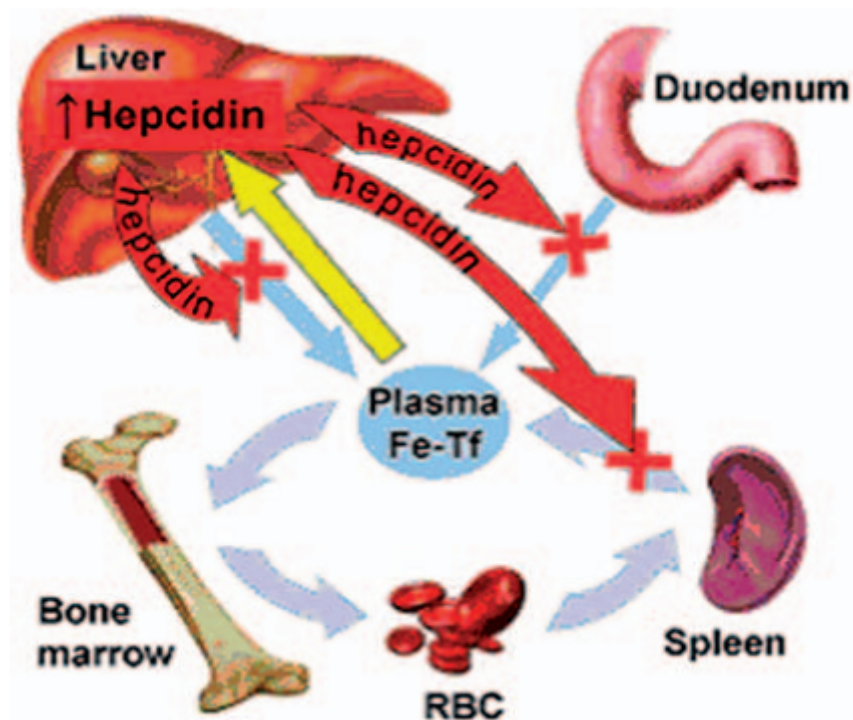
Peningkatan saturasi transferrin akan meningkatkan kompleks ikatan TF-TfR1 dan meningkatkan kadar TfR2. TfR2 ini akan berikatan dengan HFE membentuk kompleks TfR2/HFE yang akan memberi sinyal untuk peningkatan pelepasan hepcidin. Hepcidin yang diproduksi akan mengunci ferroportin sehingga terjadi penurunan regulasi besi dari tempat penyimpanan ke plasma.

c) Regulasi yang berkaitan dengan inflamasi

Pada inflamasi terjadi pelepasan lipopolisakarida (LPS) dan IL6. Keduanya menginduksi hepatosit untuk memproduksi hepcidin. Meningkatnya kadar hepcidin akan menurunkan absorpsi besi.

d) Jalur signal mandatory

Transkripsi hepcidin juga bergantung pada SMAD4, hemojuvelin dan BMP (*Bone Morphogenetic Proteins*).



Gambar 9. Peranan Hepcidin Pada Homeostasis Besi. Pada gambar di atas menunjukkan peningkatan kadar besi dalam plasma yang terjadi akibat produksi hepcidin yang meningkat (panah kuning). Peningkatan jumlah hepcidin akan menghambat aliran besi ke dalam plasma yang berasal dari makrofag, hepatosit, dan duodenum. Saat besi plasma tetap digunakan secara berkelanjutan untuk sintesis hemoglobin, kadar besi plasma akan menurun dan produksi hepcidin pun akan menurun. (Terry D. J. and Graham, D.I.Y., 2011)

Besi merupakan zat penting bagi bakteri patogen untuk mempertahankan hidup. Bakteri patogen membutuhkan besi dalam jumlah yang banyak untuk fungsi hidupnya. Untuk mendapatkan besi dari lingkungan konsentrasi besi rendah, mikroorganisme mempunyai mekanisme tertentu, salah satunya adalah sistem siderofor. (Andrews, Simon C. et al, 2003)

Siderofor adalah ligan spesifik berberat molekul rendah yang berfungsi mengambil besi bagi mikroorganisme. Selain sistem siderofor, mikroorganisme memiliki mekanisme lain dalam pengambilan besi, yaitu pemecahan enzimatik dari *iron-binding* protein, reduksi Fe^{3+} kompleks

menjadi Fe^{2+} kompleks, interaksi antar-respon di permukaan Fe-glikoprotein kompleks. Organisme patogen dapat mengambil besi dari lingkungan yang mempunyai kadar besi rendah dengan cara yang kompleks dan bervariasi. Contohnya *E. coli* memproduksi siderofor yang dapat memediasi pengambilan besi dan dapat berkompetisi dengan *unsaturated transferrin*, kemudian memindahkan besi ke bakteri patogen. (Andrews, Simon C. et al, 2003)

2.1.5 Faktor yang Mempengaruhi Absorpsi Besi

Terdapat berbagai macam bahan makanan yang banyak mengandung zat besi, antara lain bahan makanan sumber hewani dan nabati. Hati adalah bahan makanan yang paling banyak mengandung zat besi. Daging juga banyak mengandung zat besi. Sayuran hijau daun pun banyak mengandung zat besi. (Lestari, L.A. and Helmyati S., 2018)

Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi absorpsi zat besi dalam makanan, antara lain sebagai berikut:

b. Sumber hewani

Zat besi yang bersumber dari hewani dapat diserap sekitar 7-22% dibandingkan sumber nabati hanya sekitar 1-6%.

c. Vitamin C

Vitamin C merupakan kristal putih yang larut air. Vitamin C cukup stabil dalam keadaan kering, tetapi mudah rusak bila dalam keadaan larut karena bersentuhan dengan udara (oksigen) terutama bila terkena

panas. Vitamin C dapat meningkatkan absorpsi besi dari makanan melalui pembentukan kompleks ferro askorbat. Kombinasi 200 mg asam askorbat dengan garam besi dapat meningkatkan penyerapan besi sekitar 25 – 50%. Sumber vitamin C pada umumnya terdapat dalam pangan nabati, seperti jeruk, nanas, rambutan dan tomat. Vitamin C juga banyak terdapat dalam sayuran daun-daunan dan jenis kol.

d. Asam lambung

Rendahnya asam klorida pada lambung (kondisi basa) dapat menurunkan penyerapan, sehingga asam klorida akan mereduksi Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} yang lebih mudah diserap oleh mukosa usus.

e. Fosfat

Kelebihan fosfat dalam usus dapat menyebabkan terbentuknya kompleks besi fosfat yang menyebabkan zat besi tidak dapat diserap.

f. Fitat dan tannin

Fitat dan tannin merupakan komponen yang biasa ditemukan pada kacang-kacangan, kopi, dan teh, yang dapat menghambat absorpsi besi.

g. Fungsi usus yang terganggu, seperti diare dapat menyebabkan gangguan absorpsi besi dalam usus.

h. Penyakit infeksi juga menyebabkan penurunan dalam proses absorpsi besi.

Absorpsi besi meningkat dalam keadaan pH rendah. Duodenum merupakan tempat penyerapan usus yang baik karena memiliki pH yang

rendah dibandingkan dengan ileum ataupun colon. Sedangkan colon lebih memungkinkan penyerapan zat besi yang lebih banyak dibandingkan ileum distal karena retensi mukosa yang rendah. (D. Bougle', 2002)

2.1.6 Gejala Klinis

Manifestasi klinis anemia defisiensi besi sering terjadi perlahan dan tidak diperhatikan oleh pasien dan keluarganya. Pada yang diagnosis ditegakkan hanya dari temuan laboratorium saja. Adapun gambaran klinis dari anemia defisiensi besi, antara lain sebagai berikut: (Karen J. Marcdante, 2016)

1) Gejala – gejala hematologik

Gejala anemia pada umumnya, seperti pucat, pusing, lemas dan letih. Manifestasi klinis pucat akan tampak pada kadar hemoglobin < 8 g/dl. Bila kadar hemoglobin < 6 g/dl bisa terjadi anoksia jaringan. Kadang pula pada anak ADB dengan kadar hemoglobin < 3-4 g/dl tidak mengeluh karena sudah mengalami kompensasi.

2) Gejala – gejala non-hematologik:

a. Mata

Pemeriksaan fisis sederhana yang dapat dilakukan untuk mengetahui seseorang mengalami anemia adalah dengan menilai konjunctiva yang tampak anemis. Namun pada anemia ringan, biasanya perubahan warna pucat tidak terlalu signifikan, sehingga terkadang sulit dibedakan dengan kondisi konjunctiva yang normal.



Gambar 10. Konjuktiva anemis

b. Mulut

Angular cheilitis yang memiliki nama lain *angular cheilosis*, *commissural cheilitis*, *angular stomatitis* atau *perleche* merupakan suatu lesi mulut yang ditandai dengan adanya fisura, kemerahan atau deskuamasi pada sudut mulut, yang disertai rasa sakit, kering, rasa terbakar, dan terkadang disertai rasa gatal.



Gambar 11. *Angularis cheilitis*

c. Lidah

Glossitis adalah keadaan yang membuat lidah menjadi bengkak, memerah, dan permukaan lidah licin akibat hilangnya papilla lidah.



Gambar 12. Glossitis

d. Kuku

Kuku berbentuk seperti sendok (*spoon nail*), kuku menjadi rapuh, bergaris-garis vertical dan cekung sehingga mitip sendok akibat pertumbuhan lambat dari lapisan kuku.



Gambar 13. Koilonikia (*Spoon nail*)

e. Perubahan perilaku

Anoreksia, mudah marah, cengeng. Terjadi gangguan metabolisme di pusat kendali emosi dan kognitif, serta menurunkan aktivitas enzim triptofan dan tirosin hidroksilase yang mengakibatkan gangguan produksi serotonin dan dopamin. Hal ini membuat anak

tidak mampu mengendalikan diri dan perasaan, tidak mampu memusatkan perhatian, dan terjadi gangguan perilaku.

f. Fungsi kognitif dan perkembangan neurologis

Besi sangat dibutuhkan untuk metabolisme susunan saraf pusat karena peranannya dalam sintesis neurotransmitter, pembentukan mielin dan pertumbuhan otak. Sistem neurotransmitter susunan saraf pusat sangat sensitif terhadap perubahan status besi. Bila kandungan besi total dalam otak berkurang 15% di bawah normal, dapat mengakibatkan gangguan sistem neurotransmitter tersebut. Defisiensi besi selama periode kritis perkembangan otak diduga menyebabkan kerusakan ireversibel sehingga menyebabkan keterlambatan perkembangan. (Masloman, N, 2006)

g. Pertumbuhan

Zat besi memegang peran mengedarkan oksigen ke semua jaringan tubuh. Jika oksigenasi ke jaringan tulang berkurang akibat defisiensi besi, maka tulang tidak akan tumbuh secara maksimal sehingga risiko untuk mengalami gangguan pertumbuhan atau stunting lebih tinggi

h. Pika

Keinginan makan yang tidak dapat dikendalikan terhadap bahan seperti tepung (amilofagia), es (pagofagia), dan tanah liat (geofagia).

- i. Daya tahan tubuh terhadap infeksi menurun

Komponen besi terlibat pada proses metabolisme dan sebagai kofaktor dari antioksidan untuk melindungi kerusakan dari radikal bebas. Pada keadaan ADB, hal ini mengalami gangguan sehingga fungsi leukosit tidak normal. Pada penderita ADB neutrofil memiliki kemampuan untuk fagosit tetapi kemampuan untuk membunuh *E.coli* dan *S. aureus* menurun

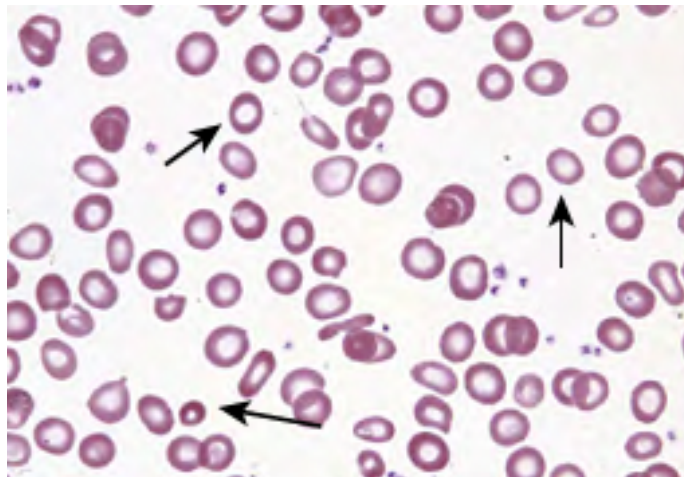
2.1.7 Pemeriksaan Laboratorium

Parameter yang sering digunakan untuk skrining status besi adalah hemoglobin (Hb), indeks eritrosit dan ferritin. *Mean corpuscular volume* (MCV), *Mean Corpuscular Haemoglobin* (MCH) dan *Mean Corpuscular Haemoglobin Concentration* (MCHC) yang rendah dan film darah hipokromik sangat mengarahkan terutama jika pasien diketahui mempunyai hitung darah yang normal dimasa lalu. Jumlah retikulosit pada kondisi defisiensi besi akan menurun dari nilai normal. Pemeriksaan saturasi transferin penting digunakan untuk mendiagnosis anemia defisiensi besi. Saturasi transferin diperoleh dari perhitungan persentase kadar besi serum dibagi *total iron binding capacity* (TIBC). (Sacher RA, Mc Pherson RA, 2004).

Adapun pemeriksaan laboratorium dalam menentukan anemia defisiensi besi, antara lain :

- 1) Hemoglobin menurun
- 2) MCV, MCH dan MCHC menurun seiring dengan penurunan Hb

- 3) Retikulosit biasanya normal atau menurun, tetapi jika disertai perdarahan jumlahnya meningkat.
- 4) Apusan darah tepi : hipokrom, mikrositik, anisositosis, poikilositosis (dapat ditemukan sel pensil, sel target, ovalosit dan poikilositosis dan sel fragmen). Adanya sel pensil merupakan tanda khas pada gambaran darah tepi ADB.
- 5) Hematokrit rendah
- 6) Serum besi rendah
- 7) TIBC meningkat
- 8) Saturasi transferrin $< 16\%$ menunjukkan suplai besi yang tidak adekuat dalam proses eritropoesis
- 9) Ferritin serum $< 12 \mu\text{g/liter}$
- 10) FEP (*Free Erythrocyte Protoporphyrin*) $> 100 \mu\text{g/dL}$



Gambar 14. Hipokromik Mikrositik (Sacher RA and Mc Pherson RA, 2000)

Bila sebagian dari ferritin jaringan meninggalkan sel akan mengakibatkan konsentrasi ferritin serum rendah. Kadar ferritin serum

dapat menggambarkan keadaan simpanan zat besi dalam jaringan. Dengan demikian kadar feritin serum yang rendah akan menunjukkan orang tersebut dalam keadaan anemia gizi bila kadar ferritin serumnya <12 ng/ml. Hal yang perlu diperhatikan adalah bila kadar ferritin serum normal tidak selalu menunjukkan status besi dalam keadaan normal. Karena status besi yang berkurang lebih dahulu baru diikuti dengan kadar ferritin. (Sacher RA and Mc Pherson RA, 2000)

Complete blood count:

RDW>14

RBC: low

Hb, Hct: low according to age and gender

MCV: low according to age and gender

When specifying the lower limit of MCV: 70+age
(for >10 years)

(if MCV is <72, generally abnormal)

Upper limit of MCV: 84 + age x 0,6 (for >6 months)

(if MCV>98: always abnormal)

MCH<27 pg

MCHC<30%

Thrombocytosis

Rarely: Thrombocytopenia, leukopenia

Peripheral smear:

Hypochromia

Microcytosis

Anisochromia

Anisocytosis

Pencil cells

Rarely: basophilic stippling, target cells, hypersegmented neutrophils

Serum ferritin<12 ng/mL

*Serum iron: <30 mcg/dL

*TIBC>480 mcg/dL

Transferrin saturation (Iron/TBCx100)<16%

Metzner index (MCV/RBC)<13

*May change by age, gender and other factors. Should be evaluated together.

Hb: hemoglobin; Hct: hematocrit; RDW: erythrocyte distribution volume;

TIBC: total iron binding capacity

Tabel 2. Pemeriksaan Laboratorium Anemia Defisiensi Besi (Sacher RA and Mc Pherson RA, 2000)

Standar baku dalam mendiagnosis ADB adalah pewarnaan makrofag sumsum tulang dan prekursor eritroid dengan warna *prussia* pada aspirasi sumsum tulang. Namun, prosedur pemeriksaan ini cukup mahal dan invasif. Kadar serum ferritin, serum besi (Fe), TIBC dan saturasi transferin adalah alternatif tes biokimia, tetapi tes ini kemungkinan dapat dipengaruhi oleh kondisi tertentu. Kadar serum besi rendah pada ADB dan

sama seperti pada APK dan juga berfluktuasi tergantung pada intake besi. Semenjak kadar saturasi transferin dapat dihitung dengan kadar besi dan TIBC, perubahan tersebut dapat terlihat pada kadar saturasi transferin. Kadar serum ferritin menunjukkan deposit besi dalam tubuh dan nilai ferritin yang rendah mengindikasikan bahwa terjadi defisiensi besi. (Sandi, I.M, and Andriastuti, M., 2019)

Alternatif pemeriksaan laboratorium untuk mendiagnosis anemia defisiensi besi dan telah direkomendasikan oleh *American Academy of Pediatrics* (AAP) adalah *reticulocyte Hb content* (Ret-He). Kandungan retikulosit hemoglobin digunakan sebagai parameter baru untuk mendeteksi defisiensi besi. Parameter ini mengukur kadar hemoglobin di retikulosit yang baru dilepaskan dari sumsum tulang dan diharapkan menggambarkan kondisi sebenarnya sumsum tulang sehingga bisa digunakan untuk mendeteksi defisiensi besi sedini mungkin. Diharapkan Ret-He dapat digunakan sebagai marker deteksi kekurangan besi yang murah, mudah, dan aplikatif. (Sandi, I.M, and Andriastuti, M., 2019)

Pemeriksaan ekuivalen retikulosit hemoglobin atau Ret-He dengan menggunakan teknologi yang langsung mengukur inkorporasi besi di dalam hemoglobin eritrosit sehingga dapat menghasilkan estimasi langsung dari ketersediaan besi dalam *erythron*. Ret-He telah terbukti sebagai indikator yang sensitif pada stadium awal dari *iron deficient erythropoiesis*. (Ucar A et al, 2019)

Retikulosit merupakan eritrosit imatur yang mengandung nukleus dan RNA ribosom. Retikulosit terdapat banyak di sumsum tulang dan dilepaskan ke sirkulasi perifer setelah 3 hari pematangan (maturasi). Kadar retikulosit normal 0.5 – 1.5 % dari eritrosit yang berada di sirkulasi. Sebuah teknologi analisis retikulosit yang terbaru dapat mengukur kandungan hemoglobin dalam retikulosit atau ekuivalennya sehingga dapat memberikan penilaian langsung tentang ketersediaan cadangan besi adekuat untuk proses eritropoesis. Karena masa hidup retikulosit yang singkat maka pemeriksaan ini merupakan indikator yang sensitif terhadap kondisi *iron deficient erythropoiesis* bahkan pada stadium awal karena pemeriksaan ini mencerminkan ketersediaan besi untuk proses eritropoesis dalam jangka waktu 2-4 hari kedepan sehingga pemeriksaan ini dapat dipakai untuk mendiagnosis defisiensi besi. (Ucar A et al, 2019)

Ret-He juga digunakan pada skrining kondisi defisiensi besi pada bayi dan anak-anak dan telah terbukti sebagai prediktor yang paling kuat terhadap kondisi defisiensi besi dengan atau tanpa anemia, Ret-He juga dapat digunakan sebagai prediktor keberhasilan terapi besi. Berdasarkan kriteria Kerlin, keberhasilan terapi besi pada ADB ditandai dengan peningkatan kadar Hb sebanyak 2 gr/dl setelah diberikan terapi selama 4 minggu. Studi yang dilakukan oleh Brugnara menemukan bahwa terdapat kenaikan kadar CHr dengan rata-rata 3,2 pg setelah diberikan terapi besi oral dan kenaikan tersebut telah terjadi dalam waktu 1-2 minggu. Pada pemberian terapi besi intravena, CHr merupakan indikator awal terhadap

respons terapi dimana kadar CHr mulai meningkat dalam 2-4 hari sejak pemberian terapi (Ucar A et al, 2019).

Saat ini belum ada standar nilai untuk Ret-He dalam menentukan defisiensi besi. Studi potong lintang dilakukan Pramantik dkk, tahun 2015 di Yogyakarta, terhadap 104 subjek anak sehat usia 6 bulan hingga 5 tahun pada yang menjalani pemeriksaan di Posyandu Kota Yogyakarta. Seluruh subjek dilakukan pemeriksaan Hb, red blood cell (RBC), MCV, MCH, MCHC, red cell distribution width (RDW), Ret-He dan feritin. Nilai batas Ret-He yang digunakan adalah $\leq 27,65$ pg, didapatkan sensitivitas 91,7%, spesifisitas 78,3%, PPV 35,4% dan NPV 98,63%. Kiudeliene dkk, juga melakukan uji potong lintang terhadap 180 subjek yang berusia 6 hingga 24 bulan yang dikonsultasikan ke unit rawat jalan Universitas Kaunas karena dicurigai DB. Seluruh subjek dilakukan pemeriksaan Hb, MCV, MCH, RDW, feritin serum dan transferin, saturasi transferin, Ret-He, *soluble transferrin receptors* (TfR). Dari hasil pemeriksaan, subjek dibagi menjadi 2 kelompok, 116 subjek mengalami DB dan 64 subjek normal. Nilai batas Ret-He adalah $\leq 28,55$ pg, didapatkan sensitivitas 76,6%, spesifisitas 78,4%, PPV 86% dan NPV 64%. Lorenz dkk, melakukan studi potong lintang restrospektif kepada 210 bayi dengan usia gestasi 23 minggu hingga 36 minggu. Seluruh pasien telah dilakukan pemeriksaan kadar Hb, Ht, MCV, MCH, feritin serum dan saturasi transferin. Dari studi tersebut dengan nilai batas Ret-He ≤ 29 pg, didapatkan sensitivitas 85%, spesifisitas 73%, PPV 33%, dan NPV 97%. Urrechaga tahun 2009 mencoba mencari nilai *cut off* Ret-He menegakkan

diagnosis ADB pada penderita dewasa dan ditemukan nilai < 29 pg. Sedangkan studi oleh Andriastuti tahun 2019 di Indonesia menemukan nilai cut off Ret-He < 28.9 pg pada 207 anak usia 6-18 tahun dengan anemia defisiensi besi. (Sandi, I.M, and Andriastuti, M., 2019)

Pemeriksaan lain yang juga tak kalah pentingnya dalam penegakan anemia defisiensi besi adalah *red distribution width* (RDW). RDW merupakan indeks variasi ukuran eritrosit (anisositosis) menggunakan data dari histogram dan MCV untuk mengukur distribusi volume eritrosit. RDW merupakan pengukuran kuantitatif variasi ukuran eritrosit yang beredar, sebagai ekspresi matematik variasi distribusi volume populasi eritrosit yang dinyatakan dalam persen, dan mengindikasikan variasi ukuran eritrosit dalam populasi terukur (anisositosis). (Setyawati, et al., 2007)

Pengukuran RDW menggunakan dua metode. Metode pertama disebut RDW-CV, yaitu rasio lebar kurva distribusi eritrosit pada satu standar deviasi (SD) dibagi MCV (nilai normal RDW-CV = 13 ± 1). Perhitungan ini adalah rasio, sehingga perubahan pada lebar kurva maupun MCV akan mempengaruhi hasil pengukuran. Mikrositosis cenderung memperbesar hasil sebaliknya makrositosis memberikan hasil lebih kecil. Metode kedua adalah RDWSD, yaitu pengukuran langsung RDW yang diambil pada tingkat frekuensi 20% (nilai normal RDW-SD = $42 + 5$ fl). Kedua pengukuran RDW pada prinsipnya adalah representasi matematik dari anisositosis dan peningkatan RDW menunjukkan populasi sel

campuran. Populasi ganda dari sel akan memperlebar kurva dan meningkatkan RDW. (Setyawati, et al., 2007)

Indeks RDW yang tinggi menunjukkan 71 – 100% sensitif dan 50% spesifik terhadap defisiensi besi pada orang dewasa. Pada bayi umur 12 bulan, indeks RDW yang tinggi menunjukkan 100% sensitif dan 82% spesifik, karena spesifitas yang rendah maka indeks RDW tidak digunakan sebagai uji tapis tunggal, tetapi biasanya bergabung dengan MCV. Nilai indeks RDW yang meningkat dan MCV yang menurun mengarah kepada diagnosis defisiensi besi. (Ferdian, B. Andri, 2008)

2.1.8 Penatalaksanaan

Prinsip tata laksana anemia defisiensi besi adalah mengetahui faktor penyebab dan mengatasinya serta memberikan terapi penggantian dengan preparat besi. (Gunadi, et al, 2009)

Pemberian terapi anemia dapat dibagi menjadi tiga bagian yaitu (Bakta IM, 2007):

1. Terapi dengan preparat besi secara oral: Pemberian per oral lebih aman, murah, dan sama khasiatnya dengan pemberian secara parenteral. Garam ferro di dalam tubuh diabsorpsi oleh usus sekitar tiga kali lebih baik dibandingkan garam ferri, maka preparat yang tersedia berupa ferro sulfat, ferro glukonat, ferro fumarat. Untuk mendapatkan respon pengobatan dosis besi yang dianjurkan 3-6 mg besi elemental/kgBB/hari diberikan dalam 2-3 dosis sehari. Dosis obat

dihitung berdasarkan kandungan besi elemental yang ada dalam garam ferro. Garam ferro sulfat mengandung besi elemental 20%; ferro fumarat mengandung 33%, ferro glukonat 12%; ferro suksinat 22%, dan ferro laktat 36% besi elemental.

2. Terapi dengan preparat besi secara oral : Pemberian besi parenteral intramuskular menimbulkan rasa sakit dan harganya mahal. Dapat menyebabkan limfadenopati regional dan reaksi alergi. Kemampuan untuk menaikkan kadar hemoglobin tidak lebih baik dibandingkan peroral. Preparat yang sering dipakai adalah dekstran besi. Larutan ini mengandung 50 mg besi/ml.
3. Transfusi darah : Tranfusi darah diberikan pada keadaan anemia yang sangat berat. Koreksi anemia berat dengan transfuse tidak perlu diberikan secepatnya, karena akan menyebabkan hipervolemia dan dilatasi jantung. Pemberian *packed red cell* (PRC) dilakukan secara perlahan dalam jumlah yang cukup untuk menaikkan kadar Hb sampai tingkat aman sambil menunggu respon terapi besi. Secara umum, terapi anemia berat dengan kadar Hb < 4 g/dl hanya diberi PRC dosis 2-3 mg/kgBB.

Respon terapi besi secara oral dapat dinilai dari adanya perbaikan yang signifikan terhadap fungsi neurologis (24 – 48 jam), retikulosit (48 – 72 jam), dan peningkatan hemoglobin (4 – 30 hari). (Karen J. Marcdante, 2015)

| Waktu setelah pemberian besi | Respons |
|------------------------------|---|
| 12-24 jam | Pergantian enzim besi intraselular : keluhan subjektif berkurang, nafsu makan bertambah |
| 36-48 jam | Respons awal dari sumsum tulang : hiperplasia eritroid |
| 48-72 jam | Retikulositosis, puncaknya pada hari ke 5-7 |
| 4-30 hari | Kadar Hb meningkat |
| 1-3 bulan | Penambahan cadangan besi |

Tabel 3. Respon terapi besi per oral terhadap peningkatan kadar Hb dan retikulosit. (Purnamasari, R., 2018)

2.1.9 Diagnosis Banding

1. Thalassemia minor

Morfologi darah tepi sama dengan ADB. Salah satu cara untuk membedakan kedua penyakit tersebut adalah dengan melihat jumlah sel darah merah, pada thalassemia minor akan meningkat meskipun sudah terjadi penurunan Hb, sebaliknya pada ADB jumlah sel darah merah akan menurun. Cara mudah diperoleh dengan membagi nilai MCV dengan jumlah eritrosit, bila nilainya <13 sesuai dengan thalassemia minor sedangkan bila >13 merupakan ADB.

2. Anemia penyakit kronis (APK)

Dari gambaran morfologi darah tepi pada APK tampak gambaran normositik normokrom walaupun kadang juga didapatkan gambaran mikrositik hipokrom. Terjadinya APK disebabkan karena terganggunya mobilisasi besi dan makrofag oleh transferrin. Kadar Fe serum dan TIBC menurun meskipun cadangan besi normal atau meningkat sehingga nilai reseptor transferrin (TfR) sangat berguna dalam membedakan ADB dengan APK. Pada APK kadar TfR normal karena pada proses inflamasi

kadarnya tidak terpengaruh, sedangkan pada ADB kadarnya menurun. Peningkatan rasio TfR/ Ferritin sensitif dalam mendeteksi ADB.

3. Keracunan timbal

Keracunan timbal dapat memberikan gambaran darah tepi seperti ADB, namun didapatkan adanya *basophilic stippling* kasar yang jelas. Pada keduanya *free erythrocyte protoporphyrins* (FEP) meningkat. Diagnosis ditegakkan dengan memeriksa kadar tembaga dalam darah.

4. Anemia sideroblastik

Merupakan kelainan yang disebabkan oleh gangguan sintesis heme. Pada kondisi ini didapatkan gambaran hipokrom mikrositik dengan peningkatan gambaran RDW yang disebabkan populasi sel darah merah yang dimorfik. Kadar Fe serum dan saturasi transferin biasanya meningkat, pada pemeriksaan apusan sumsum tulang didapatkan sel darah merah berinti yang mengandung granula besi didalam mitokondria disebut sebagai ring sideroblas.

2.2. Probiotik

2.2.1 Definisi Probiotik

Metchnikoff merupakan ilmuwan yang pertama kali mengenalkan konsep probiotik. Namun, munculnya kata 'probiotik' yang berasal dari Yunani *pro-bios* yang berarti 'untuk kehidupan' berasal dari ilmuwan Jerman Kollah (1953) dan Ferdinand Vergin yang pada 1954 mengusulkan penggunaan kata 'probiotika' untuk menunjukkan 'senyawa aktif yang

sangat penting untuk perkembangan kesehatan selama kehidupan'. Dalam sebuah artikel yang diterbitkan dalam jurnal *Science* pada 1962, dua dokter hewan, yaitu Lilly dan Stillwell, yang kemungkinan besar tidak mengetahui proposal Vergin, pertama kali mengemukakan istilah 'probiotik' untuk merujuk 'bakteri anaerob yang mampu menghasilkan asam laktat dari substrat makanan yang berbeda dan untuk merangsang pertumbuhan mikroorganisme yang lain'. (Lestari, L.A and Helmyati, S., 2018)

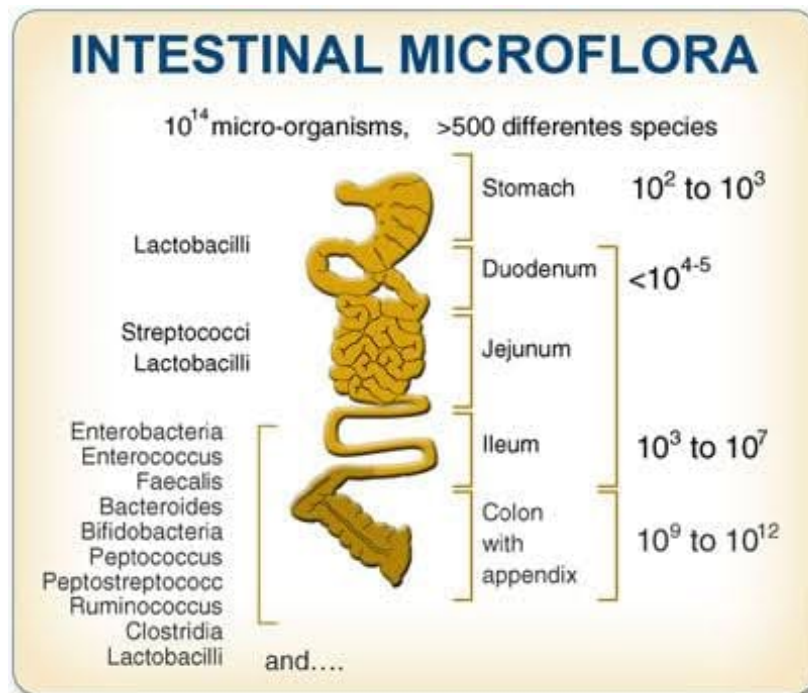
Havenaar menjelaskan bahwa probiotik adalah bakteri tunggal atau campuran yang dapat diaplikasikan ke hewan atau manusia, yang dapat menguntungkan host dengan meningkatkan mutu inang. Lily and Stillwell mengemukakan bahwa probiotik merupakan mikroorganisme yang dapat meningkatkan pertumbuhan mikroorganisme lain. (Lestari, L.A and Helmyati, S., 2018)

Probiotik dapat diperoleh dari makanan, minuman, dan sediaan murni. Produk makanan atau minuman probiotik adalah produk susu fermentasi (yogurt), keju, jus, dan susu bubuk bayi yang diperkaya probiotik. (Sudarmo, S.M., 2018)

2.2.2 Koloni usus dan mikroorganisme probiotik

Kolonisasi flora usus (mikrobiota) manusia dimulai saat lahir dan dipengaruhi oleh komposisi diet. Proses kolonisasi tersebut melibatkan interaksi antara mukosa saluran cerna dan stimulasi protein antigen dari kuman (Kusumo, P.D., 2012)

Proses kolonisasi saluran pencernaan (GI / Gastro Intestinal) setelah kelahiran menyebabkan serangkaian suksesi ekologi dengan hasil akhir pembentukan mikrobiota stabil ('micromicroflora') yang unik pada setiap individu. Mikrobiota dewasa stabil terdiri dari 400-1000 spesies, dimana 60% tidak di kultur di luar lingkungan GI. (Kusumo, P.D., 2012)



Gambar 15. Mikroflora Usus. Jumlah koloni dan jenis mikroflora bervariasi pada traktus gastrointestinal. (Bakta I.M., 2007)

Mikroba prokariotik dan eukariotik dapat ditemukan, pada saluran cerna bayi dengan dominasi oleh spesies bakteri, sebagian besar spesies bakteri anaerob (97%), sedangkan hanya 3% adalah aerobik (fakultatif anaerob). Komposisi mikrobiota tidak hanya berbeda sepanjang saluran pencernaan tetapi juga *cross sectional*, dengan populasi yang berbeda yang mendiami mukosa GI dan lumen. Genera anaerobik yang paling umum dalam konsentrasi dalam saluran pencernaan adalah Bacteroides,

Bifidobacterium, Eubacterium, Fusobacterium, Clostridium dan Lactobacillus. Koloni mikrobiota aerob adalah bakteri *Gram-negatif enteric* (*Escherichia coli* dan *Salmonella spp.*) dan juga bakteri *gram-positif cocci* (*Enterococcus*, *Staphylococcus* dan *Streptococcus*). Selain bakteri aerob, spesies jamur aerobik, seperti *Candida albicans*, yang juga termasuk anggota mikrobiota normal. (Kusumo, P.D., 2012)

Probiotik adalah istilah yang merujuk pada mikroorganisme hidup yang saat dikonsumsi akan memberikan berbagai macam manfaat yang baik bagi pencernaan. Oleh karena itu, probiotik tidak hanya bakteri saja, tetapi dapat juga berupa jamur dan ragi. (Bakta I.M., 2007)

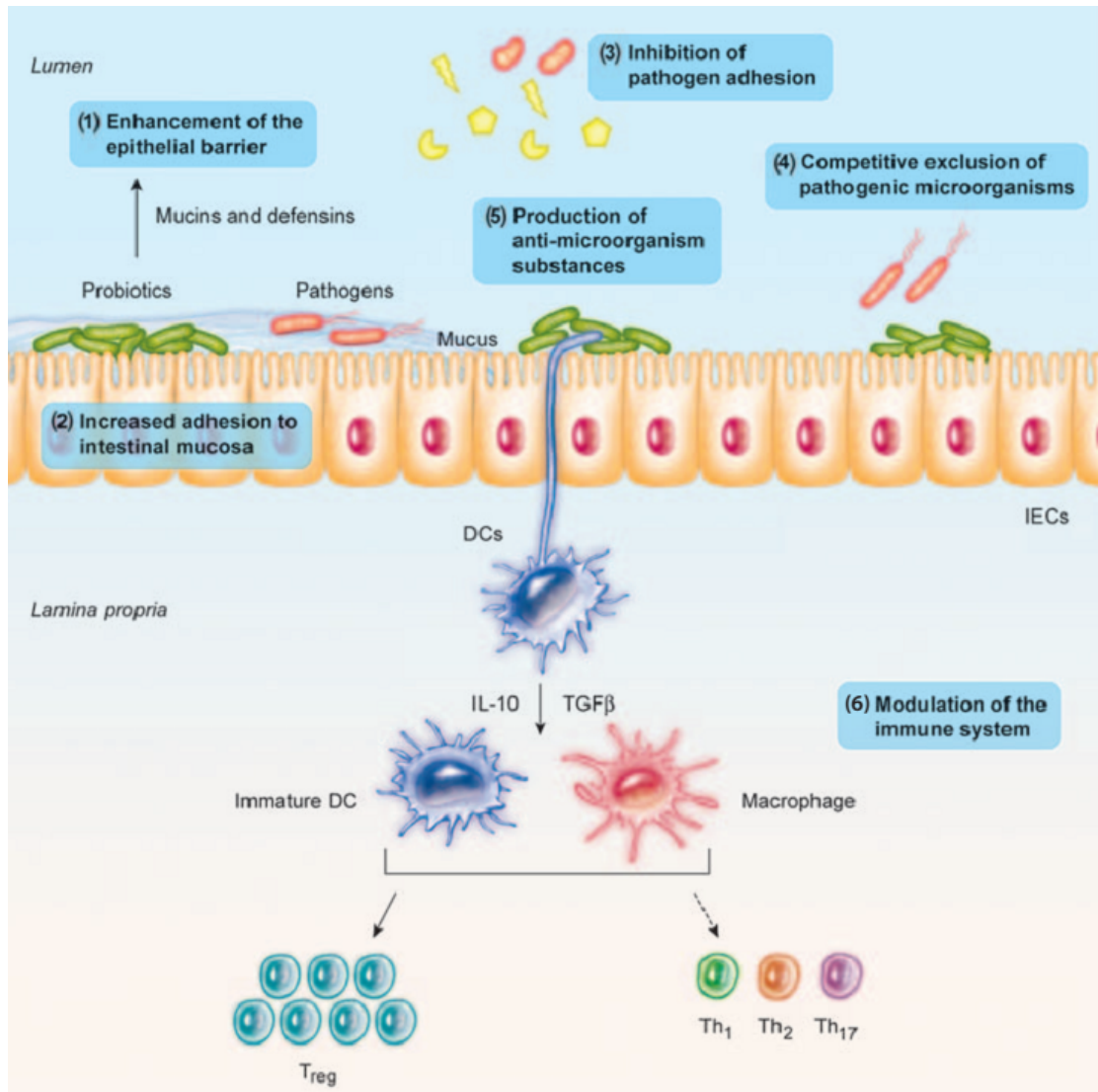
| Lactobacillus species | Bifidobacterium species | Other lactic acid bacteria | Non-lactic acid bacteria |
|------------------------------|--------------------------------|-----------------------------------|---------------------------------|
| <i>L. acidophilus</i> | <i>B. adolescentis</i> | <i>Enterococcus faecalis</i> * | <i>Bacillus cereus</i> var. |
| <i>L. amylovorus</i> | <i>B. animalis</i> | <i>Enterococcus faecium</i> | toyoi* |
| <i>L. casei</i> | <i>B. bifidum</i> | <i>Lactococcus lactis</i> | <i>Escherichia coli</i> strain |
| <i>L. crispatus</i> | <i>B. breve</i> | <i>Leuconstoc</i> | Nissle |
| <i>L. delbrueckii</i> subsp. | <i>B. infantis</i> | <i>mesenteroides</i> | <i>Propionibacterium</i> |
| <i>bulgaricus</i> | <i>B. lactis</i> | <i>Pediococcus acidilactici</i> | <i>freudenreichii</i> * |
| <i>L. gallinarum</i> * | <i>B. longum</i> | <i>Sporolactobacillus</i> | <i>Saccharomyces</i> |
| <i>L. gasseri</i> | | <i>inulinus</i> * | <i>cerevisiae</i> |
| <i>L. johnsonii</i> | | <i>Streptococcus</i> | <i>Saccharomyces</i> |
| <i>L. paracasei</i> | | <i>thermophilus</i> | <i>boulardii</i> |
| <i>L. plantarum</i> | | | |
| <i>L. reuteri</i> | | | |
| <i>L. rhamnosus</i> | | | |

*Main application for animal

Tabel 4. Mikroorganisme Probiotik (Bakta I.M., 2007)

2.2.3 Fungsi Probiotik

Secara garis besar, probiotik memiliki 6 peran penting diantaranya :
(Brito, M.B et al, 2012)

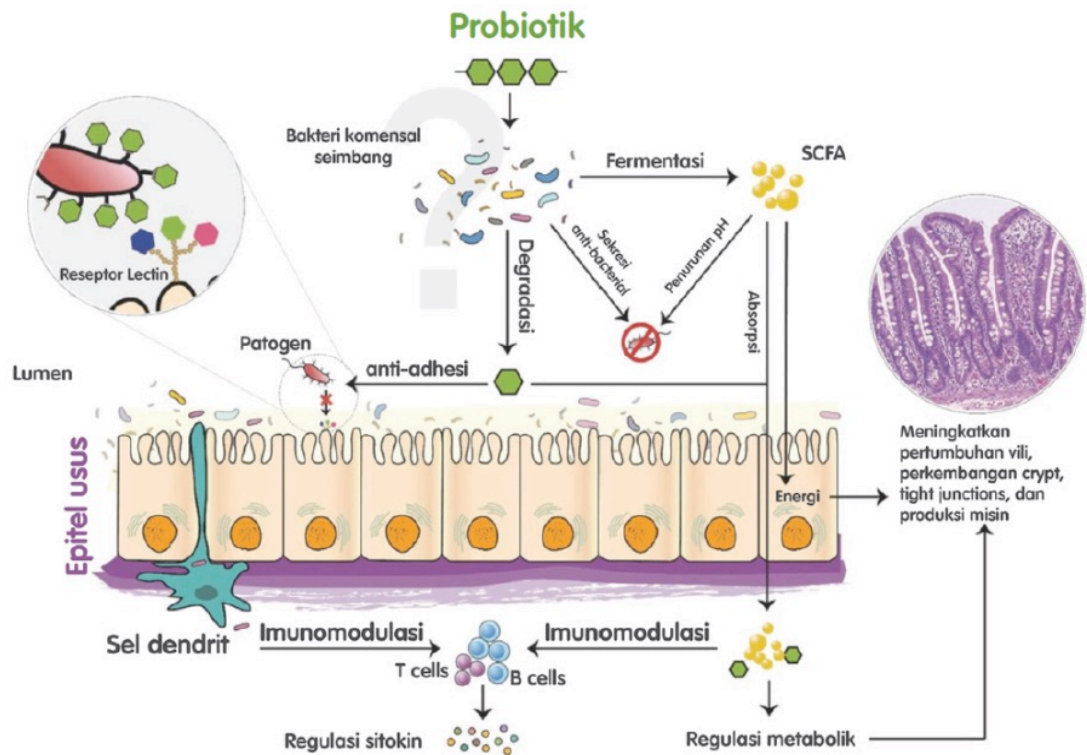


Gambar 16. Mekanisme kerja probiotik. (Brito, M.B, et al, 2012)

1. Penguatan *barrier* epitel

Epitel usus selalu kontak dengan isi lumen dan mikrobiota saluran cerna. *Barrier* usus (*intestinal barrier*) memiliki mekanisme pertahanan dalam meningkatkan integritas dan melindungi flora normal usus dari lingkungan. *Barrier* saluran cerna terdiri dari lapisan mukosa, peptida

antimikroba, sekretorik Ig, dan *tigh junction* epitel. (Brito, M.B, et al, 2012)



Gambar 17. Probiotik dimetabolisme oleh mikroba komensal usus.

Musin merupakan unsur makromolekul mukus epitel usus. Probiotik membantu sekresi mukus sebagai suatu mekanisme untuk memperbaiki fungsi *barrier* usus dan mengeksklusi patogen.

Perbaikan fungsi *barrier* mukosa usus dapat dimediasi oleh peningkatan ekspresi dan redistribusi protein *tigh junction* pada *zonula ocludens* (ZO-2) dan protein kinase C (PKC) yang akan menghasilkan rekonstruksi kompleks *tigh junction*. (Sudarmo, S.M., 2018)

2. Peningkatan adhesi ke mukosa usus

Adeshi ke mukosa usus dianggap sebagai persyaratan untuk kolonisasi dan penting untuk interaksi antara probiotik dan host. Adeshi

probiotik terhadap mukosa usus penting untuk memodulasi sistem imun dan antagonisme terhadap patogen.

Bakteri asam laktat (LAB, *lactic acid bacteria*) menunjukkan berbagai molekul di permukaan yang diperlukan untuk interaksi dengan sel-sel epitel usus (IECs, *intestinal epithelial cells*) dan lendir. IECs mensekresi musin dan mencegah adhesi bakteri patogen.

Probiotik akan mengeluarkan *defensins* dari epitel usus, yang merupakan peptida/protein berukuran kecil yang aktif melawan bakteri, fungi, dan virus. Respon terhadap bakteri patogen ialah *host* akan meningkatkan produksi protein antimikroba (AMPs, *antimicrobial proteins*) seperti α -*defensin* dan β -*defensin*, *cathelicidins*, *C-type lectins* dan ribonuklease. AMP merupakan enzim yang akan membunuh bakteri dengan menyerang struktur dinding sel maupun membran sel bakteri.

3. Kompetisi dengan mikroorganisme patogen

Beberapa mekanisme yang mungkin terjadi pada probiotik untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen, antara lain: membentuk mikroekologi pada *host*, memproduksi dan mensekresi substansi antimikroba dan produk metabolitnya, serta berkompetisi untuk pemenuhan nutrisi esensial.

Untuk mendapatkan keuntungan kompetitif, bakteri juga dapat memodifikasi lingkungan mikrobiota untuk membuatnya kurang cocok untuk pesaing mereka. Probiotik membuat suasana lingkungan sekitar epitel usus berubah dengan cara membentuk substansi antimikroba,

seperti asam laktat dan asam asetat. Beberapa *lactobacilli* dan berbagai *bifidobacteria* mempunyai *carbohydrate specific binding side* beberapa enteropatogen yang memungkinkan *strain* tertentu untuk bersaing dengan patogen tertentu melalui reseptor pada sel *host*. Secara umum, strain probiotik dapat menghambat perlekatan bakteri patogen dengan cara menghalangi perlekatan pada reseptor.

4. Produksi zat antimikroba

Salah satu mekanisme yang diketahui bermanfaat untuk kesehatan dari probiotik adalah senyawa *low molecular weight* (LMW < 1000 Da), seperti asam organik, dan produksi zat antibakteri yang disebut bakteriosin (11.000 Da). Asam organik, seperti asam laktat dan asam asetat, merupakan inhibitor kuat dalam melawan bakteri Gram-negatif, dianggap sebagai senyawa antimikroba utama yang bertanggung jawab untuk aktivitas penghambatan probiotik terhadap patogen. Bentuk tidak terurai dari asam organik memasuki sel bakteri dan memisahkan dalam sitoplasma, akhirnya menurunkan pH intraseluler atau akumulasi intraseluler dari bentuk terionisasi dari asam organik dapat menyebabkan kematian bakteri patogen.

Beberapa penelitian telah mengungkapkan bahwa produksi bakteriosin oleh *strain* tertentu dengan keunggulan kompetitif dalam lingkungan mikroba yang kompleks sebagai konsekuensi dari aktivitas antimikroba yang terkait. Produksi bakteriosin dapat menghambat langsung pertumbuhan patogen dalam saluran pencernaan.

5. Modulasi sistem imun

Probiotik membentuk interaksi antara epitel dan sel dendritik (DCs, *dendritic cells*) dan monosit/makrofag dan limfosit. Sistem kekebalan tubuh dapat dibagi antara sistem kekebalan bawaan dan kekebalan adaptif. Respons imun adaptif tergantung pada sel B dan limfosit T, yang spesifik untuk antigen tertentu. Sebaliknya, kekebalan bawaan dapat merespon struktur umum bakteri yang disebut *pathogen associated molecular pattern* (PAMPs) yang dimiliki oleh sebagian besar bakteri patogen. Respons utama terhadap patogen dikenali oleh *pattern recognition receptor* (PRR), yang mengikat PAMPs. PRRs sebenarnya adalah *toll like receptor* (TLRs). Selain itu, reseptor ekstraseluler Jenis C-lectin (CLRS) dan *intracellular nucleotide binding oligomerization domain-containing protein* (NOD)-like receptors (NLRs) yang penting untuk mengirim signal pada waktu interaksi dengan bakteri. Sel host yang berinteraksi paling luas dengan probiotik adalah IECs. Selain itu, probiotik dapat berkomunikasi dengan DCs, yang memiliki peran penting dalam imunitas bawaan dan adaptif. Baik IECs dan DCs dapat berinteraksi dan merespons terhadap mikroorganisme saluran cerna melalui PRR.

Probiotik pada anak sehat berfungsi sebagai pertahanan mukosa seperti proteksi dan pertahanan imunitas saluran cerna seperti lapisan epitel, lapisan mukus, deskuamasi epitel serta sekresi IgA, sangat berpengaruh terhadap perlekatan dari kuman patogen (Drisko, Jeanne A,

et al, 2003). Probiotik selain mempunyai efek modulasi flora normal saluran cerna, probiotik juga mampu berperan sebagai modulator sistem imun. Probiotik mempunyai efek positif untuk *innate* dan *acquired immunity*. Di klinik, probiotik telah dibuktikan dapat mengontrol inflamasi karena alergi dan menurunkan gejala yang berhubungan dengan dermatitis atopi dan alergi makanan (Walker, W.A., 2000).

Respon imun sistemik diinduksi oleh mikroba probiotik setelah berinteraksi dengan sel imun pada plak peyer. Pada plak peyer, probiotik atau fragmenya diinternalisasi oleh sel M atau jalur paraseluler melalui *follicle associated epithelial cell* pada plak peyer. Setelah itu bakteri tersebut atau partikelnya berinteraksi dengan makrofag dan sel dendritik, yang diaktifkan untuk menghasilkan sitokin sebagai akibat dari stimulasi bakteri tersebut terhadap sel imun pada sisi induktor dari respon imun ini, sehingga produksi sitokin meningkat dan juga terjadi perubahan dan sel B IgM ke IgA. *Secretory immunoglobulin A* (sIgA) merupakan basis pertahanan pertama di dalam usus untuk melawan patogen yang ada. (Stier, H, 2016)

Suatu penelitian dilakukan oleh Angurana,S.K dengan menggunakan *L. rhamnosus* strain GG selama 7 hari pada anak yang mengalami sepsis. Hasil penelitian tersebut menjelaskan bahwa probiotik dapat menginduksi pengeluaran mediator anti inflamasi seperti IL-10 dan TGF- β pada anak yang mengalami kritis akibat sepsis berat. (Angurana,S.K, et al, 2018)

Pada penelitian yang dilakukan untuk melihat manfaat *L. reuteri* terhadap pencegahan NEC (*necrotizing enterocolitis*) pada hewan coba menunjukkan bahwa terjadi penurunan yang signifikan terhadap ekspresi mRNA IL-6, TNF- α , TLR4, sedangkan IL-10 mengalami peningkatan. (Angurana,S.K, et al, 2018)

Beberapa cara eliminasi kuman patogen antara lain meningkatnya status imun mukosa usus, proses inhibisi, mengeluarkan hasil akhir metabolik seperti misalnya asam yang akan menurunkan pH lingkungan saluran cerna, dalam suasana asam dapat hidup dengan sedangkan bakteri patogen tidak dapat hidup. Probiotik juga mampu menurunkan konsentrasi endotoksin bakteri secara signifikan. Hal ini dimungkinkan oleh karena kemampuan probiotik meningkatkan pertahanan mukosa untuk mencegah translokasi kuman (Collins, M.D. and Glenn R.G., 1999).

2.2.4 Metabolisme Probiotik

Terdapat dua jenis probiotik yaitu *live probiotic* dan *heat killed probiotic*. *Live* dan *heat killed probiotic* dibedakan dari proses pembuatannya, namun mempunyai mekanisme kerja yang sama terhadap diare, di antaranya yaitu kompetisi dengan enteropatogen, modifikasi toksin bakteri, serta modulasi respon imun dari pejamu (Kimoto, Hiromi, et al. 2004). Diperlukan perlakuan khusus dalam penyimpanan *live probiotic*, misalnya suhu lingkungan harus dipertahankan lebih rendah daripada suhu ruangan. Cara penyimpanan yang tidak sesuai dapat menyebabkan

terjadinya penurunan kualitas hidup probiotik yang kemudian menghasilkan hilangnya dosis dan aktivitas yang tidak dapat diprediksi. Dengan proses tindalisasi, diharapkan *heat-killed probiotic* dapat menjadi sediaan lebih stabil dan tahan terhadap panas. Meskipun telah dimatikan, *heat-killed probiotic* masih tetap mengandung beberapa zat yang penting seperti bakteriosin, peptidoglikan, yang dihasilkan selama fermentasi probiotik. Dengan kandungan seperti ini memberi dampak yang lebih cepat karena mengandung komponen yang siap pakai (Supriatmo, 2006).

Efektivitas pemberian *heat-killed lactobacillus acidophyllus* yaitu mempunyai kemampuan melekat pada sel absorpsi dan sekretorik intestinal manusia, kemudian membentuk suatu biofilm protektif. Pada model seluler, adanya *heat-killed L. acidophyllus* akan menghambat adhesi dan invasi mikroorganisme penyebab diare ke dalam enterosit. Kemampuan lain dari *L. acidophyllus* akan memproduksi agen antimikroba yang diduga mengandung *nonconventional acidic amino acid*. Zat ini efektif menyerang bakteri enterovirulen gram positif dan negatif namun tidak menunjukkan suatu aktivitas penghambatan terhadap bakteri mikroflora seperti *Bifidobacterium* atau *Lactobacillus*. Mekanisme ini tidak berubah meskipun sudah mengalami pemanasan. Selain itu *heat-killed probiotic* juga menghindari kemungkinan terjadinya translokasi yang terjadi karena mutasi gen mikroba, yang mungkin terjadi pada pemberian *live probiotic* (Nipat, S. et al, 2000).

2.2.5 Dosis Probiotik

Oleh karena probiotik tidak secara permanen mengkoloni usus, maka dianjurkan lebih dari satu kali pemberian dengan dosis sebesar 10^6 - 10^{10} CFU bakteri hidup, untuk menjaga jumlah tetap di dalam kolom dengan melekatkan diri pada mukosa usus. (Sudarmo, 2004)

Dosis probiotik bervariasi tergantung pada produk dan penyakit. Hingga saat ini belum ada konsensus yang pasti tentang dosis dan lama pemberian probiotik pada masing-masing penyakit dalam memperoleh khasiat maksimal yang diharapkan. (Anugroho, 2014)

Dosis pemberian *S. boulardii* pada anak berdasarkan *World Gastroenterology Organisation (WGO) Global Guidelines* tentang dosis pemberian probiotik dan prebiotik tergantung pada penyakit yang diderita. Dosis probiotik *S. boulardii* yang dianjurkan pada anak yang menderita gastroenteritis akut sekitar 250 – 750 mg/hari (5 – 7 hari); pencegahan terhadap *antibiotic-associated diarrhea (AAD)* 250 – 500 mg; infeksi *H. pylori* 500 mg (terbagi 2 dosis, 2 – 4 minggu). (WGO, 2017)

| Strains of <i>Sb</i> | Manufactured by | Dose (cfu/ Capsule) | Evidence-Based Health Claims | Published References |
|---|---|-----------------------------|---|---|
| <i>S. boulardii</i> CNCM I-745 (other names: <i>S. cerevisiae</i> Hansen CBS 5926, <i>S. boulardii</i> 17, <i>S. boulardii</i> ATCC 74012, <i>S. boulardii</i> Iyo) | Laboratoires Biocodex, France | 250 mg; 5×10^9 | Treatment pediatric diarrhea, AAD, <i>H. pylori</i> infections, IBD, adult acute diarrhea, enteral feed diarrhea, CDI, giardiasis | >88 RCTs; Dinleyici et al. [15], McFarland [14] |
| <i>S. boulardii</i> + MOS | Jarrow Labs Los Angeles CA | mg nr; 1.5×10^9 | "Keep refrigerated" | Case report only; Ooi et al. [20] |
| <i>S. boulardii</i> | Klaire Lab Reno NV | 150 mg; 3×10^9 | No claims | No original studies |
| <i>S. boulardii</i> CNCM I-1079 | Pure Encapsulations, Inc. Sudbury, MA and Lallemand, Canada | mg nr; 1.4×10^{10} | Reduction of cholesterol | Open, uncontrolled study only; Ryan et al. [16] |
| Non- <i>S. boulardii</i> strains under development | | | | |
| <i>S. cerevisiae</i> CNCM I-3856 | Lesaffre Intl. France | 500 mg, 8×10^9 | New probiotic being developed in preclinical, one RCT for IBS | Cordonnier et al. [17], De Chambrun et al. [18] |

AAD, Antibiotic-associated diarrhea; ATCC, American type culture collection; CA, California; CDI, *Clostridium difficile* infections; CNCM, Collection Nationale de Cultures de microorganismes (Pasteur Institute); IBD, inflammatory bowel disease; IBS, irritable bowel syndrome; MA, Massachusetts; mg, milligram; MOS, prebiotic; nr, not reported; NV, Nevada.

Tabel 5. Beberapa Deskripsi Produk *S. boulardii* di Eropa dan Amerika (McFarland, L.V., 2017)

Penelitian yang dilakukan oleh Korcok dkk tentang pemberian probiotik *Lactobacillus plantarum* terhadap pasien dengan anemia defisiensi besi menunjukkan bahwa pemberian probiotik strain *L. plantarum* dengan dosis 50 mg, 80 mg, dan 100 mg dapat memperbaiki keadaan anemia defisiensi besi. (Korcok, 2018) Penelitian lain terkait pemberian *L. plantarum* pada 24 wanita dengan status besi rendah dengan dosis 10^9 CFU/gram memberikan efek positif terhadap absorpsi besi di usus. (Sunberg, M., 2011)

2.2.6 Toksisitas Probiotik

Keamanan pemakaian probiotik dapat dievaluasi dengan mempertanyakan apakah invasi bakteri tersebut pada host dapat menimbulkan infeksi dan apakah infeksi tersebut dapat berakibat buruk.

Pada uji toksisitas bakteri probiotik didapatkan bahwa (Berg, 1992, Salminen and Marteau, 1997) :

1. Pada pemberian tunggal *B. longum* BB 536 per oral, *median lethal dose* (LD50) pada mencit adalah > 50 g/kg ($5 \cdot 10^{13}$ /kg). Sedangkan pada pemberian *B. longum* BB 536 intraperitoneal LD50 $5 \cdot 10^{11}$ /kg.
2. Pada pemberian oral berulang tidak didapatkan toksisitas bahkan pada dosis pemberian $2,5 \cdot 10^{11}$ kg/hari selama 1 tahun.

2.2.7 Toksonomi *Saccharomyces boulardii*

Saccharomyces boulardii merupakan probiotik jenis ragi, pertama kali diisolasi dari buah leci di Indocina dan diperkenalkan oleh seorang biologis Prancis bernama Henri Boulard pada tahun 1920. Pada tahun 1980, studi pengembangan tentang keuntungan dan mekanisme kerja *Saccharomyces boulardii* mulai diteliti. (Tomicic, Zorica M et al, 2016)



Gambar 18. Mikrografi electron *S. boulardii* (McFarland, L.V., 2017)

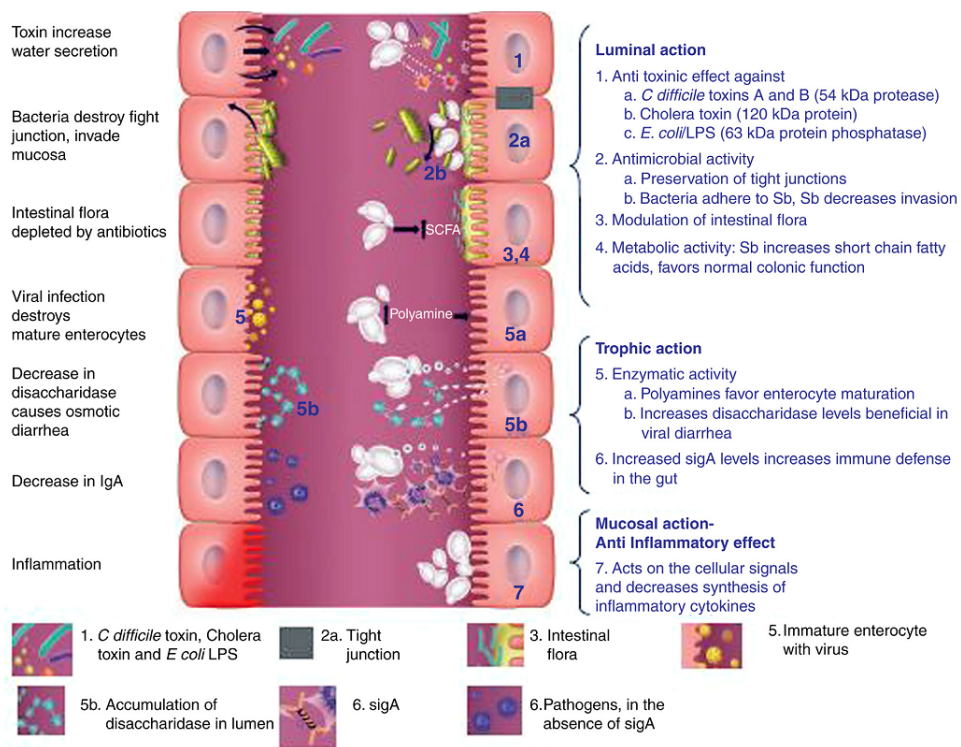
Saccharomyces boulardii dapat tumbuh pada suhu optimal 37 °C. *Saccharomyces boulardii* merupakan probiotik yang unik karena dapat tahan pada asam lambung, toleran terhadap asam empedu dan tidak

mempengaruhi kerja antibiotik, serta tidak mengganggu mikrobiota normal di dalam usus. (Tomicic, Z.M., et al, 2016)

2.2.8 Mekanisme Kerja *Saccharomyces Boulardii*

Pada awal tahun 1986, Caetano dkk menemukan peran *S. boulardii* dalam menginduksi sistem imun seluler dan humoral yang terlibat selama fase akut melawan patogen. Mereka mengamati peningkatan jumlah eritrosit dan leukosit terhadap peningkatan jumlah komplemen serum terhadap paparan yang diberi *S. boulardii*. (Stier, H, 2016)

Pada penelitian terhadap *S. boulardii*, ditemukan senyawa β -Glucan yang dianggap sebagai faktor imunomodulasi yang menstimulus sistem imun. Senyawa ini berbentuk kecil, mudah diserap, dan tahan panas. Fraksi β -Glucan ragi diidentifikasi sebagai imunomodulator. β -Glucan ditemukan sel semua fungi, termasuk *S. boulardii*. β -Glucan adalah molekul mikroba yang berhubungan dengan reseptor penting seperti reseptor dectin-1, reseptor komplemen 3, dan *Toll Like Receptor* (TLR), yang menginduksi sel imun seperti monosit, makrofag, *Dendritic Cells* (DCs), dan juga *intestinal epithelial cells* (IECs). (Stier, H, 2016)



Gambar 19. Mekanisme kerja *S. Boulardii*. Probiotik *S. Boulardii* memiliki mekanisme kerja di lumen usus; aksi tropik; dan mukosa usus (pengaruh anti inflamasi) (McFarland, L.V., 2017)

Perbedaan mekanisme kerja dari probiotik golongan bakteri dan ragi dapat diperlihatkan dalam tabel di bawah ini :

| | | Strain Bakteri | Strain Ragi (<i>S.boulardii</i>) |
|-----------------------------|--------------------------|----------------|------------------------------------|
| Efek pada lumen usus | Antimikroba | + | - |
| | Antitoksin | - | + |
| | Ikatan dengan Patogen | - | + |
| Efek pada epitel | Adhesi pada sel epitel | + | - |
| | Kompetisi dengan patogen | + | - |
| | Efek trophic | - | + |
| Modulasi sistem imun | | + | + |

Tabel 6. Perbandingan Mekanisme kerja probiotik bakteri dibandingkan *S. boulardii*. (Ohland and MacNaughton, 2010)Click or tap here to enter text.

Bila dibandingkan dengan probiotik dari golongan bakteri, *S. boulardii* memiliki ukuran yang lebih besar sekitar 10 kali dari ukuran

bakteri, menjadi media bakteri komensal untuk menempel dan *S. boulardii* menetralkan efek toksinnya. Efek dari probiotik ini tidak dipengaruhi oleh pemberian antibiotik sehingga mengurangi efek resistensi antibiotik, disamping itu *S. boulardii* memiliki efek tropik yang lebih baik dibandingkan probiotik bakteri, dengan melepaskan spermin dan spermidin, atau enzim lainnya yang membantu dalam pematangan enterosit. (Ohland and MacNaughton, 2010)

Spermin dan Spermidin merupakan poliamin yang dihasilkan oleh *S. boulardii* yang sangat berguna dalam pembelahan dan maturasi dari sel enterosit, melalui efeknya pada penurunan gugus fosfat DNA dan mengatur pembentukan struktur DNA serta transkripsi gen *growth factor*. Disebutkan pula bahwa efek lain dari spermin dan spermidin dalam pembentukan mRNA melalui *double feedback regulation*, yang menyebabkan stabilitas dan jumlah mRNA dalam keadaan normal. Disamping itu, ekskresi dari enzim-enzim pencernaan berupa sukrosa, maltase dan aminopeptidase, sangat penting dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen. (Buts & de Keyser, 2006)

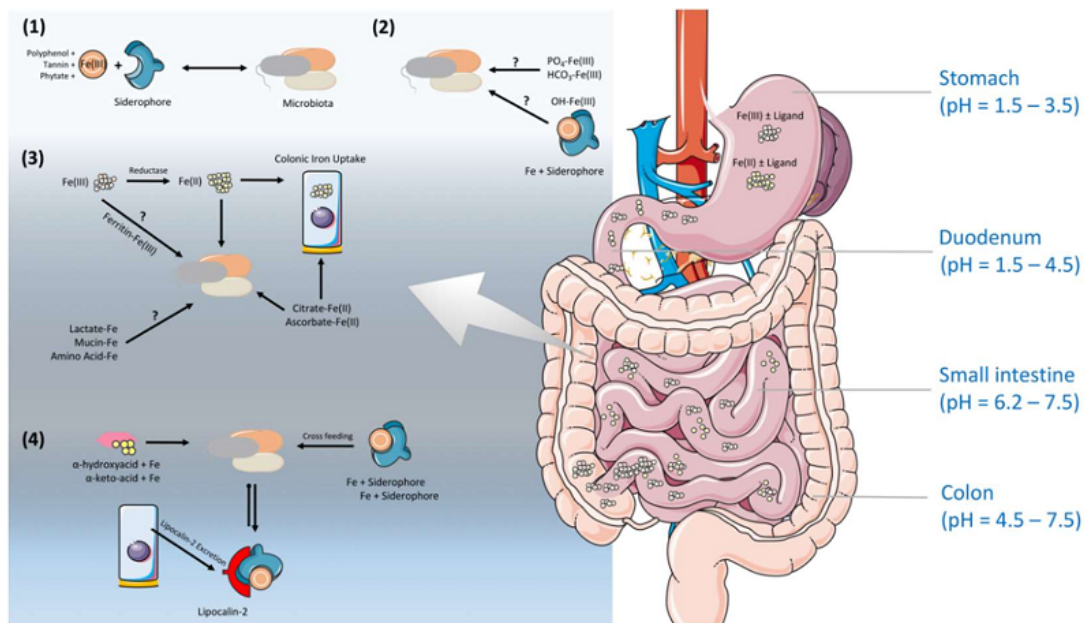
Produk fermentasi probiotik yang merupakan karbohidrat tidak tercerna dapat meningkatkan *short-chain fatty acid* (SCFA), umumnya seperti butirat dan propionat, akan meningkatkan penyerapan besi di usus. (Ganesh, B.P dan James Versalovic, 2015) SCFA membentuk kompleks yang larut dengan besi, sehingga akan menurunkan pH usus yang melepaskan ikatan besi terhadap protein, sehingga terjadi peningkatan

bioavailabilitas besi yang akan meningkatkan absorpsi besi di usus. (D. Bougle', 2002)

Di bagian proksimal kolon, flora usus memiliki kemampuan untuk tumbuh dan berdiferensiasi. Pemecahan polisakarida pada bagian ini menghasilkan karbohidrat sederhana yang dimanfaatkan oleh flora usus lainnya. Probiotik memproduksi asam laktat saat saat fermentasi glukosa. Produksi asam laktat ini menyebabkan pH turun, sehingga jumlah bakteri patogen *E. coli* turun dan terjadi peningkatan absorpsi mineral, termasuk besi di colon. (Lestari, L.A, 2018)

2.2.9 Peranan Probiotik Terhadap Anemia Defisiensi Besi

Di sepanjang saluran gastrointestinal, pH usus bervariasi. Asupan makanan pun dapat mempengaruhi pH usus di saluran gastrointestinal. Lambung memiliki pH rendah (pH = 1.5 – 3.5) yang dapat mempengaruhi solubilitas besi ferro dan ferri, baik engan ligand maupun tanpa ligand. pH di duodenum juga rendah (pH = 1.5 – 4.5). Kondisi asam di sekitar duodenum dapat meningkat setelah berinteraksi dengan makanan. Peningkatan pH di usus halus (pH = 6.2 – 7.5) dapat menurunkan solubilitas besi ferri. Sedangkan pH colon turun akibat produksi laktat dan *short chain fatty acid* (SCFA; asetat, butirrat, dan propinat) oleh mikrobiota usus. (Yilmaz, B. and Li, H., 2018)



Gambar 20. Mekanisme regulasi besi di lumen usus besar. pH pada saluran cerna bervariasi; intake makanan dapat mempengaruhi pH di traktus gastro-intestinal. Pada lumen usus besar (1) Besi berikatan dengan polifenol, termasuk tannin dan fitat, yang dapat menghasilkan besi melalui degradasi enzim atau pemindahan besi oleh siderofor (2) Ikatan besi yang tidak larut bersama fosfat, karbonat atau oksida dapat mereduksi bakteri atau kelasi siderofor (3) Sel host dan atau mikrobiota usus dapat memanfaatkan bentuk pengurangan besi dengan sitrat atau askorbat, ikatan laktat dan besi, mucin atau asam amino melalui mekanisme yang tidak diketahui (4) Siderofor dengan afinitas yang rendah, *alpha-hydroxyacids* dan *alpha-keto-acids* relative lebih mudah mengakses besi di usus besar. Yilmaz, B. and Li, H., 2018)

Pada lumen colon (1) Besi berikatan dengan polifenol, termasuk tannin dan fitat, yang membuat besi dapat diakses melalui degradasi enzimatik atau kehilangan besi oleh siderofor; (2) Zat besi yang tidak bisa larut dengan fosfat, karbonat, atau oksidasi dapat larut lagi dengan mekanisme yang tidak diketahui, yang mendorong reduksi bakteri dan kelasi siderofor; (3) Sel host dan atau mikrobiota usus dapat mengurasi utilisasi besi terkonjugasi dengan sitrat atau askorbat, ikatan besi dengan laktat, musin, atau asam amino, mungkin lebih mudah diakses dibandingkan dengan kompleks besi-ferritin oleh mikrobiota melalui mekanisme yang belum diketahui; (4) Siderofor dengan afinitas yang

rendah, *alpha-hydroxyacids*, dan *alpha-keto-acids*, secara teori dapat membantu dengan akses yang lebih mudah dari besi, dan dapat membantu *cross-feeding* besi oleh siderofor dan mikrobiota colon. (Yilmaz, B. and Li, H., 2018)

Penelitian terhadap pengaruh probiotik dan anemia masih sangat sedikit. Dari penelitian yang dilakukan, kemungkinan mekanisme yang terjadi pada peningkatan absorpsi besi oleh probiotik, yakni : (Yeung, C.K., 2005)

1. Produksi asam organik yang difermentasi oleh probiotik pada colon dapat menurunkan pH luminal dan meningkatkan solubilitas besi. Probiotik melindungi mukosa colon dari kerusakan akibat stres oksidatif, sehingga jumlah mineral yang dapat diserap pada colon tidak berkurang.
2. Probiotik atau produk fermentasinya mereduksi Fe(III) menjadi Fe(II) di colon.
3. Produk fermentasi probiotik seperti *short-chain fatty acid* (SCFA) menstimulasi proliferasi epitel sel, sehingga meningkatkan absorpsi besi pada permukaan colon.
4. Probiotik menstimulasi pengeluaran gen regulator besi.

Penelitian yang dilakukan oleh Yaghchi et al menjelaskan bahwa terjadi peningkatan kadar serum besi dan *total iron binding capacity* (TIBC) pada hewan coba yang terpapar toksin aluminium dan mendapatkan terapi prjobiotik *saccharomyces boulardii*. (Yaghchi, S.S., et al, 2018)

Absorpsi besi meningkat pada sampel anemia defisiensi besi yang diterapi dengan *L. plantarum* 299v dengan suplementasi besi dan vitamin C. Peningkatan penyerapan besi diteliti dengan cara menambahkan strain tersebut pada makanan tinggi fitat. Asam laktat yang dihasilkan *L. plantarum* 299v dari fermentasi sayuran dan sereal dapat meningkatkan penyerapan besi. Kemungkinan mekanisme yang dapat terjadi adalah efek dari rendahnya pH dan asam organik. Kadar pH yang rendah dapat mencegah pembentukan kompleks besi berkelarutan rendah. Asam organik dapat mengelasi besi dan menjaga besi agar tetap larut, sehingga dapat diserap dengan lebih baik oleh usus. Asam organik juga dapat menunda pengosongan lambung, sehingga dapat meningkatkan penyerapan besi di proksimal intestinum. (Korcok, D.J., et al, 2018)

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa *Lactobacillus plantarum* 299v dapat mencegah terjadinya anemia defisiensi besi. Penelitian terhadap ras Kaukasia di Eropa menunjukkan bahwa probiotik dapat memperbaiki absorpsi besi non-heme. Sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Rosen et al dengan menggunakan probiotik *L. plantarum* 299v pada anak yang mendapat terapi anemia defisiensi besi tidak menunjukkan hasil yang bermakna terhadap kadar ferritin dengan probiotik yang digunakan. (Rusu, I.G. et al, 2020)

Penelitian *L. plantarum* 299v lainnya yang ditambahkan dengan makanan tinggi fitat menunjukkan hasil yang positif pada penyerapan besi. Asam laktat yang dihasilkan *L. plantarum* 299v dari fermentasi sayuran dan

sereal meningkatkan penyerapan besi. Kemungkinan mekanisme yang terjadi adalah efek pH rendah dan asam organik. Kadar pH yang rendah dapat mencegah pembentukan kompleks besi berkelarutan rendah. Asam organik dapat mengelasi besi dan menjaga besi agar tetap terlarut, sehingga dapat terserap dengan lebih baik. Asam organik juga dapat menunda pengosongan lambung, sehingga dapat meningkatkan penyerapan besi di intestinum proksimal. (Lestari, L.A, 2018)

| Type of Iron Deficiency | Probiotic Strain | Type of Administration | Results |
|---|--|--|---|
| Low iron absorption | <i>Lactobacillus. plantarum</i> (FS2) | Orally; non-alcoholic sorghum-based beverages | ↑ iron bioavailability by 128–372% in the fermented beverages |
| Anemia (IDA) | <i>L. plantarum</i> 299v | Orally; pearl millet seeds | ↑ iron absorption |
| Anemia (IDA) | <i>Streptococcus thermophilus</i> | Orally; fermented milk beverage | ↑ iron absorption and utilization (amelioration of blood hemoglobin, serum iron, total iron binding capacity, ferritin) |
| Anemia (IDA) | <i>L. fermentum</i> | Orally; nanoparticles | probiotic internalize into the enterocyte delivering the nanoparticles and providing an adequate iron level |
| Anemia (IDA) | <i>L. fermentum</i> | In vitro | ↑ iron absorption |
| In menstruation | <i>L. plantarum</i> 299v | Orally; capsules, with a meal with a high iron bioavailability | ↑ iron absorption when administered together |
| Anemia (IDA) | <i>L. plantarum</i> 299v | Orally; fruit drink | ↑ iron absorption |
| Anemia (IDA) | <i>L. acidophilus</i> | Orally; fermented bread | ↑ ferritin formation significantly in the intestinal cells (in vitro) and animal serum (in vivo) ↑ iron absorption |
| Anemia (IDA) | <i>L. plantarum</i> 299v | Orally; capsules together with iron and vitamin C | ↑ iron level in the blood |
| Low iron bioavailability | <i>Bifidobacterium bifidum</i> and <i>B. longum</i> | Orally; powder follow-up infant formulas | ↑ apparent iron absorption or retention ($p < 0.05$) |
| Iron deficiency | <i>L. plantarum</i> 299v | Orally; capsules | The treatments were well-tolerated, with mild side effects No significant difference in the increase in serum ferritin in children |
| Healthy | <i>L. plantarum</i> | Orally; mix of raw vegetables | ↑ bioavailability of iron |
| Abnormalities of iron metabolism related to obesity | Probiotic mixture (<i>B. bifidum</i> W23, <i>B. lactis</i> W51, <i>B. lactis</i> W52, <i>L. acidophilus</i> W37, <i>L. brevis</i> W63, <i>L. casei</i> W56, <i>L. salivarius</i> W24, <i>Lactococcus lactis</i> W19, and <i>Lc. lactis</i> W58) | Orally; powder | Multistrain probiotic supplementation may influence iron metabolism in obese postmenopausal female patients; further studies are needed |
| Anemia (IDA) | <i>Lactobacillus plantarum</i> Dad 13 | Orally; fermented milk | No difference on the iron status, height, weight, and gut microbiota profile |

“↑”- increase.

Tabel 7. Efek pemberian probiotik pada beberapa tipe defisiensi besi. IDA = *iron deficiency anemia*. (Rusu, I.G. et al, 2020)

Probiotik lain yang telah diteliti hubungannya dengan status besi ialah *Lactobacillus acidophilus*. Penelitian dilakukan pada anak prasekolah dengan konsumsi makanan yang mengandung besi dengan bioavailabilitas

rendah. Susu fermentasi *L. acidophilus* yang sudah difortifikasi besi diberikan kepada 190 anak berusia 2 – 5 tahun selama 101 hari. Setelah dilakukan intervensi, tidak didapatkan perbedaan hasil evaluasi hemoglobin antara kelompok intervensi dan kontrol. (Lestari, L.A, 2018)

2.3 Kerangka Teori

