

**KARYA AKHIR**

**KHASIAT PROBIOTIK *STRAIN* BAKTERI DAN RAGI PADA  
PENGOBATAN ANAK DENGAN DEFISIENSI BESI**

***THE EFFICACY OF PROBIOTIC BACTERIA AND YEAST  
STRAIN FOR MANAGEMENT CHILDREN WITH  
IRON DEFICIENCY***

**RINI WULANDARI**

**C 105171005**



**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1 (Sp.1)  
PROGRAM STUDI ILMU KESEHATAN ANAK  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2021**

**KHASIAT PROBIOTIK *STRAIN* BAKTERI DAN RAGI 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

**RINI WULANDARI**

Kepada

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1 (Sp.1)  
PROGRAM STUDI ILMU KESEHATAN ANAK  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2021**

**LEMBAR PENGESAHAN TUGAS AKHIR**

**KHASIAT PROBIOTIK STRAIN BAKTERI DAN RAGI PADA  
PENGOBATAN ANAK DENGAN DEFISIENSI BESI**

Disusun dan diajukan oleh:

**RINI WULANDARI**

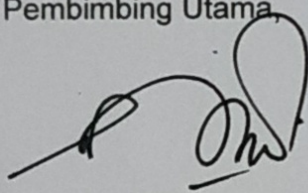
**NIM: C105171005**


Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka  
Penyelesaian Program Pendidikan Dokter Spesialis Ilmu Kesehatan Anak  
Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin  
Pada tanggal 30 Desember 2021  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui

Pembimbing Utama

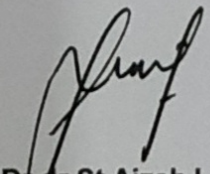
Pembimbing Pendamping

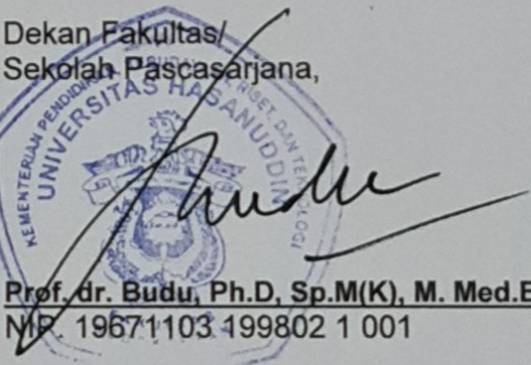
  
dr. Setia Budi Salekede, SpA(K)  
NIP. 19580505 198502 1 002

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

Ketua Program Studi,

Dekan Fakultas/  
Sekolah Pascasarjana,

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

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

## PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Rini Wulandari  
Nomor Mahasiswa : C105 171 005  
Program Studi : Biomedik/ 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 dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa Sebagian atau keseluruhan karya akhir ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, Desember 2021

Yang Menyatakan,



Rini Wulandari

## KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yesus Kristus yang telah melimpahkan berkat 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 Institusi Pendidikan Dokter Spesialis Anak (IPDSA) pada Konsentrasi Pendidikan Dokter Spesialis Terpadu, Universitas Hasanuddin, Makassar.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa 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)** dan **DR. dr. Nadirah Rasyid Ridha, M.Kes, SpA(K)** sebagai pembimbing materi penelitian yang dengan penuh perhatian dan kesabaran senantiasa mengarahkan dan memberikan dorongan kepada penulis sejak awal penelitian hingga penyelesaian penulisan karya akhir ini.

Ucapan terima kasih yang setulus-tulusnya penulis sampaikan kepada **Dr. dr Idham Jaya Ganda, SpA(K)** selaku pembimbing materi dan metodologi yang di tengah kesibukan beliau masih tetap memberikan waktu dan pikiran untuk membantu penulis dalam menyelesaikan karya akhir ini. Serta **(Alm) Prof. Dr. dr. H. Dasril Daud, Sp.A(K)** yang sebelumnya menjadi pembimbing materi dan metodologi, hingga di akhir hayat beliau

selalu memotivasi kami untuk selalu belajar metodologi sehingga penulis dapat menyelesaikan karya akhir ini.

Penulis juga menyampaikan terima kasih kepada para penguji yang telah memberikan masukan dan perbaikan dalam penulisan karya akhir ini, yaitu **Prof. dr. Syarifuddin Rauf, SpA(K)** dan **dr. Hadia Angriani, SpA(K), MARS.**

Ucapan terima kasih penulis juga sampaikan kepada:

1. Rektor dan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin atas kesediaannya menerima penulis sebagai peserta pendidikan pada Konsentrasi Pendidikan Dokter Spesialis Terpadu, Program Studi Ilmu Kesehatan Anak, Universitas Hasanuddin.
2. Koordinator Program Pendidikan Dokter Spesialis, Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin yang senantiasa memantau dan membantu kelancaran pendidikan penulis.
3. Ketua Departemen, Ketua beserta Sekretaris Program Studi Ilmu Kesehatan Anak Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin beserta seluruh staf pengajar (*supervisor*) 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 kesediaannya memberikan kesempatan kepada penulis untuk menjalani pendidikan di rumah sakit tersebut.
5. Semua staf administrasi Departemen Ilmu Kesehatan Anak Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, paramedis RSUP Dr. Wahidin

Sudirohusodo dan RS jejaring atas bantuan dan kerjasamanya selama penulis menjalani pendidikan.

6. Kedua orang tua saya tercinta, **Edy R. Junaedi, SH dan Ludia Sampe, SH**, beserta mertua saya **Sukadi dan Eni Rialati** yang senantiasa mendoakan dan memberikan semangat sehingga penulis mampu menjalani proses Pendidikan.
7. Kedua saudara kandung saya, **Iwan Indra Kurniawan, S.Sos, SH, MSi, MKn dan dr. Indra Darmawan**. Saudara ipar saya, **dr. Resti Ayu dan Apt. Harnita, S.Farm** serta anggota keluarga lainnya yang senantiasa mendukung dalam doa dan memberikan semangat sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan karya akhir ini.
8. Suami saya tercinta, **Letkol Inf. Monfi Ade Candra, SIP, M.Han** dan anak kami tersayang **Kamasean Kevano Samuel Candra** atas pengertian, pengorbanan, dan kesabarannya dalam mendampingi penulis selama menjalani pendidikan serta dengan penuh kasih sayang selalu memberikan doa serta dorongan moril kepada penulis yang menjadi penyemangat dan sumber inspirasi selama menjalani proses pendidikan.
9. Semua teman sejawat peserta PPDS ilmu kesehatan anak terutama teman seangkatan "**TOP TEN**" **Juli 2017** saudara dan saudari: **dr. Rugayyah, dr. Zukmyanti Suaib, dr. Desi Nandiyarizky, dr. Johan Gautama, dr. Andi Arwini Asmasary, dr. Try Kartika, dr. Nadya AR Bubakar, dr. Nur Ramdhani dan dr. Maya Susanti** atas bantuan dan

kerjasama yang menyenangkan dalam melewati berbagai suka duka selama penulis menjalani pendidikan.

10. Teman-teman tim penelitian penulis (**dr. Sidrah Darma, dr. Misjunaling Palayukan, dr. Utari Prasetyaningrum, dr. Zulyudisiawan Muin dan dr. Randy Suryawan**) yang telah berbaik hati membantu dan bekerjasama dengan baik selama penelitian berlangsung.
11. Bapak Bakri (Bintal Kodam XIV Hasanuddin), Pratu Ronal Ortega, anak-anak LKSA di makassar beserta pendeta-pendeta yang senantiasa mendukung dalam doa dan menjadi bagian dalam penelitian ini.
12. **Dinas Kesehatan Kabupaten Kutai Timur** yang telah memberikan saya kesempatan untuk dapat melanjutkan pendidikan spesialis anak.
13. Seluruh keluarga besar **Batalyon Infanteri 725/ Woroagi** di Kendari Sulawesi Tenggara atas dukungan doanya serta semua pihak yang tidak sempat penulis sebutkan satu persatu

Penulis berharap semoga tulisan ini dapat memberikan manfaat bagi perkembangan ilmu kesehatan anak di masa mendatang. Akhirnya, tak lupa pula penulis memohon maaf untuk hal-hal yang tidak berkenan dalam penulisan ini karena penulis menyadari sepenuhnya bahwa karya akhir ini masih jauh dari kesempurnaan.

Makassar, Desember 2021

**Rini Wulandari**



## ABSTRAK

**Latar Belakang:** Probiotik *strain* bakteri dan ragi banyak digunakan untuk penyakit pencernaan, karena efeknya yang baik dalam absorpsi besi sehingga dapat menjadi solusi potensial yang bisa dikembangkan untuk mengatasi masalah anemia defisiensi besi pada anak.

**Tujuan:** Menilai khasiat probiotik *strain* bakteri dan ragi pada pengobatan anak dengan defisiensi besi.

**Metode:** Desain penelitian ini adalah *randomized control trial* (RCT), *double blind*. Penelitian dilakukan terhadap 600 anak usia 1 -18 tahun di 15 LKSA yang ada di kota Makassar.

**Hasil:** Total 131 anak dengan anemia defisiensi besi terdiri atas 3 kelompok yang dipilih secara random. Kelompok A (46 anak mendapat terapi standar+plasebo), kelompok B (42 anak mendapat probiotik *strain* bakteri+terapi standar) dan kelompok C (43 anak mendapat kombinasi probiotik *strain* bakteri+ragi+terapi standar). Terapi diberikan selama 7 hari, kemudian dievaluasi kadar hemoglobin, retikulosit dan Ret-He antara ketiga kelompok. Kadar Retikulosit dan Ret-He pada kelompok B lebih tinggi dibandingkan pada kelompok A dan C dengan nilai  $p = 0.049$  dan  $0.006$  ( $p < 0.05$ ), sedangkan kadar hemoglobin pada kelompok B dan C lebih rendah dibandingkan kelompok A ( $p = 0.045$ ). Tidak terdapat perbedaan yang signifikan terhadap selisih kadar hemoglobin, retikulosit dan Ret-He antara kelompok A, B dan C.

**Kesimpulan :** Anak dengan defisiensi besi yang mendapat probiotik *strain* bakteri+terapi standar selama 7 hari menunjukkan kadar retikulosit dan Ret-He yang lebih tinggi daripada yang mendapat terapi standar+plasebo dan kombinasi probiotik *strain* bakteri+ragi+terapi standar.

Kata kunci : Defisiensi besi, hemoglobin, retikulosit, Ret-He, probiotik

## THE EFFICACY OF PROBIOTIC BACTERIA AND YEAST STRAIN FOR MANAGEMENT CHILDREN WITH IRON DEFICIENCY

### ABSTRACT

**Background:** Probiotic strains of bacteria and yeast are widely used for digestive diseases, because of their good effect on iron absorption so that they can be a potential solution that can be developed to overcome the problem of iron deficiency anemia in children.

**Objectives:** To assess the efficacy of probiotic strains of bacteria and yeast in the treatment of children with iron deficiency.

**Methods:** The design of this study was a randomized control trial (RCT), double blind. The study was conducted on 600 children aged 1 -18 years at 15 LKSA in Makassar.

**Results:** A total of 131 children with iron deficiency consists of 3 groups selected randomly. Group A (46 children received standard therapy + placebo), group B (42 children received bacteria strain probiotic + standard therapy) and group C (43 children received a combination of probiotic bacteria and yeast strain+standard therapy). The therapy was given for 7 days, then the hemoglobin, reticulocyte and Ret-He levels were evaluated between the three groups. Reticulocyte and Ret-He levels in group B were higher than in groups A and C with p value 0.049 and 0.006 ( $p < 0.05$ ), while hemoglobin levels in groups B and C were lower than groups A ( $p = 0.045$ ). There was no significant difference in hemoglobin, reticulocyte and Ret-He levels between groups A, B and C.

**Conclusion:** Children with iron deficiency who received probiotic bacterial strain + standard therapy for 7 days showed higher levels of Reticulocyte and Ret-He than those who received standard therapy + placebo and combination of probiotic bacterial and yeast strain + standard therapy.

Keyword : Iron deficiency, hemoglobin, reticulocyte, Ret-He, probiotics

## DAFTAR ISI

<b>KATA PENGANTAR .....</b>	<b>v</b>
<b>DAFTAR ISI .....</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xv</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xviii</b>
<b>DAFTAR ARTI SINGKATAN .....</b>	<b>xix</b>
<b>BAB I. PENDAHULUAN</b>	
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	8
1.3 Tujuan Penelitian .....	8
1.3.1 Tujuan Umum.....	8
1.3.2 Tujuan Khusus .....	8
1.4 Hipotesis Penelitian .....	9
1.5 Manfaat Penelitian .....	10
1.5.1 Pengembangan Ilmu Pengetahuan .....	10
1.5.2 Pemecahan Masalah Medis .....	10
1.5.3 Data Penelitian Selanjutnya.....	11
<b>BAB II. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Anemia Defisiensi Besi.....	12
2.1.1 Definisi .....	12
2.1.2 Epidemiologi.....	13
2.1.3 Etiologi .....	15

2.1.4	Metabolisme dan Absorpsi Besi .....	18
2.1.5	Faktor yang Mempengaruhi Absorpsi Besi .....	28
2.1.6	Peranan Hepsidin Pada Homeostasis Besi .....	30
2.1.7	Patofisiologi Anemia Defisiensi Besi .....	34
2.1.8	Manifestasi Klinis Anemia Defisiensi Besi.....	35
2.1.9	Pemeriksaan Laboratorium.....	38
2.1.9.1	Reticulocyte Hemoglobin Equivalentt .....	39
2.1.10	Diagnosis Banding Anemia Defisiensi Besi.....	42
2.1.11	Penatalaksanaan Anemia Defisiensi Besi.....	44
2.2	Probiotik .....	46
2.2.1	Definisi Probiotik.....	46
2.2.2	Koloni Usus dan Mikroorganism Probiotik .....	46
2.2.3	Fungsi Probiotik.....	49
2.2.4	Mekanisme Kerja Probiotik.....	50
2.2.5	Metabolisme Probiotik .....	55
2.2.6	Dosis Probiotik .....	56
2.2.7	Toksisitas Probiotik.....	59
2.2.8	<i>L. acidophilus dan Bifidobacterium longum</i> .....	59
2.2.9	<i>Saccharomyces Boulardii</i> .....	61
2.2.9.1	Mekanisme Kerja <i>Saccharomyces boulardii</i> .....	62
2.2.10	Peranan Probiotik Terhadap Anemia Defisiensi Besi ...	66
2.3	Kerangka Teori.....	75

<b>BAB III. KERANGKA KONSEP.....</b>	<b>76</b>
<b>BAB IV. METODE PENELITIAN</b>	
4.1    Desain Penelitian.....	77
4.2    Lokasi dan Waktu Penelitian .....	77
4.3    Populasi dan Sampel Penelitian .....	77
4.3.1 Populasi Target.....	77
4.3.2 Populasi Terjangkau .....	78
4.3.3 Sampel.....	78
4.3.4 Cara Pengambilan Sampel .....	78
4.3.5 Perkiraan Besar Sampel .....	79
4.4    Kriteria Inklusi dan Eksklusi.....	80
4.4.1 Kriteria Inklusi.....	80
4.4.2 Kriteria Eksklusi .....	81
4.4.3 Kriteria <i>Drop Out</i> .....	81
4.5    Izin Penelitian dan <i>Ethical Clearance</i> .....	81
4.6    Cara Kerja .....	82
4.6.1 Alokasi Subyek.....	82
4.6.2 Prosedur Penelitian .....	82
4.6.2.1 Pencatatan Data Sampel .....	82
4.6.2.2 Pemeriksaan Laboratorium.....	83
4.6.2.3 Prosedur Terapi.....	83
4.7    Evaluasi Laboratorium.....	84
4.8    Alur Penelitian .....	85

4.9	Identifikasi Variabel .....	85
4.10	Definisi Operasional dan Kriteria Objektif.....	86
4.10.1	Definisi Operasional .....	86
4.10.2	Kriteria Objektif.....	89
4.11	Pengolahan dan Analisis Data.....	90
4.11.1	Analisis Univariat .....	90
4.11.2	Analisis Bivariat .....	90
<b>BAB V. HASIL PENELITIAN</b>		
5.1	Jumlah Sampel.....	91
5.2	Karakteristik Sampel.....	94
5.3	Evaluasi Hasil Terapi .....	96
<b>BAB VI. PEMBAHASAN.....</b>		
		114
<b>BAB VII. KESIMPULAN DAN SARAN</b>		
7.1.	Kesimpulan.....	128
7.2.	Saran .....	129
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>		
		131

## DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
1. Batas Normal Kadar Hemoglobin .....	12
2. Tahapan Anemia Defisiensi Besi .....	3
3. Pemeriksaan Laboratorium Anemia Defisiensi Besi .....	42
4. Respon terapi besi .....	45
5. Mikroorganisme Probiotik .....	48
6. Beberapa deskripsi produk <i>S.boulardii</i> di Eropa dan Amerika .....	58
7. Perbandingan mekanisme kerja probiotik bakteri dan ragi .....	64
8. Metaanalisis beberapa penelitian efek probiotik .....	72
9. Karakteristik sampel penelitian .....	94
10. Karakteristik laboratorium penelitian .....	95
11. Analisis kadar Hb, retikulosit dan Ret-He kelompok A dan B sebelum perlakuan .....	96
12. Analisis kadar Hb, retikulosit dan Ret-He kelompok B dan C sebelum perlakuan .....	97
13. Analisis kadar Hb, retikulosit dan Ret-He kelompok A dan C sebelum perlakuan .....	98
14. Analisis kadar Hb, retikulosit dan Ret-He kelompok A dan B sesudah perlakuan .....	99

15. Analisis kadar Hb, retikulosit dan Ret-He kelompok B dan C sesudah perlakuan.....	100
16. Analisis kadar Hb, retikulosit dan Ret-He kelompok A dan C sesudah perlakuan.....	101
17. Analisis kadar Hb, retikulosit dan Ret-He kelompok A sebelum dan sesudah perlakuan .....	102
18. Analisis kadar Hb, retikulosit dan Ret-He kelompok B sebelum dan sesudah perlakuan .....	103
19. Analisis kadar Hb, retikulosit dan Ret-He kelompok C sebelum dan sesudah perlakuan .....	104
20. Analisis selisih kadar Hb, retikulosit dan Ret-He kelompok A, B dan C.....	105
21. Analisis perubahan kadar Hb, retikulosit dan Ret-He pada kelompok A.....	107
22. Analisis perubahan kadar Hb, retikulosit dan Ret-He pada kelompok B.....	109
23. Analisis perubahan kadar Hb, retikulosit dan Ret-He pada kelompok C.....	111



## DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
1. Insidens Anemia Defisiensi Besi .....	14
2. Distribusi ADB sesuai Umur dan Jenis Kelamin di Indonesia .....	15
3. Homeostasis Besi Tubuh .....	19
4. Fase absorpsi besi di dalam usus .....	20
5. Absorpsi zat besi heme dan non heme di usus.....	22
6. Regulasi Metabolisme Besi .....	23
7. Mekanisme absorpsi besi melalui enterosit .....	24
8. Metabolisme besi di hepatosit.....	26
9. Metabolisme besi di makrofag .....	27
10. Metabolisme besi di eritroblast .....	28
11. Peranan Hpcidin Pada Homeostasis Besi .....	31
12. Konjungtiva anemis.....	36
13. <i>Stomatitis angularis</i> .....	36
14. Glossitis .....	37
15. Koilonikia ( <i>Spoon nail</i> ) .....	37
16. Mikrositik Hipokrom.....	39
17. Mikrofora Usus .....	47
18. Efek Probiotik Pada Epitel.....	50
19. Mekanisme Kerja Probiotik .....	52
20. <i>Lactobacillus acidophilus</i> .....	61

21. <i>Mikrografi elektron S. boulardii</i> .....	62
22. Mekanisme Kerja Probiotik <i>S. boulardii</i> .....	63
23. Mekanisme Regulasi Besi di Lumen Usus .....	67
24. Mekanisme absorpsi besi pada enterosit duodenum .....	68
25. Probiotik dimetabolisme oleh mikrobiota komensal usus .....	69

## DAFTAR ARTI SINGKATAN

SINGKATAN	ARTI DAN KETERANGAN
AAD	<i>Antibiotic-Associated Diarrhea</i>
ADB	Anemia Defisiensi Besi
AMP	<i>Antimicrobial Proteins</i>
APK	Anemia Penyakit Kronik
ASI	Air Susu Ibu
BB	Berat Badan
<i>B. longum</i>	<i>Bifidobacterium Longum</i>
BMP	<i>Bone Morphogenetic Proteins</i>
CFU	<i>Colony Forming Unit</i>
DCs	<i>Dendritic Cells</i>
DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i>
DMT-1	<i>Duodenal Metalo Transporter-1</i>
E. coli	<i>Escherichia coli</i>
Fe <sup>2+</sup>	Besi Ferro
Fe <sup>3+</sup>	Besi Ferri
Hb	Hemoglobin
HCP-1	<i>Heme Carrier Protein-1</i>
HFE	<i>High Fe<sup>2+</sup></i>
IBD	<i>Inflammatory Bowel Disease</i>
IBS	<i>Irritable Bowel Syndrome</i>
IDAI	Ikatan Dokter Anak Indonesia
IECs	<i>Intestinal Epithelial Cells</i>

IgA	Immunoglobulin A
IgM	Immunoglobulin M
IL 6	Interleukin 6
IL 10	Interleukin 10
IRE	<i>Iron Responsive Element</i>
IREG 1	<i>Iron-Regulated Transporter 1</i>
ISK	Infeksi Saluran Kemih
JNK 2	Janus Kinase 2
<i>L. acidophyllus</i>	<i>Lactobacillus acidophyllus</i>
LAB	<i>Lactic Acid Bacteria</i>
LKSA	Lembaga Kesejahteraan Sosial Anak
LMW	<i>Low Molecular Weight</i>
LPS	Lipopolisakarida
MCH	<i>Mean Corpuscular Hemoglobin</i>
MCHC	<i>Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration</i>
MCV	<i>Mean Corpuscular Volume</i>
MP-ASI	Makanan Pendamping ASI
mRNA	<i>Messenger-Rybonucleic Acid</i>
MODS	<i>Multi Organ Dysfunction Syndrome</i>
MT-2	<i>Matriptase Transmembran-2</i>
NEC	<i>Necrotizing Enterocolitis</i>
PAMPs	<i>Pathogen Associated Molecular Pattern</i>
PKC	Protein Kinase C
PNH	<i>Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria</i>

pH	<i>Power of Hydrogen</i>
RCT	<i>Randomized Controlled Trial</i>
RDW	<i>Red Cell Distribution Width</i>
Ret-He	<i>Reticulocyte Hemoglobin Equivalent</i>
Riskesdas	Riset Kesehatan Dasar
S. boulardii	<i>Saccharomyces bolardii</i>
SCFA	<i>Short Chain Fatty Acids</i>
SEANUTS	<i>South East Asia Nutrition Survey</i>
slgA	<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>
ZO-2	<i>Zonula Ocludens</i>

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang Masalah**

Anemia merupakan masalah kesehatan global yang prevalensinya terus meningkat setiap tahun. Anemia adalah berkurangnya nilai hemoglobin dari batas normal sesuai usianya. Anemia yang paling banyak terjadi baik di negara maju maupun negara berkembang adalah anemia defisiensi besi. (*World Health Organization, 2015*).

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. Menurut IDAI 2018, Anemia Defisiensi Besi (ADB) adalah anemia yang disebabkan oleh berkurangnya cadangan besi tubuh untuk membentuk eritrosit. (Purnamasari, 2018)

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 pada anak, menurunkan konsentrasi, dan menurunkan produktivitas kerja. (RISKESDAS, 2018)

Zat besi merupakan mikromineral yang berperan penting dalam proses pembentukan hemoglobin dalam sel darah merah. Zat besi termasuk mikronutrien yang penting untuk tumbuh kembang seorang anak karena berperan dalam berbagai proses metabolik, termasuk transpor oksigen, sintesis DNA, dan transpor elektron. Bila kadar besi dalam tubuh menurun, organ dan jaringan tidak mendapat transpor oksigen yang cukup sehingga mengakibatkan kelelahan, penurunan performa dan penurunan imunitas. Dampak jangka panjang defisiensi besi yang tidak diobati dapat menyebabkan gangguan pertumbuhan dan perkembangan. (Purnamasari, 2018)

Solusi potensial yang bisa dikembangkan untuk mengatasi masalah anemia defisiensi besi adalah dengan mengoptimalkan peran probiotik. Probiotik merupakan mikroorganisme hidup yang saat ini banyak dikembangkan dan memberi manfaat kesehatan, umumnya dalam memperbaiki atau memulihkan flora usus. (Yuniatuti A, 2014)

Menurut Food and Agriculture Organization (FAO) dan WHO tahun 2001, probiotik adalah mikroorganisme yang hidup dalam tubuh *host* dengan jumlah yang memadai yang akan memberikan manfaat kesehatan

pada *host*. Beberapa probiotik umumnya meliputi berbagai spesies dari bakteri genera *Bifidobacterium* dan *Lactobacillus* seperti: *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus GG*. Adapun satu spesies ragi yang digunakan sebagai probiotik yaitu *Saccharomyces boulardii*, probiotik ini pertama kali di isolasi dari buah leci dan manggis oleh ilmuwan Henri boulard dan menghasilkan protein yang menghambat bakteri patogen dan toksinnya. (Yuniatuti A, 2014 dan Gogineni et al, 2013)

Probiotik yang efektif harus memenuhi beberapa kriteria seperti, memberikan efek yang menguntungkan pada *host*, tidak patogenik dan tidak toksik, mengandung sejumlah besar sel hidup, mampu bertahan dan melakukan kegiatan metabolisme dalam usus, tetap hidup selama dalam penyimpanan dan waktu digunakan, mempunyai sifat sensori yang baik dan diisolasi dari *host*. Bakteri-bakteri probiotik (*Lactobacillus* dan *Bifidobacterium*) bekerja secara anaerob menghasilkan asam laktat mengakibatkan turunnya pH saluran pencernaan yang menghalangi perkembangan dan pertumbuhan bakteri-bakteri patogen. (Yuniatuti A, 2014)

Pada umumnya mekanisme kerja probiotik antara lain probiotik dapat memperkuat *barrier* epitel dengan meningkatkan produksi musin oleh sel goblet sehingga menghambat terjadinya apoptosis sel, menghasilkan



produk fermentasi yakni *short chain fatty acid* (SCFA) yang akan menurunkan pH lumen usus dan menghambat pertumbuhan bakteri patogen, probiotik juga berkompetisi dengan bakteri patogen untuk adhesi ke mukosa usus, serta berfungsi untuk immunomodulasi. (Gogineni et al, 2013)

Probiotik telah diaplikasikan secara klinis terhadap beberapa penyakit antara lain diare, *Inflammatory Bowel Disease* (IBD), *Irritable Bowel Syndrome* (IBS), *Necrotizing Enterocolitis* (NEC), *Multi Organ Dysfunction Syndrome* (MODS), penyakit alergi dan imunitas, pankreatitis, infeksi saluran kemih (ISK). Probiotik memiliki masing-masing efektivitas yang berbeda-beda terhadap beragam penyakit, sehingga banyak peneliti yang terus mencari berbagai manfaat dari probiotik agar dapat diaplikasikan terhadap masyarakat. (Singh et al, 2014)

Pada beberapa penelitian banyak mengkombinasikan beberapa probiotik *strain* bakteri untuk mendapatkan hasil yang lebih efektif dalam pengobatan penyakit. Penelitian yang dilakukan Mc Farland (2020) yang membandingkan efektivitas dari probiotik *single strain* (*L. rhamnosus* GG) dengan *multi strain* (*L. rhamnosus* GG, *L. helveticus* R52 and *B. lactis* Bb12) menyimpulkan bahwa banyaknya *strain* tidak secara signifikan memiliki efek terhadap semua penyakit namun pada kebanyakan kasus probiotik *multi strain* memiliki rentang efek yang lebih luas dan memiliki mekanisme kerja untuk bersinergi dengan masing-masing *strain* didalamnya dibandingkan dengan *single strain*.

Probiotik *strain* ragi juga memiliki manfaat yang baik terhadap penyakit diare dimana pada sebuah penelitian metaanalisis tahun 2005 tentang uji klinis membandingkan efektivitas *S. boulardii* dengan *L. rhamnosus* menyimpulkan bahwa *S. boulardii* lebih efektif dibandingkan *L. rhamnosus* dalam mengurangi resiko diare yang berhubungan dengan penggunaan antibiotik (AAD) dan mengurangi durasi diare pada anak dan dewasa. (Gogineni et al, 2013)

Pada penyakit anemia defisiensi besi, probiotik juga berperan dalam absorpsi 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- $\alpha$ ) dan meningkatkan sitokin anti inflamasi

(interleukin 10 dan TGF- $\beta$ ) serta meningkatkan aktivitas *Natural Killer cell*. (Ohland et al, 2010)

Produk fermentasi dari probiotik berupa *Short Chain Fatty Acid* (SCFA) dapat meningkatkan absorpsi besi dengan menurunkan pH kolon dan menjaga solubilitas besi dalam lumen kolon. Kondisi pH kolon yang rendah juga akan mereduksi ion ferro ( $\text{Fe}^{3+}$ ) menjadi ion ferri ( $\text{Fe}^{2+}$ ) sehingga lebih mudah diabsorpsi. *Short Chain Fatty Acid* juga merangsang proliferasi epitel dengan memperlebar dan memperdalam villi dan kriptas usus sehingga akan meningkatkan absorpsi zat besi. (Yeung C, 2005 dan Matur et al, 2014)

Penelitian yang dilakukan Manoppo et al terhadap 66 anak usia 5 - 12 tahun yang diberikan probiotik *Lactobacillus reuteri* pada anak dengan anemia defisiensi besi dengan hasil secara signifikan mengalami kenaikan Ret Hb pada kelompok yang diberikan probiotik. (Manoppo et al, 2019)

Penelitian yang dilakukan silva et al pada 190 anak usia 2 – 5 tahun yang diberikan suplementasi besi dan probiotik *Lactobacillus acidophilus* dengan hasil tidak terdapat perbedaan yang signifikan kadar Hb dan ferritin antara kelompok kontrol dan kelompok yang diberikan probiotik, hanya terdapat perbedaan signifikan pada MCHC diantara kedua kelompok. (Silva et al, 2008)

Penelitian yang dilakukan juga oleh skyripnik et al pada hewan coba tikus yang diberikan multispecies probiotik dengan hasil terdapat

perbedaan signifikan kenaikan kadar hemoglobin antara kelompok yang diberikan probiotik dengan kelompok kontrol. (Skyripnik et al, 2019)

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)

Korcok, Davor Jovan dkk dalam penelitiannya menunjukkan bahwa absorpsi besi meningkat pada sampel anemia defisiensi besi yang diterapi dengan *L. plantarum 299v* dengan terapi standar dan vitamin C. (Korcok et al, 2018)

Probiotik memiliki banyak manfaat terutama bagi saluran cerna melalui berbagai mekanisme kerjanya namun penelitian pemberian probiotik pada anemia defisiensi besi masih sangat kurang terutama pada *strain* ragi sehingga **penting** dilakukan penelitian ini untuk mengetahui khasiat probiotik *strain* bakteri dan ragi pada anak yang menderita anemia defisiensi besi dan merupakan penelitian awal yang nantinya diharapkan dapat digunakan sebagai salah satu alternatif untuk mengatasi permasalahan anemia. Oleh karena itu peneliti memandang **perlu** melakukan penelitian ini.

Penelitian tentang khasiat probiotik *strain* bakteri dan ragi pada pengobatan anak dengan anemia defisiensi besi belum pernah diteliti sebelumnya di Indonesia.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Dengan memperhatikan latar belakang permasalahan, maka dirumuskan masalah penelitian sebagai berikut :

Apakah probiotik *strain* bakteri dan ragi dapat mempengaruhi kadar hemoglobin, retikulosit dan Ret-He pada pengobatan anak dengan defisiensi besi?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

### **1.3.1 Tujuan Umum**

Menilai khasiat probiotik *strain* bakteri dan ragi pada pengobatan anak dengan defisiensi besi.

### **1.3.2 Tujuan Khusus**

1. Menentukan anak yang mengalami defisiensi besi setelah dilakukan pemeriksaan hemoglobin, retikulosit, Ret-He dan ferritin
2. Mengukur kadar hemoglobin, retikulosit dan Ret-He pada pengobatan anak dengan defisiensi besi sebelum diberikan terapi standar bersama plasebo, terapi standar bersama probiotik *strain* bakteri serta terapi standar bersama kombinasi probiotik *strain* bakteri dan ragi.
3. Mengukur kadar hemoglobin, retikulosit dan Ret-He pada pengobatan anak dengan defisiensi besi sesudah diberikan terapi standar bersama plasebo, terapi standar bersama probiotik *strain* bakteri serta terapi standar bersama kombinasi probiotik *strain* bakteri dan ragi.

4. Membandingkan kadar hemoglobin, retikulosit dan Ret-He pada pengobatan anak dengan defisiensi besi sebelum dan sesudah diberikan terapi standar bersama plasebo, terapi standar bersama probiotik *strain* bakteri serta terapi standar bersama kombinasi probiotik *strain* bakteri dan ragi.
5. Membandingkan selisih kadar hemoglobin, retikulosit dan Ret-He sebelum dan sesudah pengobatan anak dengan defisiensi besi antara terapi standar bersama plasebo, terapi standar bersama probiotik *strain* bakteri serta terapi standar bersama kombinasi probiotik *strain* bakteri dan ragi.

#### **1.4 Hipotesis**

Hipotesis yang diajukan pada penelitian ini, antara lain:

1. Kadar hemoglobin, retikulosit dan Ret-He lebih tinggi pada pengobatan anak dengan defisiensi besi yang diberikan terapi standar bersama probiotik *strain* bakteri dibandingkan dengan terapi standar bersama plasebo.
2. Kadar hemoglobin, retikulosit dan Ret-He lebih tinggi pada pengobatan anak dengan defisiensi besi yang diberikan terapi standar bersama kombinasi probiotik *strain* bakteri dan ragi dibandingkan dengan terapi standar bersama probiotik *strain* bakteri.

## **1.5 Manfaat Penelitian**

### **1.5.1 Pengembangan Ilmu Pengetahuan**

1. Hasil Penelitian ini diharapkan dapat menambah informasi ilmiah mengenai khasiat pemberian probiotik *strain* bakteri dan ragi dalam meningkatkan kadar hemoglobin, retikulosit dan Ret-He pada pengobatan anak dengan defisiensi besi.
2. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi dan pengembangan yang berarti terhadap penelitian-penelitian tentang khasiat probiotik *strain* bakteri dan ragi pada pengobatan anak dengan defisiensi besi

### **1.5.2 Manfaat untuk pemecahan masalah medis**

1. Apabila terbukti khasiat dari pemberian probiotik *strain* bakteri dan ragi pada pengobatan anak dengan defisiensi besi, maka penelitian ini akan membantu klinisi dalam memberikan tatalaksana yang tepat sehingga tercapai efektifitas dan efisiensi dalam pengobatan defisiensi besi.
2. Penelitian ini diharapkan dapat mempercepat pemulihan (tercapainya kadar hemoglobin, retikulosit dan Ret-he normal) dan menurunkan angka kejadian defisiensi besi pada anak.

### **1.5.3 Data penelitian selanjutnya**

Sebagai tambahan data untuk penelitian selanjutnya untuk mengetahui bagaimana khasiat pemberian probiotik *strain* bakteri dan ragi pada pengobatan anak dengan defisiensi besi.



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Anemia Defisiensi Besi

##### 2.1.1 Definisi

Anemia didefinisikan sebagai suatu keadaan kadar hemoglobin (Hb) di dalam darah lebih rendah daripada nilai normal untuk kelompok orang yang bersangkutan. Kelompok ditentukan menurut umur dan jenis kelamin, seperti yang terlihat di dalam tabel di bawah ini:

Tabel 1. Batas Normal Kadar Hemoglobin

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

Sumber : The clinical Use of Blood, WHO 2002

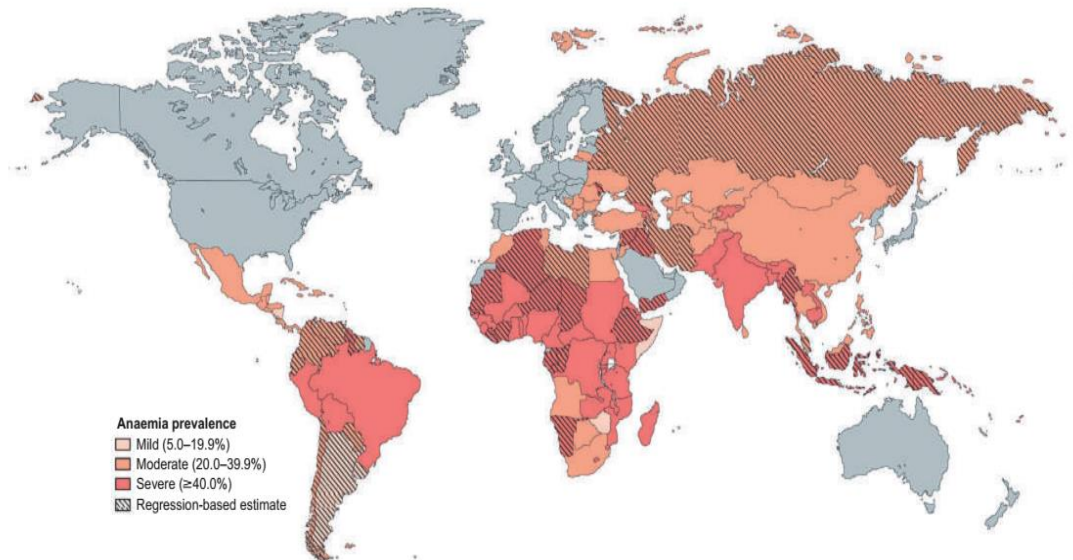
Anemia defisiensi besi (ADB) adalah anemia yang disebabkan oleh berkurangnya cadangan besi tubuh untuk membentuk eritrosit. Terri menyebutkan bahwa anemia defisiensi besi adalah anemia yang terjadi akibat kekurangan zat besi untuk membentuk sel darah merah yang normal. (Terri D. Johnson, 2011)

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)

### **2.1.2 Epidemiologi**

Diperkirakan sekitar 30% populasi dunia mengalami anemia defisiensi besi, dan kebanyakan mereka hidup di negara berkembang. Data dari *South East Asia Nutrition Survey* (SEANUTS) tahun 2013 didapatkan 55% anak usia 6-21 bulan menderita anemia. Sedangkan di Amerika Serikat, sekitar 6% anak usia 1-2 tahun diketahui kekurangan besi, 3% menderita anemia. 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

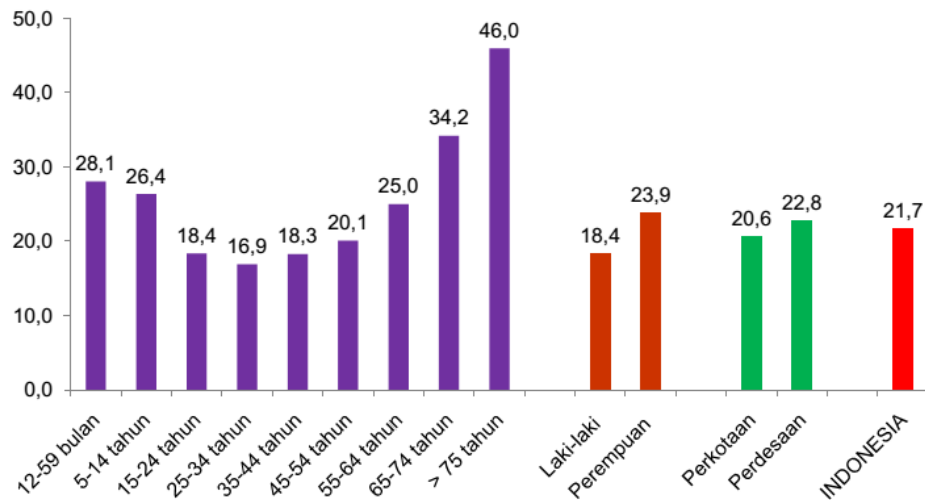
status sosial ekonomi anak kulit hitam yang lebih rendah. (Endang W. et.al, 2018).



**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: Insidensi Anemia Defisiensi Besi di seluruh dunia (WHO,2015)

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%.



Gambar 2. Distribusi ADB sesuai Umur dan Jenis Kelamin di Indonesia

(Riset Kesehatan Dasar 2013)

### 2.1.3 Etiologi

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

Kekurangan besi diakibatkan antara lain :

#### 1. Kebutuhan yang meningkat secara fisiologis

- Pertumbuhan

Pada periode pertumbuhan 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 masa 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 masa hemoglobin dalam sirkulasi mencapai 3 kali lipat saat lahir.

- 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 PASI 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 yakni kehilangan darah yang akan mempengaruhi keseimbangan status besi. Kehilangan darah 1 ml akan menurun drastis 0,5 mg besi, jadi kehilangan darah 3-4 mL/hari (1,5-2 mg besi) dapat mengakibatkan keseimbangan negatif besi.

### 4. Transfusi fetomaternal

Kebocoran darah kronis kedalam 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 (PNH) 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 ditandai dengan perdarahan 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 feritin serumnya <10 ug/dL. Perdarahan saluran cerna yang tidak tampak akibat iskemia yang hilang timbul pada usus selama latihan berat terjadi pada 50% pelari.

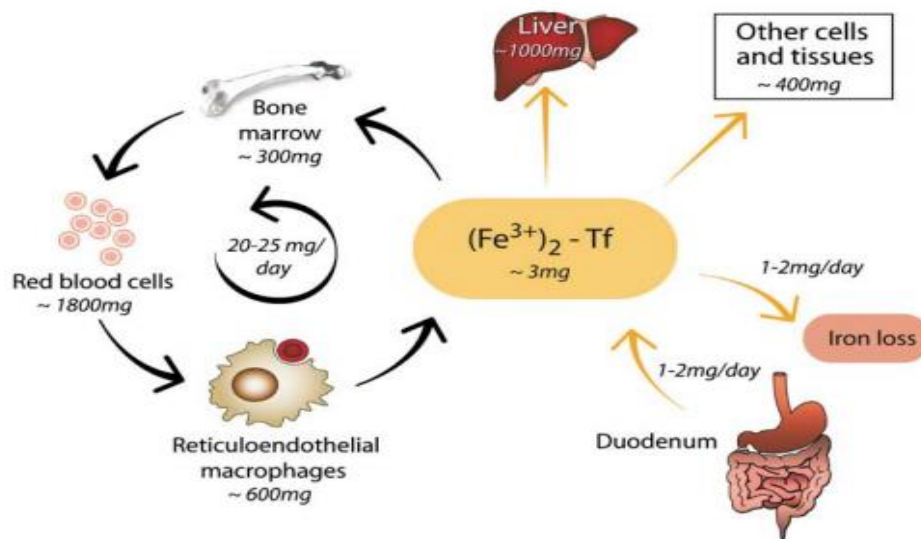
### **2.1.4 Metabolisme dan Absorpsi Besi**

Besi bersama dengan protein (globin) dan porfirin berperan penting dalam pembentukan hemoglobin. Penyerapan besi oleh tubuh dipengaruhi jumlah besi dalam makanan, bioavailabilitas besi dalam makanan dan penyerapan oleh mukosa usus. Sekitar 67% besi terdapat dalam bentuk hemoglobin, 30% sebagai cadangan dalam bentuk ferritin atau hemosiderin dan 3% mioglobin. (Purnamasari, 2018)

Homeostasis besi adalah mekanisme tubuh dalam mempertahankan keseimbangan besi pada kadar tertentu agar dapat mencegah kekurangan atau akumulasi besi yang abnormal. Homeostasis besi tergantung dari mekanisme umpan balik antara kebutuhan besi dan absorpsi besi di usus. (Hentze, W.M and Muckenthaler, U.M, 2004)

Dalam kondisi normal, masukan besi melalui diet sekitar 15 – 25 mg per hari, namun hanya sekitar 5 – 10% (1 – 2 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 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.



**Keterangan gambar :** 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 mg per hari.

Gambar 3. Homeostasis besi tubuh (Hentze, W.M and Muckenthaler, U.M, 2004)

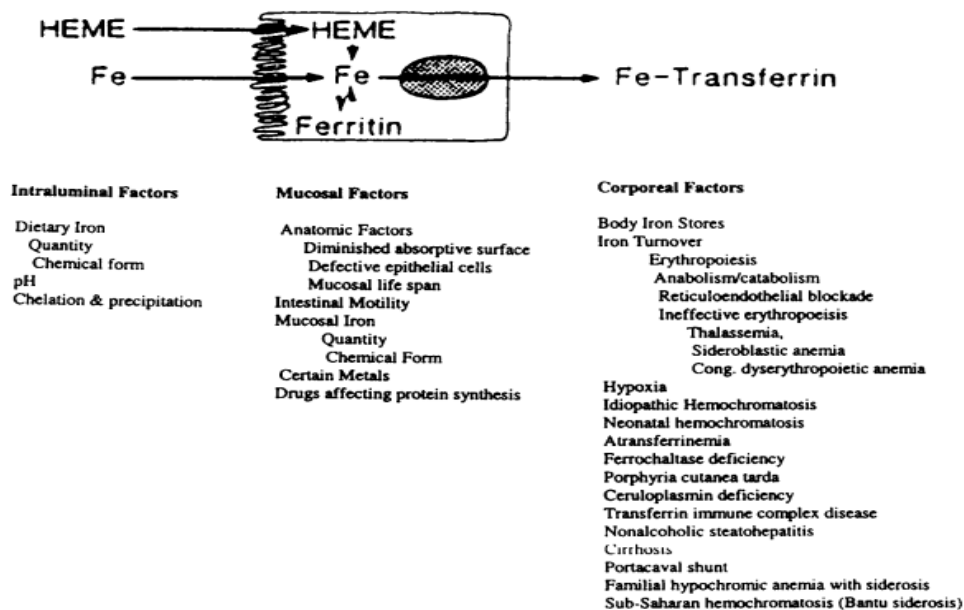
Ada 2 cara absorpsi besi dalam usus, yakni non heme yang merupakan *enhancer* dalam penyerapan besi dan heme yang dapat langsung diserap oleh tubuh tanpa memperhatikan cadangan besi dalam tubuh, asam lambung ataupun makanan yang dikonsumsi. (Purnamasari, 2018)

Proses absorpsi besi dibagi menjadi 3 fase, antara lain sebagai berikut: (Conrad dan Umbreit, 2002)

1. Fase intraluminal : besi dalam makanan diolah dalam lambung kemudian siap diserap di duodenum.



2. Fase mukosal : proses penyerapan dalam mukosa usus yang merupakan suatu proses yang aktif.
3. Fase korporeal : meliputi proses transportasi besi dalam sirkulasi, utilisasi besi oleh sel-sel yang memerlukan serta penyimpanan besi (*storage*)



Gambar 4. Fase absorpsi besi di dalam usus (Conrad dan Umbreit, 2002)

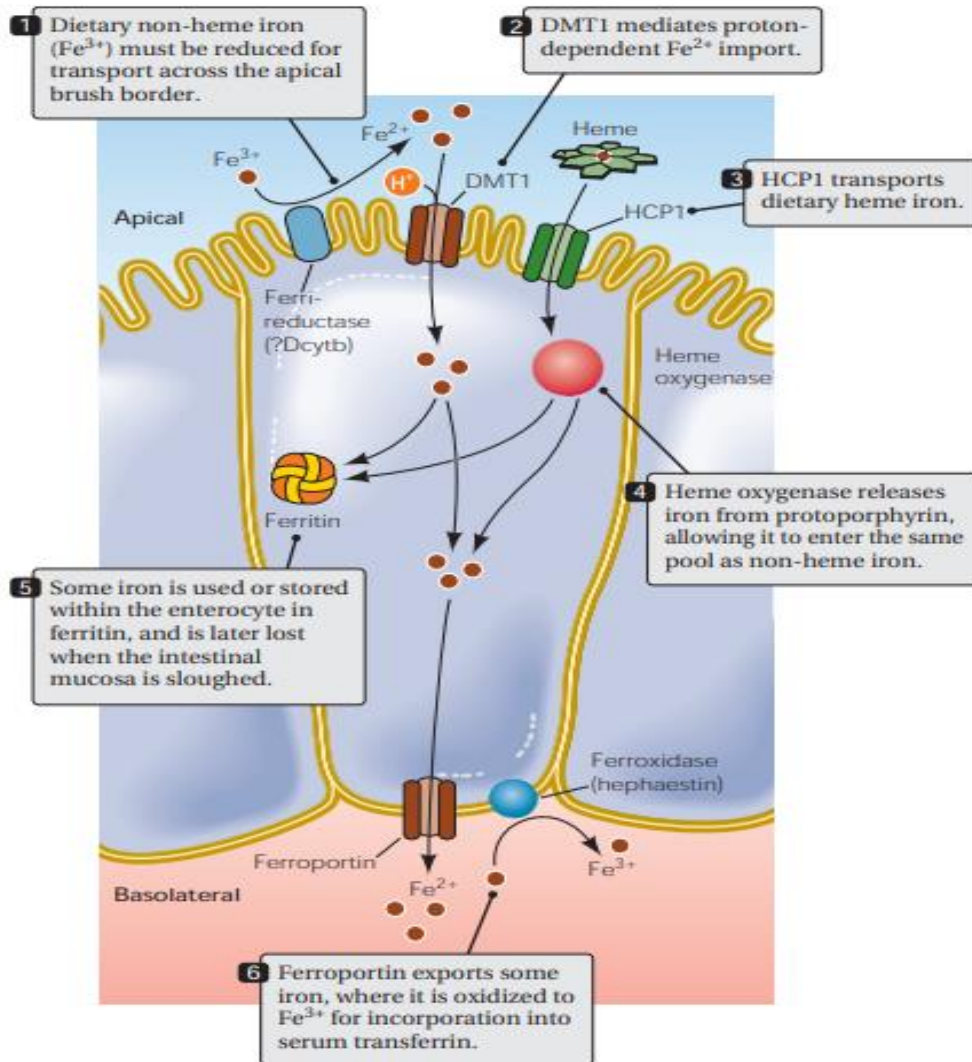
Proses absorpsi zat besi terjadi terutama di usus halus bagian proksimal dan duodenum. Sel-sel yang terlibat dalam proses ini sebagian besar adalah enterosit, sel terpolarisasi dengan sisi apikal menempel dengan lumen usus dan sisi basolateral menempel dengan aliran darah. Zat besi diperoleh melalui dua mekanisme berbeda, yakni :

1. zat besi heme (berasal dari hemoglobin dan degradasi myoglobin dari sumber hewani yang diperkenalkan dengan makanan)

## 2. zat besi non-heme

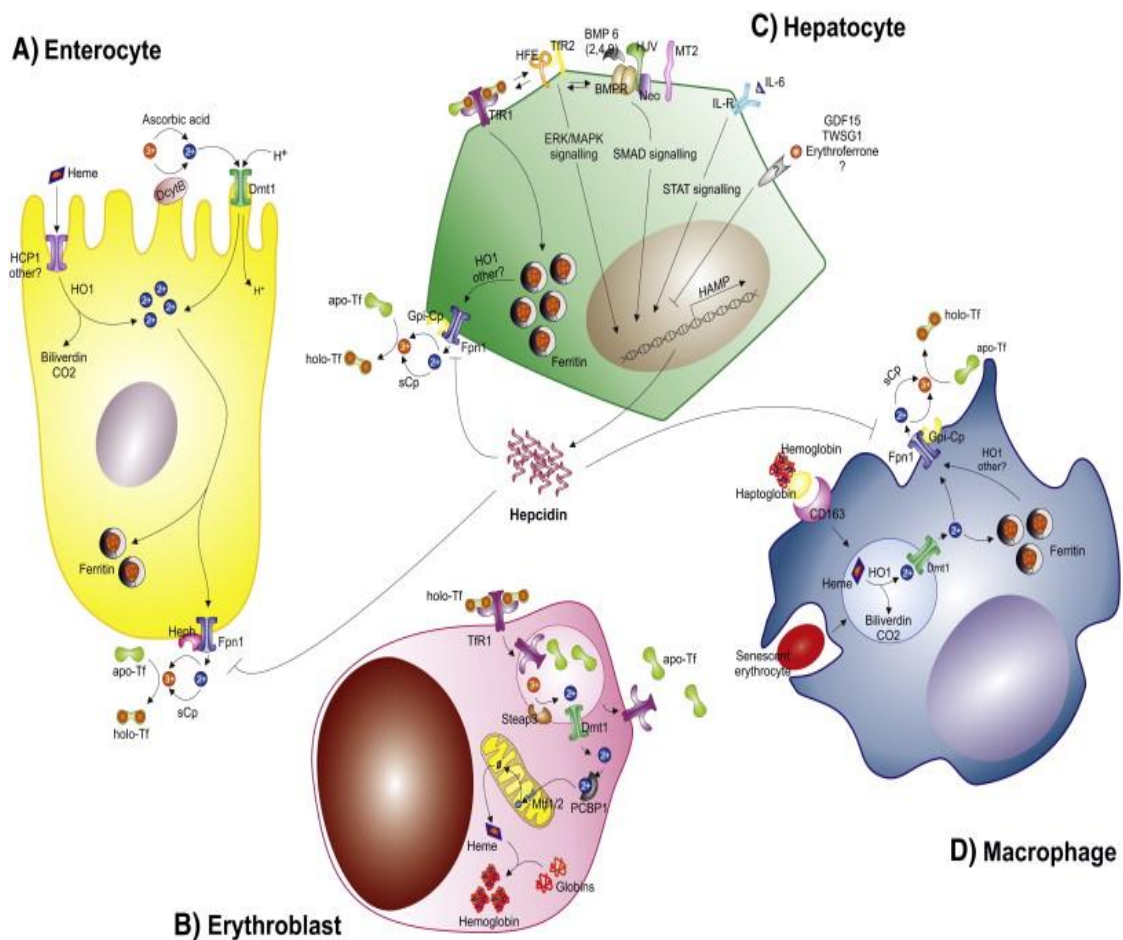
Heme diambil oleh endositosis yang dimediasi reseptor, melalui transporter terlokalisasi pada membran enterosit yaitu HCP1 (*Heme Carrier Protein 1*), heme di dalam endosom terdegradasi oleh hemeoxygenase (HO) dan besi yang dilepaskan masuk ke jalur transportasi dan penyimpanan logam. (Donovan et al, 2006)

Zat besi non heme mudah larut karena lingkungan asam dari lumen lambung dan duodenum dalam bentuk teroksidasi  $Fe^{3+}$ . Besi ion ferri tidak mampu melewati membran sehingga perlu direduksi menjadi  $Fe^{2+}$  dengan bantuan *Doudenal Cytochrome B* (DCytb) adalah ferrireduktase usus pertama merupakan protein dengan enam domain transmembran, diekspresikan di bagian atas villi yang menggunakan askorbat untuk memungkinkan reduksi  $Fe^{3+}$  menjadi  $Fe^{2+}$  yang membutuhkan transporter untuk masuk ke dalam enterosit. Transporter besi adalah pengangkut ion logam divalen 1 (DMT-1) ditandai dengan 12 segmen transmembran dan terlokalisasi pada membran apikal enterosit dan dalam endosom, dimana DMT-1 terlibat dalam masuknya besi yang terikat ke transferrin di dalam sel. Pada kondisi normal DMT-1 diekspresikan pada tingkat rendah, tetapi jika terjadi defisiensi zat besi kadarnya akan meningkat pada enterosit duodenum. Setelah proses internalisasi, besi menjadi bagian dari tempat penyimpanan besi intraseluler penting untuk berbagai fungsi metabolisme. Proses absorpsi zat besi heme dan non heme pada usus tampak pada gambar 5 dibawah ini. (Donovan et al, 2006)



**Keterangan gambar :** Zat besi non-heme yang berupa  $Fe^{3+}$  direduksi oleh DCytb untuk menghasilkan  $Fe^{2+}$ . Besi diangkut melewati bagian apikal oleh DMT1 dimediasi oleh  $Fe^{2+}$  yang bergantung pada proton. Zat besi heme dibawa oleh HCP1 ke dalam sel, di mana heme oxygenase berperan untuk melepaskan zat besi dari protoporphirin sehingga dapat berkumpul dengan besi non heme. Beberapa besi diekspor melintasi basolateral membran oleh ferroportin dan dioksidasi menjadi  $Fe^{3+}$  untuk dimasukkan ke dalam transferin serum.

Gambar 5. Absorpsi zat besi heme dan non heme di usus (Donovan et al, 2006)

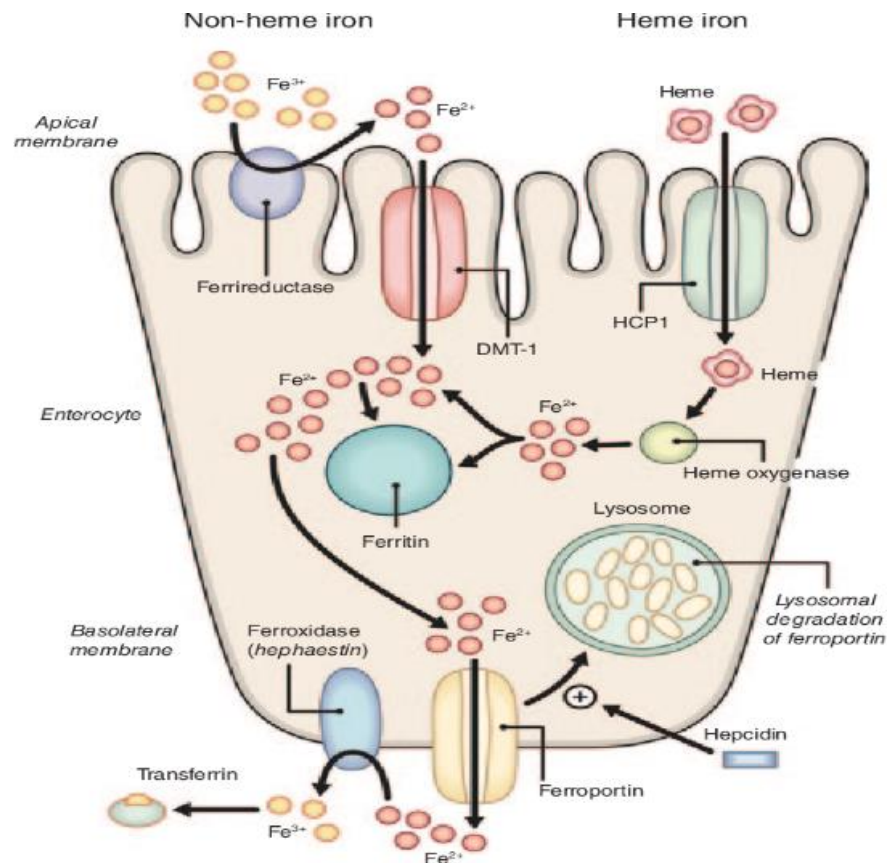


**Keterangan gambar :** **A)** Absorpsi besi heme dan non heme pada enterosit, **B)** Pemakaian besi oleh eritroblas, **C)** Penyimpanan besi di hepatosit, **D)** *Recycle* besi oleh makrofag. Setelah besi direduksi oleh asam askorbat dan Dcytb pada membran enterosit, zat besi kemudian dibawa oleh DMT-1 ke membran basolateral dimana akan dibawa ke sirkulasi oleh ferroportin yang kemudian terikat dengan transferin. Kemudian besi digunakan oleh mitokondria untuk sistesis heme untuk membentuk hemoglobin. Sebagian besi disimpan dalam bentuk ferritin di hepatosit. Eritrosit yang tua akan difagosit oleh makrofag dan dapat digunakan kembali oleh sel. Pengaturan pengeluaran besi dipengaruhi oleh hepsidin, dimana hepsidin ini akan bekerja di ferroportin, jika kadar besi tinggi dalam plasma maka hepsidin akan melakukan internalisasi dan degradasi ferroportin agar dapat mencegah absorpsi dan pengeluaran besi dari hepatosit dan makrofag.

Gambar 6. Regulasi Metabolisme Besi (Silva et al, 2015)

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 membrane 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, 2018)



**Keterangan gambar :** Besi heme ( $Fe^{2+}$ ) segera diabsorpsi masuk ke enterosit melalui DMT 1 (Divalent Metal Transporter-1) yang terdapat pada apeks enterosit. Besi non heme ( $Fe^{3+}$ ) direduksi oleh enzim ferrereduktase menjadi  $Fe^{2+}$  agar dapat melalui DMT 1.  $Fe^{2+}$  keluar dari enterosit menuju plasma melalui gerbang khusus  $Fe^{2+}$  yang disebut ferroportin yang terdapat pada basal enterosit.  $Fe^{2+}$  kemudian dioksidasi menjadi  $Fe^{3+}$  dan diikat oleh transferrin menjadi kompleks ferri-transferin (Fe-TF).

Gambar 7. Mekanisme absorpsi besi melalui enterosit (Andrews NC, 2008)

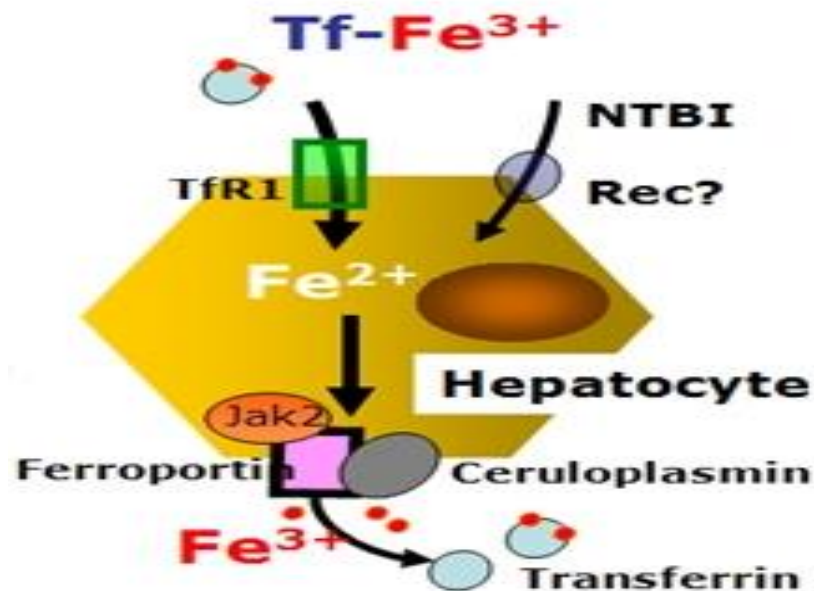
Di dalam sel (endosome) terjadi perubahan pH menjadi asam yang mengakibatkan terlepasnya  $Fe^{2+}$  yang sebagian akan disimpan di dalam sel dalam bentuk ferritin dan sebagian lagi diikat oleh ferroportin (IREG 1 atau MTP 1) keluar sel melalui duodenum. Ion ferro kemudian dioksidasi oleh

ferooksidase Hephaestin (Hp) menjadi ion ferri dan berikatan dengan transferrin (Tf) masuk ke dalam sirkulasi darah. Apotransferin kemudian dilepaskan ke ekstrasel dan berikatan dengan Fe yang lain. Di dalam sirkulasi darah, ikatan Tf-Fe<sup>2+</sup> 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 Kupffer dan sel endotelial. Pada keadaan defisiensi besi maka kadar TfR1 meningkat, sebaliknya pada keadaan kelebihan besi kadar TfR1 berkurang. (Purnamasari, 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 immatur, limpa, paru-paru, otot rangka, dan prostat. Sejumlah kecil TfR2 mRNA juga ditemukan di sel Kupffer dan sel endotelial. TfR2 mRNA terbanyak ditemukan di intraseluler, kadarnya meningkat pada kelebihan besi dan berkurang pada defisiensi besi. (Purnamasari, 2018)

Kompleks Fe<sup>3+</sup>-TfR1 masuk ke dalam sel hepatosit (sel prekursor eritrosit dan sel lainnya), lalu terjadi penurunan pH sehingga Fe<sup>2+</sup> dilepas. Sebagian Fe<sup>2+</sup> akan disimpan dalam bentuk ferritin, sebagian lagi akan dibawa ferroportin 1 keluar sel, dan dioksidasi oleh ferooksidase seruloplasmin (Cp). Ikatan Tf-TfR1 akan dibawa ke permukaan sel dan

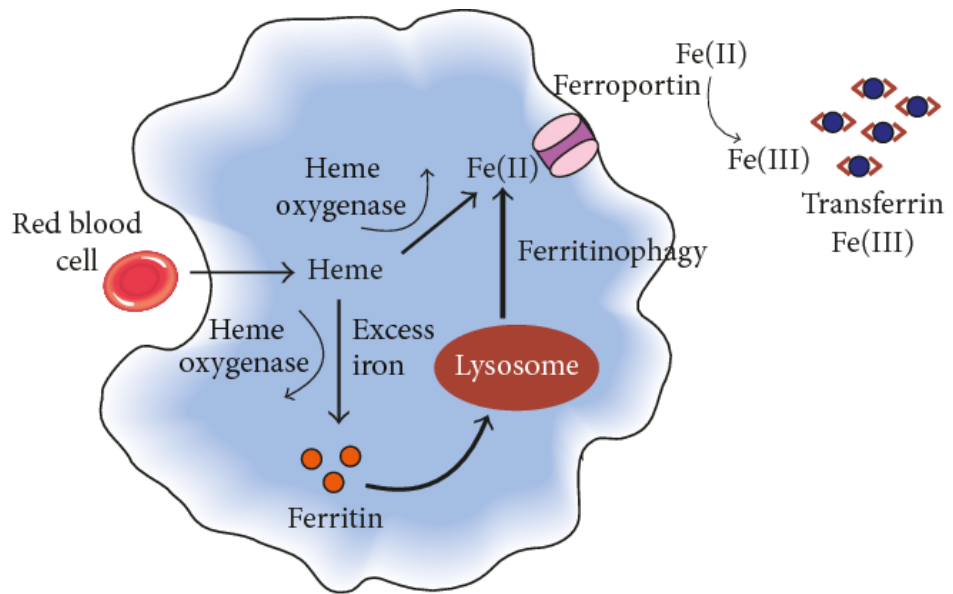
selanjutnya dieksositosis keluar sel menjadi apotransferin dan TfR1.  
(Purnamasari, 2018)



**Keterangan gambar :** Kompleks Tf-Fe<sup>3+</sup>-TfR1 masuk ke dalam sel hepatosit (sel prekursor eritrosit dan sel lainnya), lalu terjadi penurunan pH sehingga Fe<sup>2+</sup> dilepas. Sebagian Fe<sup>2+</sup> akan disimpan dalam bentuk ferritin, sebagian lagi akan dibawa ferroportin 1 keluar sel, dan dioksidasi oleh ferooksidase seruloplasmin (Cp). Ikatan Tf-TfR1 akan dibawa ke permukaan sel dan selanjutnya dieksositosis keluar sel menjadi apotransferin dan TfR1.

Gambar 8. Metabolisme besi di hepatosit (Purnamasari, 2018)

Dalam pembentukan hemoglobin diperlukan besi dalam jumlah yang besar, hal ini terlihat pada tingginya kadar TfR1 pada sel prekursor eritrosit. Pemakaian kembali besi yang berasal dari hemoglobin sangat tinggi. Eritrosit yang tua akan difagosit oleh makrofag retikuloendotelial dan selanjutnya besi akan dibawa keluar dari makrofag oleh ferroportin 1.

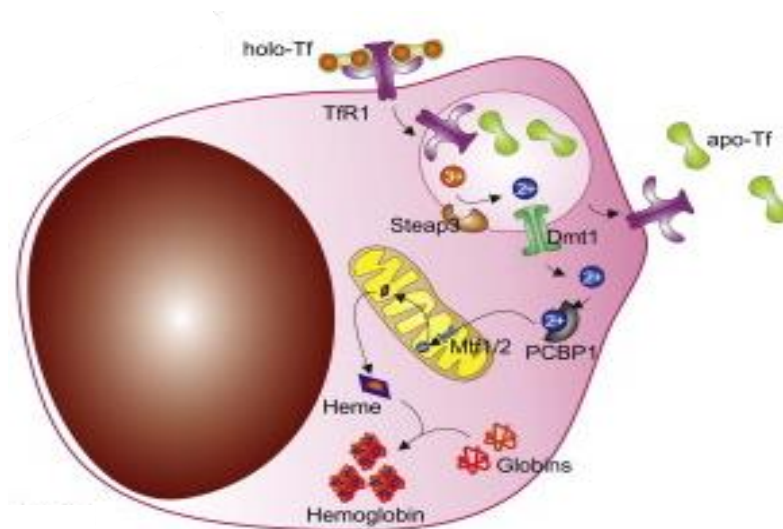


**Keterangan gambar :** Eritrosit difagosit oleh makrofag terutama di spleen. Fe dari eritrosit dapat kembali ke plasma melalui ferroportin pada membran sel makrofag.  $Fe^{2+}$  yang keluar melalui ferroportin kemudian dioksidasi oleh enzim ferro-oksidase pada permukaan sel makrofag menjadi  $Fe^{3+}$  yang akan diikat oleh transferrin.

Gambar 9. Metabolisme besi di makrofag (Andrews NC, 2008)

Didalam tubuh cadangan besi ada 2 bentuk yaitu ferritin dan hemosiderin. Cadangan besi berfungsi mempertahankan homeostasis besi dalam tubuh. Apabila jumlah besi dari makanan tidak mencukupi akan terjadi pemakaian besi yang berasal dari cadangan besi untuk mempertahankan kadar Hb. (Purnamasari, 2018)





**Keterangan gambar :** Sebagian besar Fe-Tf dibawa ke sumsum tulang untuk pembuatan eritrosit. Dua molekul Fe-Tf diikat oleh TFR 1 (transferrin reseptor 1) yang terdapat pada permukaan eritrosit kemudian mengalami internalisasi dalam endosome. Dalam endosome Fe<sup>3+</sup> akan akan terlepas dari transferrin dan direduksi oleh STEAP 3 (suatu ferrireductase) menjadi Fe<sup>2+</sup> yang akan keluar dari endosome melalui ferroportin menuju sitoplasma yang kemudian dibawa oleh mitokondria sebagai bahan baku pembuatan heme

Gambar 10. Metabolisme besi di eritroblast ( Andrews NC, 2008)

### 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 dan sayuran hijau juga banyak mengandung zat besi. (Lestari, L.A dan Helmyati S, 2018).

Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi zat besi dalam makanan, antara lain sebagai berikut: (Purnamasari, 2018)

#### a. Sumber hewani

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

b. Vitamin C

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%.

c. 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.

d. Fosfat

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

e. Fitat dan tannin

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

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

g. 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 kolon. Sedangkan kolon lebih

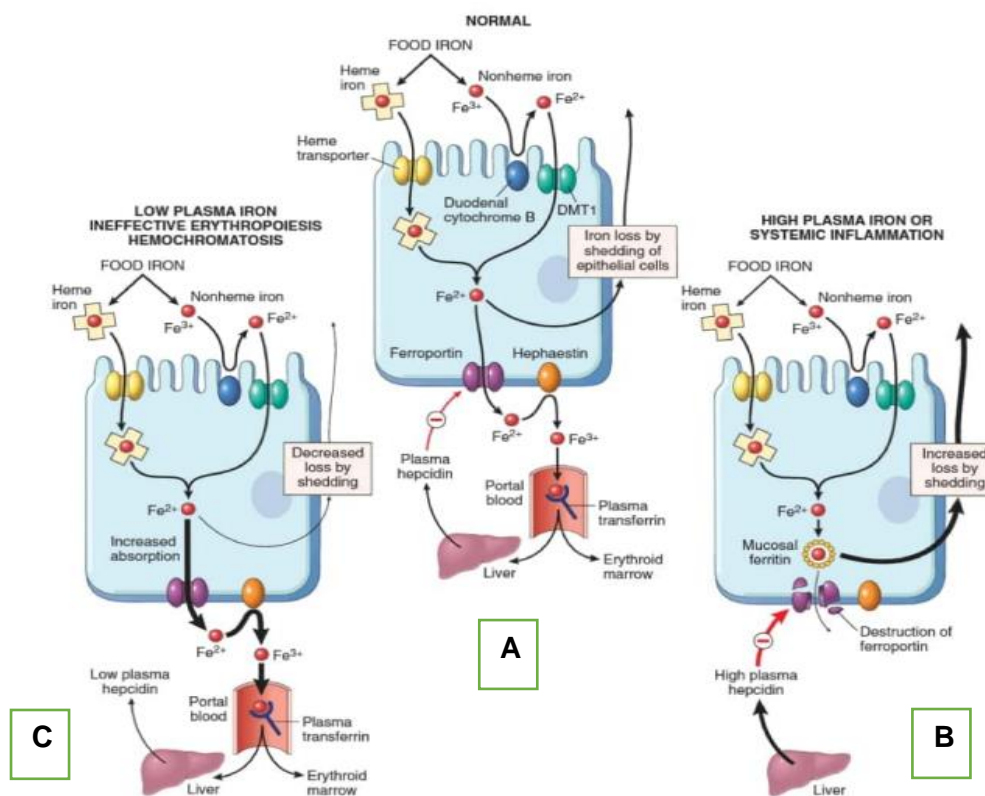
memungkinkan penyerapan zat besi yang lebih banyak dibandingkan ileum distal karena retensi mukosa yang rendah. (D. Bougle', 2002).

### **2.1.6 Peranan Hepsidin Pada Homeostasis Besi**

Homeostasis besi di dalam tubuh dapat tercapai apabila terdapat pengaturan absorpsi, distribusi, penyimpanan, dan daur ulang besi. Salah satu zat terpenting dalam regulasi kadar besi di dalam tubuh adalah hepsidin. Hepsidin adalah hormon yang diproduksi oleh hepar yang mengandung 25 asam amino dan berfungsi sebagai hormon utama dalam mengatur homeostasis besi. Hepsidin disekresi masuk ke sirkulasi dan mengatur penyediaan zat besi melalui kerjanya pada ferroportin, yaitu dengan terikat pada ferroportin di permukaan sel yang akan memicu fosforilasi tirosin, internalisasi ferroportin, baik yang ada dipermukaan enterosit maupun yang terletak pada permukaan makrofag dan hepatosit dan kemudian ferroportin didegradasi. Hal ini dapat menyebabkan terhentinya penyediaan zat besi sehingga terjadi penurunan kadar besi serum. (Rasyid N, 2012)

Hepsidin memiliki mekanisme kerja berlawanan dengan ferroportin yang bertugas sebagai eksportir besi di membran sel makrofag, hepatosit, dan enterosit. Hepsidin dapat merangsang internalisasi dan degradasi ferroportin yang menyebabkan peningkatan penyimpanan besi intraseluler, penurunan absorpsi besi, dan penurunan kadar besi di sirkulasi. Karena peranannya ini, hepsidin juga dianggap sebagai zat yang secara tidak

langsung dapat berperan dalam pertahanan tubuh. Hal ini karena hepsidin dapat mengurangi jumlah besi yang beredar di dalam plasma, sedangkan besi merupakan bahan penting untuk pertumbuhan bakteri. (Rasyid N, 2012)



**Keterangan gambar :** A) Pada kondisi metabolisme besi yang normal, keseimbangan hepsidin plasma di atur oleh down regulasi ferroportin dan membatasi pengambilan besi dari tempat penyimpanan.  
 B) Hepsidin akan meningkat pada kondisi inflamasi atau ketika kadar besi tinggi, sehingga hepsidin akan melakukan proses internalisasi dan degradasi ferroportin yang akan mengunci besi dari hepatosit, enterosit, makrofag sehingga besi tidak akan keluar ke sirkulasi  
 C) Pada kondisi kadar besi rendah, hepsidin tidak akan menempati ferroportin sehingga besi akan keluar ke sirkulasi

Gambar 11. Peranan Hepsidin Pada Homeostasis Besi (Robbins et al, 2019)

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

(Rasyid N, 2012)

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 hepsidin 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 hepsidin. Hepsidin yang di produksi 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 hepsidin. Meningkatnya kadar hepsidin akan menurunkan absorpsi besi.

d) Jalur signal mandatory

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

Beberapa kondisi fisiologis dan patologis dapat mempengaruhi sintesis hepsidin. Situasi yang memerlukan jumlah besi yang besar (misalnya aktivitas eritropoiesis) akan menurunkan sintesis hepsidin. Sedangkan pada kondisi-kondisi seperti kurangnya cadangan besi, peningkatan asupan besi, inflamasi dan infeksi akan meningkatkan sintesis hepsidin. Secara garis besar, dapat disimpulkan bahwa regulator utama hepsidin adalah kadar besi, proses eritropoiesis, hipoksia, dan inflamasi. Regulasi hepsidin oleh kadar besi yang tersimpan di dalam hepar dan besi yang terikat dengan transferin masing-masing dapat memberikan pengaruh terhadap ekspresi hepsidin.

Anemia defisiensi besi bisa disebabkan beberapa faktor eksternal seperti perdarahan, serta penurunan kadar zat besi (nutrisional) dan dalam kaitannya pula hepsidin dan ADB sebuah penelitian oleh Folgueras et al (2008) pada hewan mencit yang mendapatkan bahwa akibat mutasi gen *TMPRSS6* yang berfungsi mengkode *serine protease transmembran matriptase-2* (MT-2) sebagai regulator hepsidin di hepar. Mutasi gen ini menyebabkan ekspresi *hepsidin* berlebihan dan dapat mengakibatkan penurunan kadar besi dan diduga merupakan kelainan bersifat resesif menyebabkan terjadinya anemia defisiensi besi refrakter.

### 2.1.7 Patofisiologi Anemia Defisiensi Besi

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. Pada Tabel 2 dapat dilihat 3 tingkatan defisiensi besi, yaitu: (Purnamasari, 2018)

#### 1. Tahap pertama

Tahap ini disebut *iron depletion* ditandai dengan berkurangnya cadangan besi (ferritin) atau tidak adanya cadangan besi. Hemoglobin dan fungsi protein lainnya masih normal. Pada keadaan ini terjadi peningkatan absorpsi besi non-heme. Serum feritin menurun sementara pemeriksaan lain untuk mengetahui ada kekurangan besi masih normal.

#### 2. Tahap Kedua

Pada tingkat ini yang dikenal dengan istilah *iron deficiency eritropoesis* diperoleh suplai besi yang tidak cukup untuk menunjang eritropoesis. Dari hasil pemeriksaan laboratorium diperoleh nilai serum meningkat dan transfer saturasi menurun sedangkan total kapasitas pengikatan besi (TIBC) meningkat dan *erythrocyte porphyrin* (FEP) meningkat.

#### 3. Tahap ketiga

Tahap ini disebut sebagai anemia defisiensi besi, keadaan ini terjadi saat besi yang menuju eritroid sumsum tulang tidak mencukupi sehingga menyebabkan penurunan kadar Hb. Dari mikrositosis dan

hipokromik yang progresif. Pada tahap ini telah terjadi perubahan epitel pada ADB yang lebih lanjut.

Tabel 2. Tahapan Anemia Defisiensi besi

<b>Hemoglobin</b>	<b>Tahap 1</b>	<b>Tahap 2</b>	<b>Tahap 3 (mikrositik/hipokromik)</b>
Cadangan besi (mg)	<100	0	0
Fe serum (ug/dl)	Normal	<60	<40
TIBC (ug/dl)	360-390	>390	>410
Saturasi transferrin (%)	360-390	<10	<10
Ferritin serum (ug/dl)	360-390	<12	<12
Sideroblas (%)	360-390	<10	<10
FEP (ug/dl)	360-390	>200	>200
MCV	360-390	Menurun	Menurun

Sumber : Purnamasari, 2018

### 2.1.8 Manifestasi Klinis Anemia Defisiensi Besi

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

1) Gejala hematologik

Gejala anemia pada umumnya, seperti pucat, pusing, lemas dan letih.

2) Gejala – gejala non-hematologik:



a. Mata

Konjungtiva anemis, dimana konjungtiva akan tampak pucat.



Gambar 12. Konjungtiva anemis

b. Mulut

Ditandai dengan adanya stomatitis angularis dimana terjadi erosi, kerapuhan, dan bengkak di sudut mulut. Kelainan pada sel epitel ini akibat defisiensi enzim intraseluler.



Gambar 13. *Stomatitis angularis*

c. Lidah

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



Gambar 14. Glossitis

d. Kuku

Kuku berbentuk seperti sendok dan bergaris - garis akibat pertumbuhan lambat dari lapisan kuku.



Gambar 15. Koilonikia (*Spoon nail*)

- e. Perubahan perilaku: anoreksia, mudah marah, cengeng.
- f. Gangguan intelektual : prestasi menurun.
- g. Pika : Keinginan makan yang tidak dapat dikendalikan terhadap bahan non pangan seperti tepung (amilofagia), es (pagofagia), dan tanah liat (geofagia).
- h. Daya tahan tubuh terhadap infeksi menurun, hal ini terjadi karena fungsi leukosit tidak normal. Pada penderita ADB neutrofil

memiliki kemampuan untuk fagosit tetapi kemampuan untuk membunuh *E.coli* dan *S. aureus* menurun.

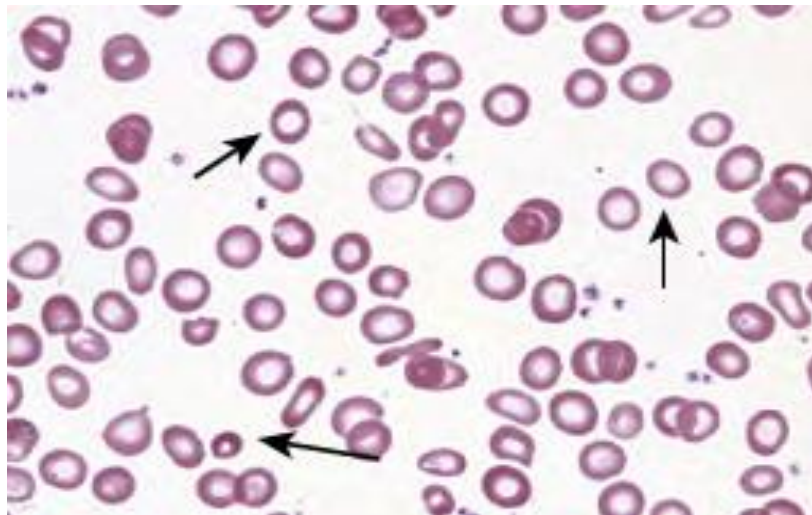
### **2.1.9 Pemeriksaan Laboratorium**

Untuk menegakkan diagnosis ADB diperlukan pemeriksaan laboratorium yang meliputi pemeriksaan darah rutin Hb, leukosit, trombosit, ditambah dengan pemeriksaan indeks eritrosit (MCV, MCH dan MCHC), retikulosit, morfologi darah tepi dan pemeriksaan status besi (Fe serum, TIBC, saturasi transferin dan ferritin). 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 µg/liter

10) FEP (*Free Erythrocyte Protoporphyrin*) > 100 µg/dL



Gambar 16. Mikrositik hipokrom

#### 2.9.1.1 Reticulocyte Hemoglobin Equivalent (Ret-He)

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.

*The American Academy of Pediatrics (AAP)* memberikan rekomendasi diagnosis anemia defisiensi besi pada anak dengan kadar Hb < 11 gr/dl bersama salah satu dari dua kriteria ferritin dan CRP atau Ret-He. Ret He secara langsung mengukur fungsional ketersediaan zat besi di eritrosit dan tidak dipengaruhi oleh inflamasi, keganasan atau anemia penyakit kronik. (Andriastuti et al, 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 eritropoiesis. 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).

CHr dan Ret-He telah banyak digunakan dalam mendeteksi kondisi defisiensi besi, namun belum terdapat standar internasional dari nilai *cut off*-nya. Walaupun terdapat nilai rentang normal CHr dan Ret-He yang telah ditentukan oleh produsen namun banyak studi yang menemukan nilai *cut-off* yang bervariasi (Ucar A et al, 2019).

Studi oleh Brugnara menemukan nilai CHr < 27,2 pg merupakan prediktor defisiensi besi yang signifikan pada bayi, sedangkan pada anak

dipakai nilai <28,4 pg. Sedangkan Ullrich tahun 2005 melakukan skrining defisiensi besi pada bayi yang sehat menemukan nilai CHr sebesar 27,5 pg sebagai nilai *cut-off*. 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.

### 2.1.10 Diagnosis Banding Anemia Defisiensi Besi

Keadaan yang sering memberikan gambaran klinis dan laboratorium yang hampir sama dengan ADB adalah talasemia minor, anemia penyakit kronis, keracunan timbal dan anemia sideroblastik. Untuk membedakannya diperlukan anamnesis, pemeriksaan fisis dan laboratorium.

Tabel 3. Pemeriksaan laboratorium untuk membedakan ADB, Talasemia minor dan anemia penyakit kronis

Pemeriksaan Laboratorium	ADB	Talasemia Minor	Anemia Penyakit Kronis
MCV	↓	↓	N, ↓
Fe Serum	↓	N	↓
TIBC	↑	N	↓
Saturasi Transferin	↓	N	↓
FEB	↑	N	N, ↑
Ferritin Serum	↓	N	↓

Sumber : Buku Ajar Hematologi IDAI, Purnamasari 2018

Pada talasemia minor morfologi darah tepi sama dengan ADB. Salah satu cara untuk membedakan kedua penyakit tersebut adalah dengan melihat jumlah sel darah merah, pada talasemia 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 talasemia minor sedangkan bila  $>13$  merupakan ADB.

Untuk membedakan ADB dan anemia penyakit kronis 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.

Pada keracunan timbal dapat memberikan gambaran darah tepi seperti ADB namun didapatkan adanya *basophilic stippling* kasar yang jelas. Pada keduanya FEP meningkat. Diagnosis ditegakkan dengan memeriksa kadar tembaga dalam darah.

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.

### **2.1.11 Penatalaksanaan Anemia Defisiensi Besi**

Prinsip tata laksana anemia defisiensi besi adalah mengetahui faktor penyebab dan mengatasinya serta memberikan terapi penggantian dengan preparat besi. Preparat besi dapat diberikan melalui oral atau parenteral. 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%, sementara ferro fumarat mengandung 33%, dan ferro glukonat 12% besi elemental. (Gunadi, et al, 2009)

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

1. Terapi kausal: terapi ini diberikan berdasarkan penyebab yang mendasari terjadinya anemia defisiensi besi. Terapi kausal ini harus dilakukan segera kalau tidak, anemia ini dengan mudah akan kambuh lagi atau bahkan pemberian preparat besi tidak akan memberikan hasil yang diinginkan.
2. Terapi dengan preparat besi
3. Terapi lain berupa diet, vitamin A, dan transfusi darah

Tabel 4. Respon tubuh terhadap pemberian besi di ADB

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

Dikutip dari Schwartz, 2000

## **2.2 Probiotik**

### **2.2.1 Definisi**

Probiotik pertama kali diperkenalkan oleh Lilley dan Stillwell pada tahun 1965 yang mendefinisikan probiotik sebagai mikroba yang menstimulasi pertumbuhan mikroba lainnya. Menurut Food and Agriculture Organization (FAO) dan WHO tahun 2001, probiotik adalah mikroorganisme yang hidup dalam tubuh host dengan jumlah yang memadai yang akan memberikan manfaat kesehatan pada *host*.

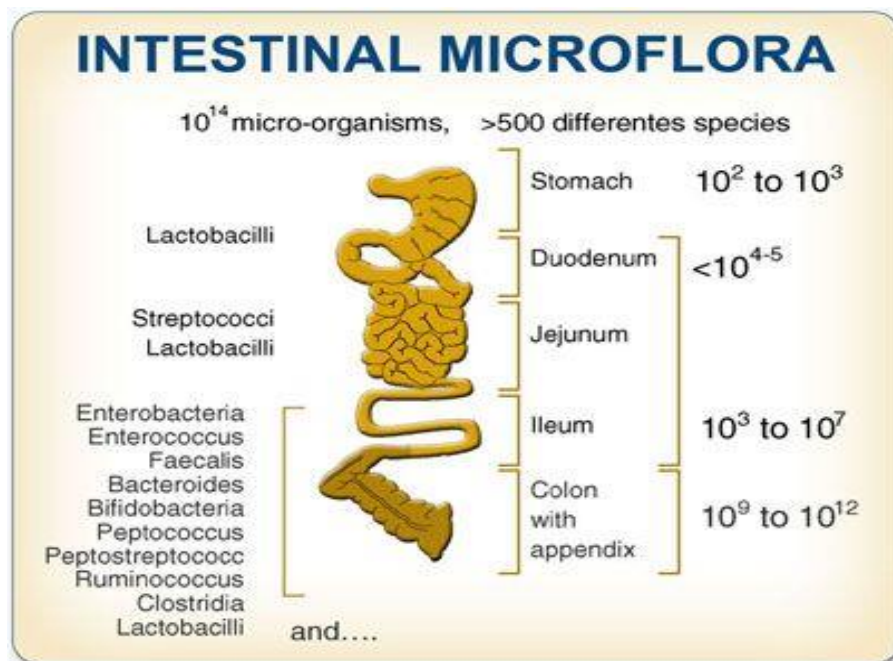
Probiotik adalah mikroorganisme hidup yang diberikan sebagai suplemen makanan yang memberikan pengaruh yang menguntungkan pada host dengan memperbaiki keseimbangan flora usus. Mikroflora yang digolongkan dalam probiotik adalah yang memproduksi asam laktat terutama adalah *Lactobacilli* dan *Bifidobacteria*, walaupun jenis lain juga ada. (Sudarmo, 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, 2018)

### **2.2.2 Kolonisasi 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. Dyah, 2012)



Gambar 17. Mikroflora Usus

Proses kolonisasi saluran pencernaan 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 saluran cerna. 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 saluran cerna 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 ragi aerobik, seperti *Candida albicans*, yang juga termasuk anggota mikrobiota normal. (Kusumo, P. Dyah, 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 ragi dan ragi. Berikut pada tabel 5 memperlihatkan beberapa mikroorganisme probiotik.

Tabel 5. Mikroorganisme Probiotik (Toma M, 2006)

<b><i>Lactobacillus</i> species</b>	<b><i>Bifidobacterium</i> species</b>	<b>Other lactic acid bacteria</b>	<b>Non-lactic acid bacteria</b>
<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>	<b><i>Saccharomyces</i></b>
<i>L. paracasei</i>		<i>thermophilus</i>	<b><i>boulardii</i></b>
<i>L. plantarum</i>			
<i>L. reuteri</i>			
<i>L. rhamnosus</i>			

\*Main application for animal

### 2.2.3. Fungsi Probiotik

Probiotik memiliki beberapa peran, diantaranya: (Guamer F, 2003)

#### 1. Perlindungan

- Memiliki aktivitas antimikroba

Probiotik dapat menurunkan pH luminal, mensekresikan peptide antimikroba, menghambat invasi bakteri, dan menghalangi pelekatan bakteri di sel-sel epitel.

- Penguatan fungsi barrier.

Probiotik dapat meningkatkan produksi mukus dan meninggikan integritas barrier.

- Immunomodulasi

#### 2. Tropik

- Proliferasi dan diferensiasi koloni sel epitel
- Proliferasi limfosit intra epitel

#### 3. Metabolisme

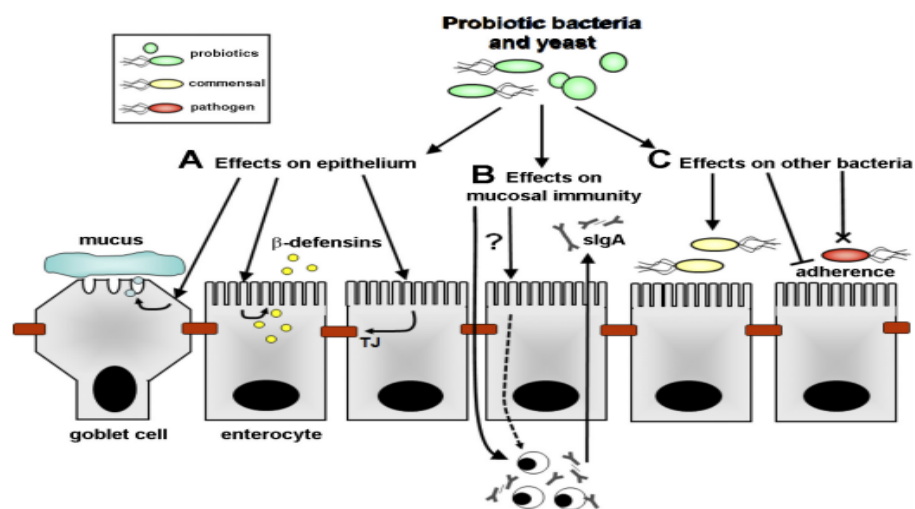
- Fermentasi SCFA dan hasil akhir lainnya
- Mengurangi penggunaan energi
- Sintesis vitamin
- Absorpsi mineral

## 2.2.4 Mekanisme Kerja Probiotik

Mekanisme kerja probiotik antara lain: (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 IgA, dan *tight junction* epitel. 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 *tight junction* pada *zonula ocludens* (ZO-2) dan protein kinase C (PKC) yang akan menghasilkan rekonstruksi kompleks *tight junction*. (Sudarmo, S.M., 2018)



**Keterangan gambar:** **A:** efek langsung pada epitel. Probiotik dapat meningkatkan ekspresi dan sekresi musin oleh sel goblet, sehingga membatasi pergerakan bakteri melintasi lapisan mukosa. Augmentasi ekspresi defensin dan sekresi ke dalam mukus oleh sel epitel dapat mencegah proliferasi komensal dan patogen, sehingga juga berkontribusi pada integritas penghalang. Akhirnya, probiotik dapat meningkatkan stabilitas persimpangan ketat, yang menurunkan permeabilitas epitel terhadap patogen dan produknya. **B:** efek pada kekebalan mukosa. Probiotik dapat meningkatkan kadar sel penghasil IgA di lamina propria dan meningkatkan sekresi IgA sekretori (sIgA) ke dalam lapisan mukosa luminal. Antibodi ini membatasi kolonisasi epitel dengan mengikat bakteri dan antigenya, sehingga berkontribusi pada homeostasis usus. **C:** efek pada bakteri di sekitarnya atau yang menginfeksi. Probiotik dapat mengubah komposisi mikrobiota dan / atau ekspresi gen, yang menyebabkan peningkatan penghalang secara tidak langsung melalui bakteri komensal. Selain itu, beberapa probiotik dapat langsung membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri patogen melalui ekspresi faktor antimikroba seperti bakteriosin. Probiotik juga dapat bersaing dengan patogen atau komensal untuk tempat pengikatan pada musin atau sel epitel, sehingga mencegah kolonisasi yang merugikan dan berkontribusi pada fungsi penghalang.

Gambar 18. Efek probiotik pada epitel (Ohland C, 2010)

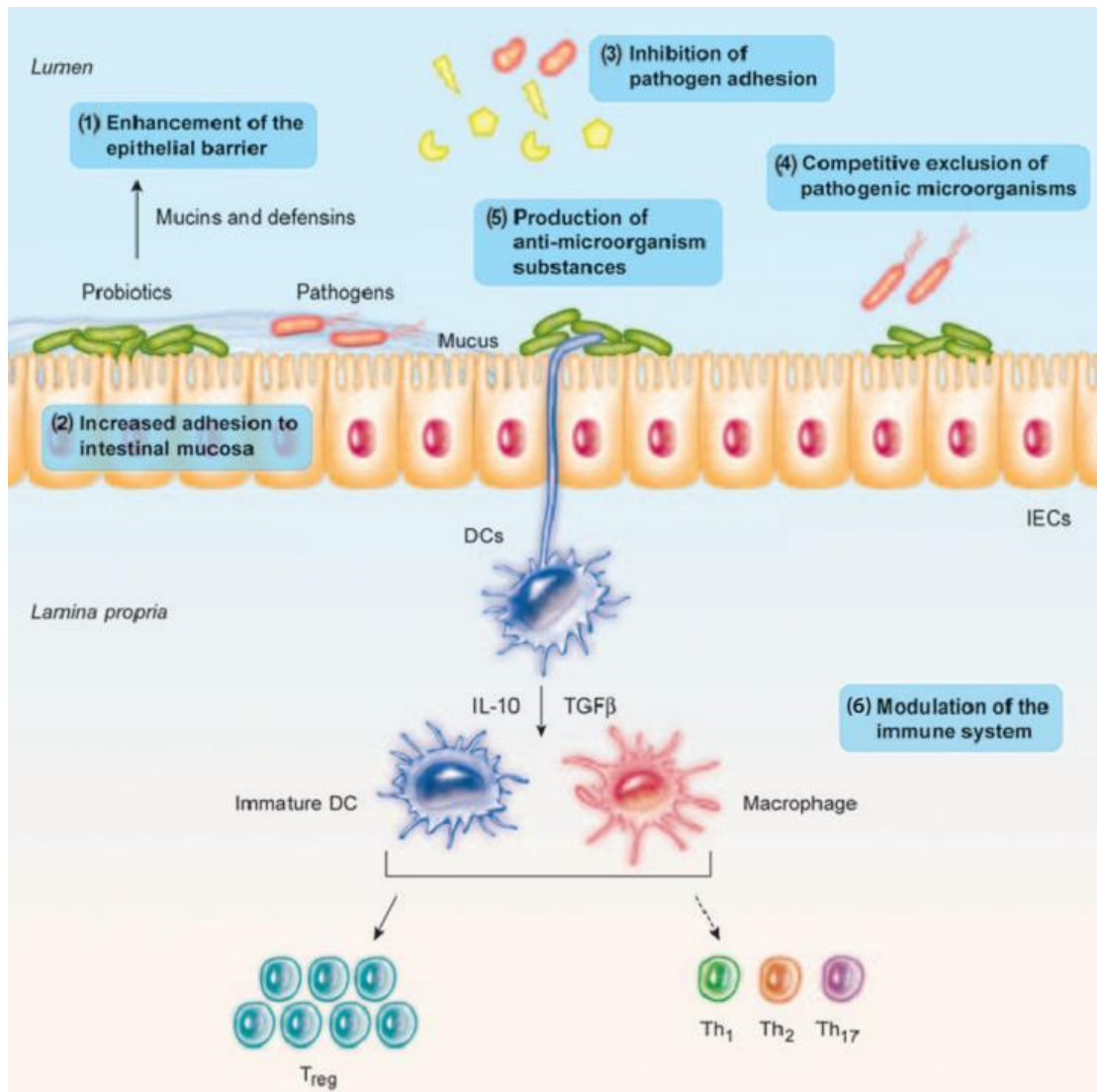
## 2. Peningkatan adhesi ke mukosa usus

Adhesi ke mukosa usus dianggap sebagai persyaratan untuk kolonisasi dan penting untuk interaksi antara probiotik dan host. Adhesi probiotik terhadap mukosa usus penting untuk memodulasi sistem imun dan antagonisme terhadap patogen.

## 3. Menghambat adhesi bakteri pathogen

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.





Gambar 19. Mekanisme kerja probiotik. (Brito, M.B, et al, 2012)

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  $\alpha$ -*defensin* dan  $\beta$ -*defensin*, *cathelicidins*, *C-type lectins*

dan ribonuklease. AMP merupakan enzim yang akan membunuh bakteri dengan menyerang struktur dinding sel maupun membran sel bakteri.

#### 4. 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.

#### 5. 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.

#### 6. 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.

#### **2.2.5. 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 dkk., 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 L. 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 dkk., 2000).

#### **2.2.6. Dosis Probiotik**

Probiotik alami seperti *Lactobacillus acidophyllus*, *Bifidobacterium longum* dan *Streptococcus faecium* mengandung  $1 \times 10^9$  cfu dalam setiap gram. Dalam jumlah tertentu ( $10^7 - 10^{11}$ ) koloni, probiotik dapat melekatkan diri pada mukosa usus (enterosit/kolonosit). Enterosit yang telah jenuh dengan probiotik tidak dapat lagi mengadakan adhesi dengan bakteri

patogen. Dalam jumlah tersebut probiotik tidak terbawa oleh arus peristaltik, tidak dipengaruhi asam lambung dan asam empedu. Kolonisasi probiotik menetap selama masukan oral, berkurang atau menghilang dalam waktu satu minggu setelah pemberian dihentikan. Dalam jumlah tersebut probiotik melakukan fermentasi *oligosaccharides* membentuk *short chain fatty acids* (SCFA) (Abbas, 2003).

Sediaan murni probiotik dapat berupa tablet, kapsul, dan granula. Tiap gram multi strain probiotik mengandung bakteri asam laktat  $1 \times 10^9$  cfu/gram yang terdiri dari *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium longum*, dan *Streptococcus faecium*. Probiotik ini diproduksi dengan teknik penyalutan protein, sehingga meningkatkan stabilitas dan ketahanan bakteri asam laktat terhadap asam lambung dan sekresi empedu, sehingga dapat mencakupi kolon dalam keadaan hidup dan jumlah yang cukup tanpa kehilangan aktivitasnya. (Suryono, 2002)

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 kolon dengan melekatkan diri pada mukosa usus. (Sudarmo, 2018)

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 *saccharomyces boulardii* pada anak berdasarkan *World Gastroenterology Organisation Global Guidelines* tentang dosis pemberian probiotik dan prebiotik tergantung pada penyakit yang diderita. Dosis probiotik *saccharomyces 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 dalam 2 dosis, 2 – 4 minggu). (*World Gastroenterology Organisation, 2017*)

Tabel 6. Beberapa Deskripsi Produk *S. boulardii* di Eropa dan Amerika (McFarland, L.V., 2017)

Strains of Sb	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; $5 \times 10^9$	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; $1.5 \times 10^9$	"Keep refrigerated"	Case report only; Ooi et al. [20]
<i>S. boulardii</i>	Klaire Lab Reno NV	150 mg; $3 \times 10^9$	No claims	No original studies
<i>S. boulardii</i> CNCM I-1079	Pure Encapsulations, Inc. Sudbury, MA and Lallemand, Canada	mg nr; $1.4 \times 10^{10}$	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, $8 \times 10^9$	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.

Penelitian yang dilakukan oleh Korcok et al 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/g memberikan efek positif terhadap absorpsi besi di usus. (Sunberg, Maria, 2011)

### **2.2.7. 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 dan 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.

### **2.2.8. *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacterium***

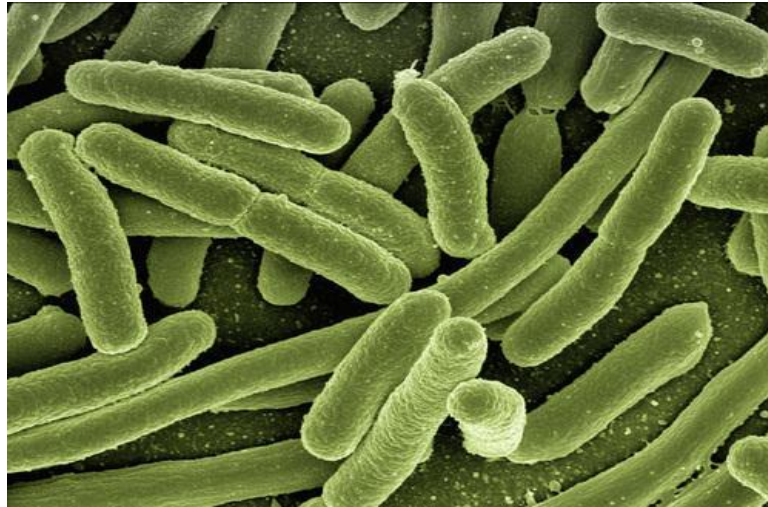
*Lactobacillus acidophilus* adalah salah satu dari delapan genera umum dari bakteri asam laktat, berbentuk kokus atau batang, bersifat non motil, dan non spora yang memproduksi asam laktat sebagai produk utama dari metabolisme fermentasi dan menggunakan laktosa sebagai sumber karbon utama dalam memproduksi energi. (Anugroho, 2014)

*Lactobacillus acidophilus* dapat tumbuh baik dengan oksigen ataupun tanpa oksigen, dan bakteri ini dapat hidup pada



lingkungan yang sangat asam sekalipun, seperti pada pH 4 - 5 atau dibawahnya dan bakteri ini merupakan bakteri homofermentatif yaitu bakteri yang memproduksi asam laktat sebagai satu-satunya produk akhir. (Anugroho, 2014)

*Lactobacillus* telah lama dikenal sebagai flora normal yang berfungsi sebagai agen probiotik yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri penyebab infeksi seperti diare. *Lactobacillus* dapat berfungsi untuk kekebalan tubuh karena bakteri ini mampu merangsang pembentukan antibodi yang mencegah kelebihan pertumbuhan bakteri berbahaya, mencegah timbulnya infeksi saluran kemih, meningkatkan perlindungan terhadap bakteri patogen dan virus, memulihkan keseimbangan usus setelah pemberian antibiotik, kemoterapi, mencegah pembentukan gas akibat pembusukan. Peningkatan daya tahan tubuh oleh *Lactobacillus* berhubungan dengan tingkat IgA. Bakteri probiotik juga menstimulasi produksi sitokin dalam darah dan meningkatkan aktivitas makrofag. (Anugroho, 2014)



Gambar 20. *Lactobacillus acidophilus*

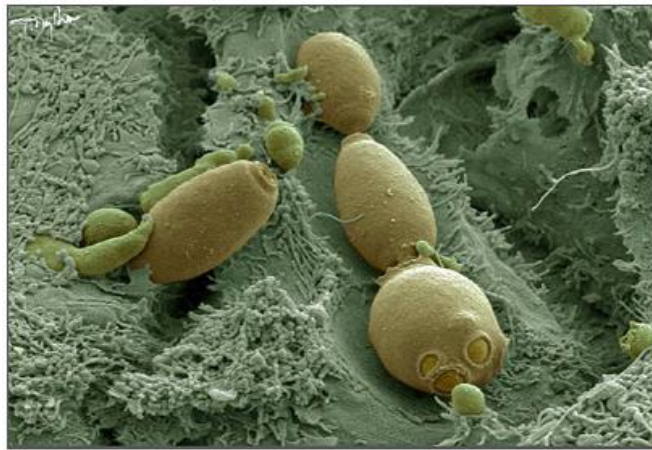
*Bifidobacterium sp* adalah bakteri gram-positif, berkatalase-negatif. Bakteri ini merupakan salah satu dari 32 spesies yang termasuk dalam genus *Bifidobacterium*. Bakteri ini berbentuk batang dan hidup dalam saluran pencernaan manusia.

Bakteri ini adalah anaerob mikroaerotoleran dan dianggap sebagai salah satu koloni paling awal pada saluran pencernaan manusia pada masih saat bayi dan memproduksi asam laktat yang dapat mencegah pertumbuhan organisme patogen.

### **2.2.9 *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)

*Saccharomyces boulardii* dapat tumbuh pada suhu optimal 37 °C. *Saccharomyces boulardii* merupakan probiotik yang unik karena dapat tahan pada asam lambung dan tidak mempengaruhi kerja antibiotik, serta tidak mengganggu mikrobiota normal di dalam usus. (Tomicic, Zorica M et al, 2016)

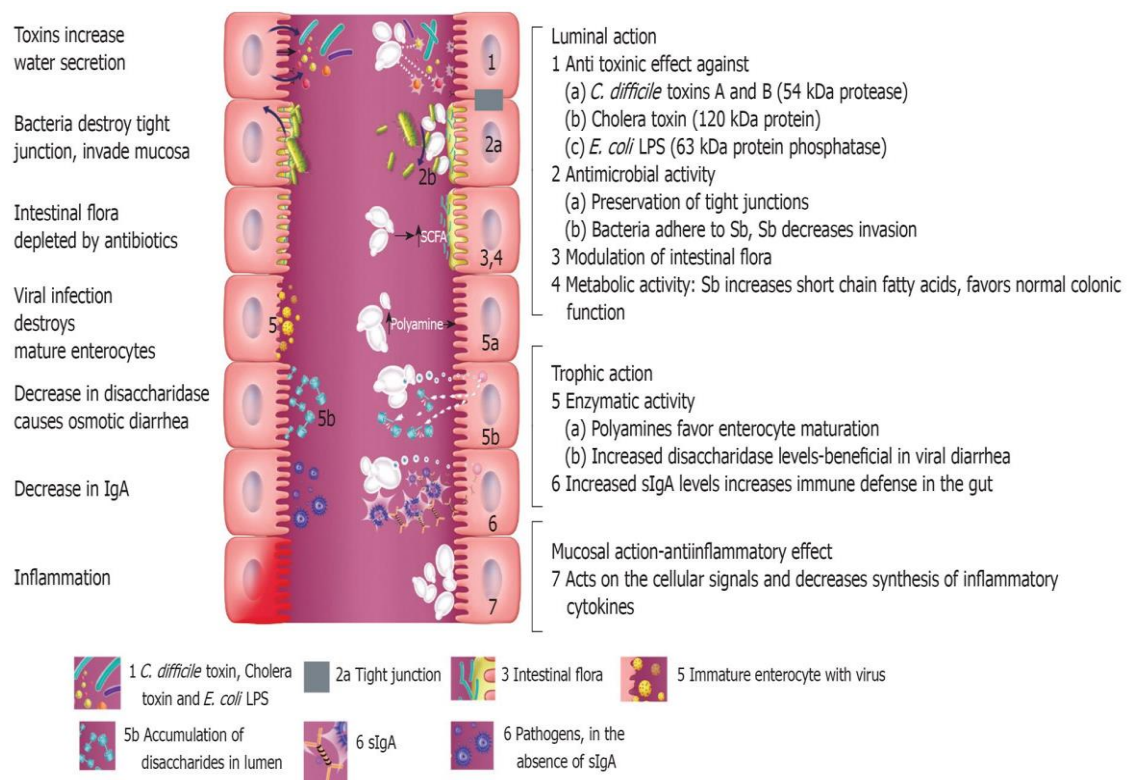


Gambar 21. Mikrografi electron *S. Boulardii*

#### **2.2.9.1 Mekanisme Kerja Probiotik *Saccharomyces Boulardii***

Probiotik memiliki beberapa peran, diantaranya: memiliki aktivitas antimikroba, penguatan fungsi barrier, dan imunomodulasi. Berdasarkan perannya yang memiliki aktivitas antimikroba, probiotik dapat menurunkan pH luminal, mensekresikan peptide antimikroba, menghambat invasi bakteri, dan menghalangi pelekatan bakteri di sel-sel epitel. Dalam hal penguatan fungsi barrier, probiotik dapat meningkatkan produksi mucus dan meninggikan integritas barrier. (Anugroho, 2014)

Respon imun sistemik diinduksi oleh mikroba probiotik setelah berinteraksi dengan sel imun pada plak peyer. Pada plak peyer, probiotik atau fragmennya diinternalisasi oleh sel M atau jalur paraseluler melalui *follicle associated epithelial cell* pada plak Payer. 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 dari sel B IgM ke IgA. (Gadeano, 2007)



Gambar 22. Mekanisme kerja *S. Boulardii*

*Secretory immunoglobulin A* (sIgA) merupakan basis pertahanan pertama di dalam usus untuk melawan pathogen yang ada. (Stier, H, 2016)

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

Tabel 7. Perbandingan Mekanisme kerja probiotik bakteri dibandingkan *S. boulardii*. (Ohland and MacNaughton, 2010)

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

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)

Pada awal tahun 1986, Caetano dkk menemukan peran *S. boulardii* dalam menginduksi sistem imun seluler dan humoral yang terlibat selama fase akut melawan pathogen. Mereka mengobservasi 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  $\beta$ -Glucan yang dianggap sebagai faktor imunomodulasi yang menstimulus sistem imun. Senyawa ini berbentuk kecil, mudah diserap, dan tahan panas. Fraksi  $\beta$ -Glucan ragi diidentifikasi sebagai imunomodulator.  $\beta$ -Glucan ditemukan sel semua fungi, termasuk *S. boulardii*.  $\beta$ -Glucan adalah molekul mikroba yang berhubungan dengan reseptor penting seperti reseptor dectin-1,

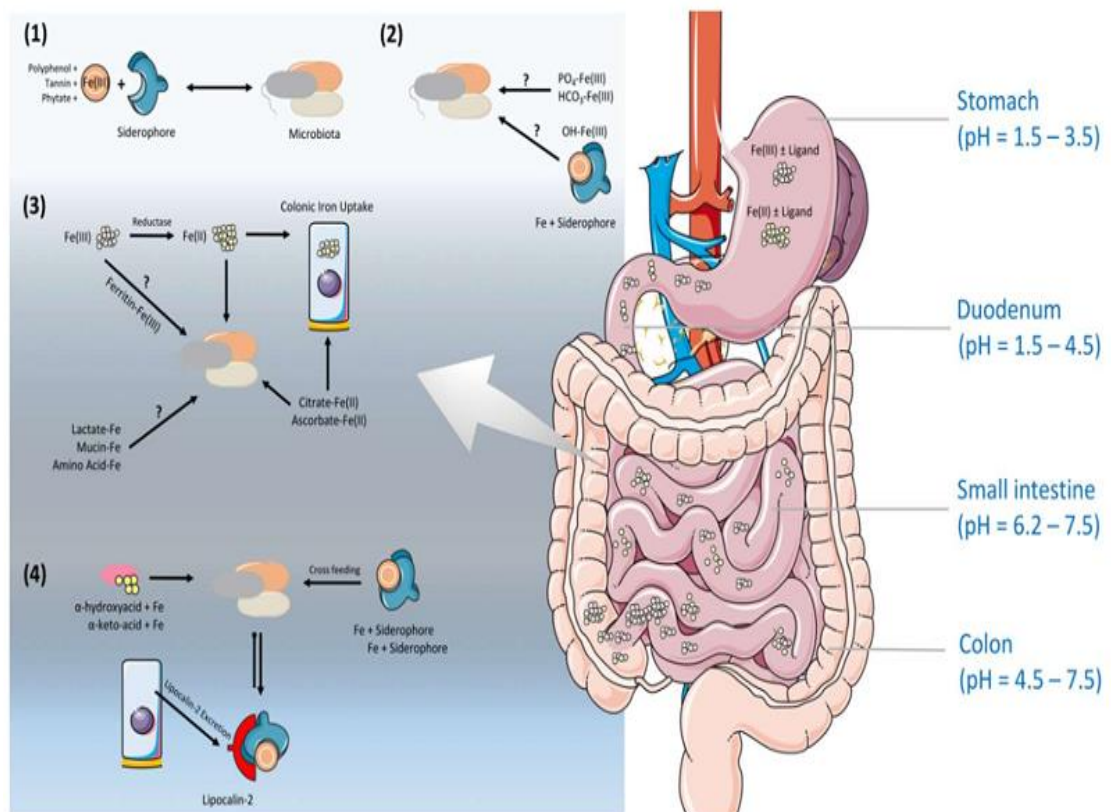
reseptor komplemen 3, dan *Toll Like Receptor* (TLR), yang menginduksi sel imun seperti monosit, makrofag, *Dendritic Cells* (DCs), dan juga *intestinal epithelial cells* (IECs). (Stier, H, 2016)

### **2.2.10 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 dengan ligan maupun tanpa ligan. 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 kolon turun akibat produksi laktat dan *short chain fatty acid* oleh mikrobiota usus.

Pada lumen kolon (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 mengurangi 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 kolon. (Yilmaz, Bahtiyar; Li, Hai, 2018)

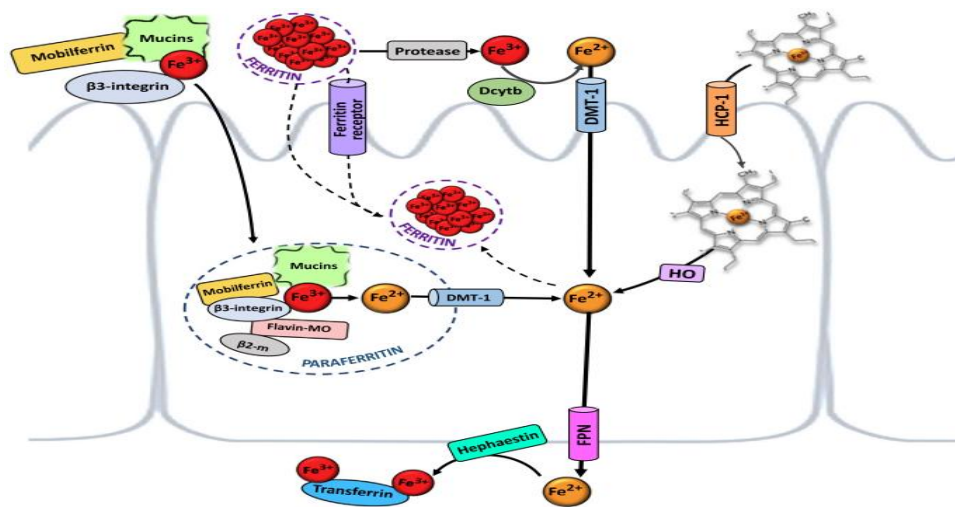


Gambar 23. Mekanisme Regulasi Besi di Lumen Usus Besar

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, Chi Kong, 2005) dan (Matur, Eraslan, 2014)



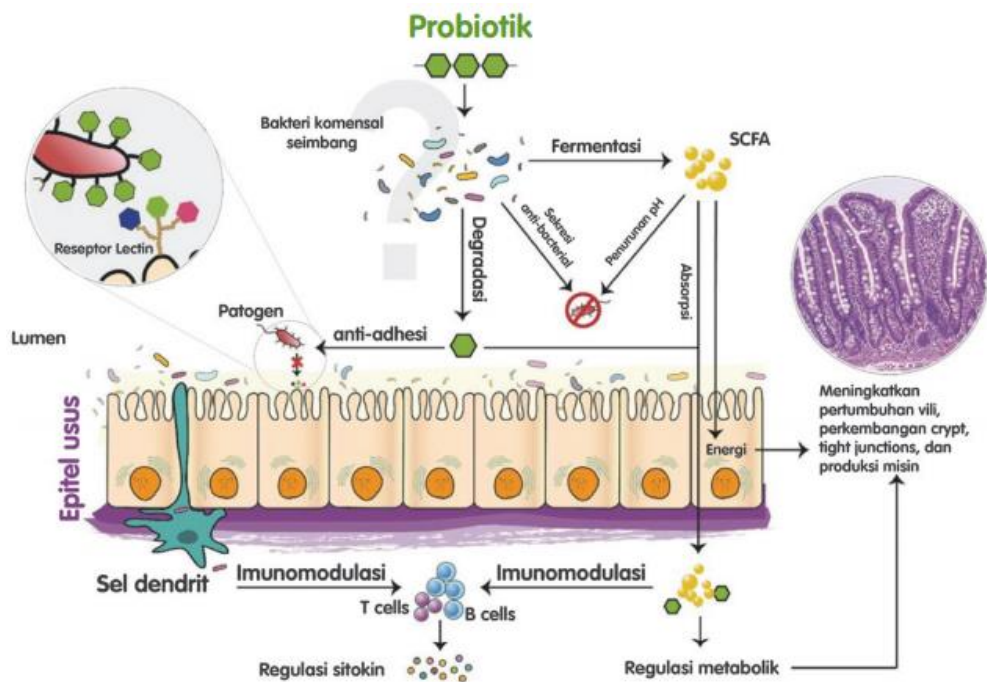
- 1) Produksi asam organik yang difermentasi oleh probiotik pada kolon dapat menurunkan pH luminal dan meningkatkan solubilitas besi dengan mereduksi besi ferri menjadi besi ferro sehingga lebih mudah absorpsi.
- 2) Dapat mensekresi mukus dari sel goblet yang merupakan salah satu faktor pendukung barrier intestinal sehingga mencegah invasi kuman patogen dalam saluran cerna dan memperkuat integritas tight junction sehingga meningkatkan absorpsi zat besi.
- 3) Dapat mempengaruhi protein mineral transpor di brush border (DMT- 1) epitel intestinal yang membawa besi melewati barrier mukosa.



Gambar 24. Mekanisme absorpsi besi pada enterosit duodenum (Rojo R et al, 2018)

- 4) Produk fermentasi probiotik seperti *short-chain fatty acid* (SCFA) akan meningkatkan proses proliferasi epitel enterosit sehingga mempengaruhi morfologi dan fisiologi mukosa epitel saluran cerna usus dengan

memperlebar dan memperdalam villi dan kripta usus sehingga akan meningkatkan absorpsi zat besi.



Gambar 25. Probiotik dimetabolisme oleh mikrobiota komensal usus  
(Pourabedin & Zhao 2015)

- 5) Dapat menurunkan sitokin proinflamasi (interleukin 6, interleukin 12, interleukin 17 dan TNF- $\alpha$ ) dan meningkatkan sitokin anti inflamasi (interleukin 10) sehingga produksi hepsidin akan menurun dan proses absorpsi besi akan meningkat.
- 6) Menurunkan proses apoptosis pada enterosit sehingga meningkatkan absorpsi besi
- 7) Bersama vitamin c akan membuat kompleks asam askorbat yang akan mereduksi ion ferro menjadi ion ferri sehingga mudah di absorpsi.

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)

Penelitian yang dilakukan silva et al pada 190 anak usia 2 – 5 tahun yang diberikan suplementasi besi dan *Lactobacillus acidophilus* dengan hasil tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol dan grup yang diberi intervensi dalam kadar Hb dan kadar ferritin, hanya terdapat perbedaan signifikan pada MCHC diantara kedua kelompok.

Penelitian yang dilakukan juga oleh skyripnik et al pada hewan coba tikus yang diberikan multispecies probiotik dengan hasil terdapat perbedaan signifikan kenaikan kadar hemoglobin antara kelompok yang diberikan probiotik dengan kelompok kontrol.

Penelitian yang dilakukan oleh Yaghchi dkk 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, S. Sadat, dkk, 2018)

Berikut metaanalisis beberapa penelitian mengenai efek probiotik terhadap kadar besi : (Vonderheid et al, 2019)

Tabel 8. Metaanalisis beberapa penelitian efek probiotik

Study/Year	Subjects	Baseline Iron Status	Design/Blinding	Study Groups or Product	Iron Compound	Intervention Delivery Method, Frequency and Duration	Effect on Iron Status or Iron Absorption	Included in Meta-Analysis
<b>RCTs and Nonrandomized Clinical Trials</b>								
Agustina et al., 2013 [21]	Indonesia N = 494 Children Age: 1-6 Healthy Non-breastfed	IDA n (%) Group 1: 12 (10) Group 2: 17 (14) Group 3: 13 (11) Group 4: 14 (11)	RCT double-blinded	Group 1: Placebo-Low calcium, ~50 mg/d Group 2: Placebo-Regular calcium, ~440 mg/d Group 3: <i>L. casei</i> 431 1: $5 \times 10^8$ CFU/d plus regular calcium Group 4: <i>L. reuteri</i> 17,938 $5 \times 10^8$ CFU/d plus regular calcium	Not reported	180 mL low-lactose milk and coated straws Twice daily across 6 months	↔ Hb ↔ Hct ↔ serum ferritin ↔ sTfR	No
Asemi et al., 2013 [11]	Iran N = 70 Pregnant, third trimester Age: 18-30	Iron (mg/dL) Group 1: $124 \pm 88.3$ Group 2: $118 \pm 61.8$	RCT single-blinded	Group 1: Placebo Group 2: <i>L. acidophilus</i> $1 \times 10^7$ CFU, <i>B. lactis</i> $1 \times 10^7$ CFU	Not reported	200 g yogurt Daily across 9 weeks	↔ serum iron	No
Asemi et al., 2015 [25]	Iran N = 58 Diabetic patients, not pregnant Age: $52.1 \pm 6.9$ (Group 1) $49.6 \pm 9.9$ (Group 2) Female % not reported	Iron (mg/dL) Group 1: $66.1 \pm 33$ Group 2: $69.5 \pm 62.9$	RCT double-blinded	Group 1: Placebo Group 2: <i>L. acidophilus</i> $2 \times 10^9$ CFU, <i>L. casei</i> $7 \times 10^9$ CFU, <i>L. bulgaricus</i> $2 \times 10^8$ CFU, <i>B. breve</i> $2 \times 10^8$ CFU, <i>B. longum</i> $7 \times 10^9$ CFU, <i>S. thermophilus</i> $1.5 \times 10^9$ CFU	Not reported	Capsule Daily across 8 weeks	↔ serum iron	No
Endo et al., 2011 [22]	Japan N = 25 Female 28% Age: $70.3 \pm 6.2$ (Group 1) $73.9 \pm 8.5$ (Group 2) Unexplained IDA on chronic low-dose aspirin	Hb (g/dl) Group 1: $10.9 \pm 1.7$ Group 2: $10.2 \pm 2$	RCT single-blinded	Group 1: No placebo Group 2: <i>L. casei</i> $45 \times 10^8$ - $63 \times 10$ CFU	Not reported	Powder Daily for 3 months	↔ Hb (between groups) ↑ Hb (within <i>L. casei</i> group)	No

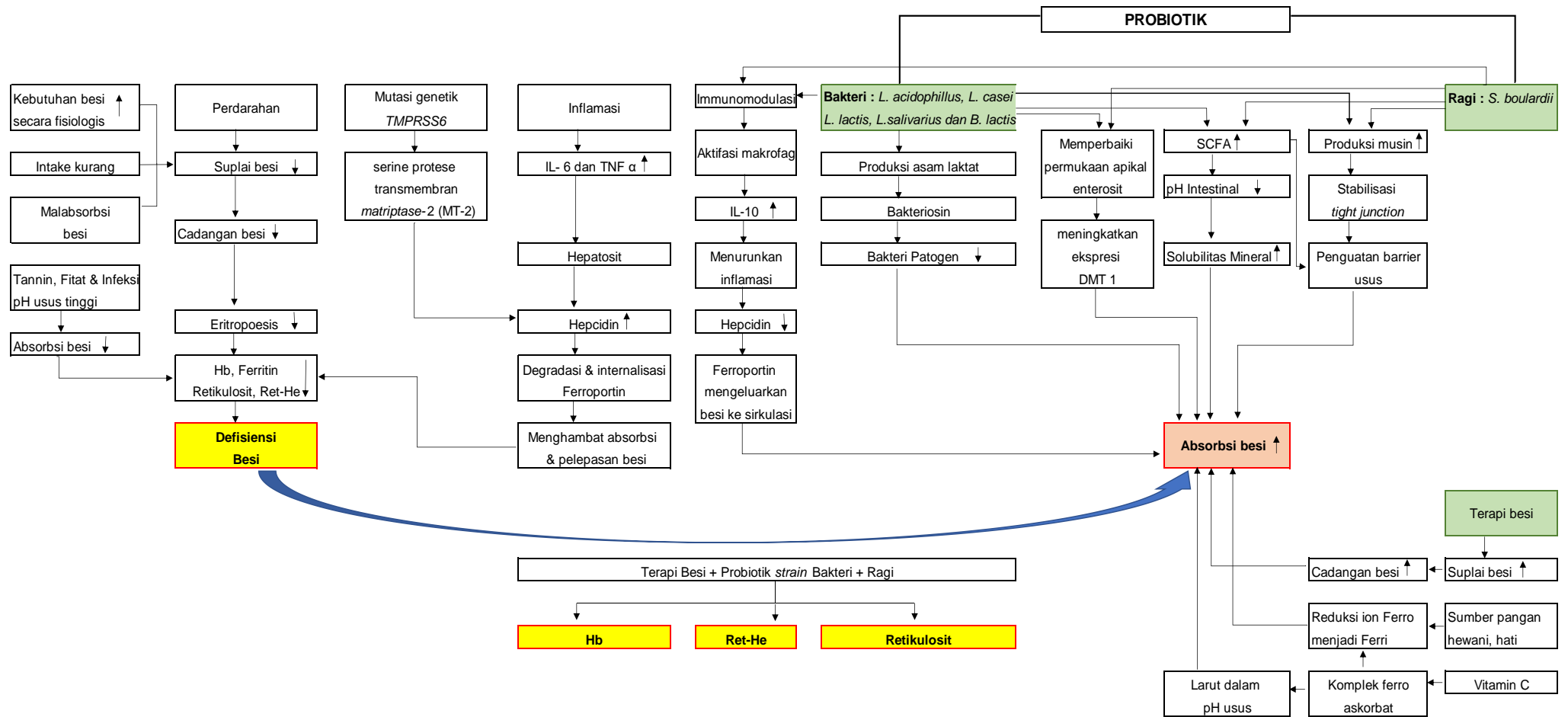
Study/Year	Subjects	Baseline Iron Status	Design/Blinding	Study Groups or Product	Iron Compound	Intervention Delivery Method, Frequency and Duration	Effect on Iron Status or Iron Absorption	Included in Meta-Analysis
<b>RCTs and Nonrandomized Clinical Trials</b>								
Korcok et al., 2018 [23]	Serbia N = 20 Female 100% Healthy	Not reported	Two group comparison	Group 1: Placebo Group 2: <i>L. plantarum</i> 299v 1.1 × 10 <sup>9</sup> CFU	Sucrosomal iron 10 mg	Capsule plus supplemental iron and 15 mg vitamin C 7 consecutive mornings Empty stomach	↑ serum iron ↔ serum ferritin ↔ TIBC ↔ Hb	No
Rosen et al., 2019 [29]	United States N = 52 Children with mild iron deficiency (ferritin < 50 ng/mL), and insomnia or restless sleep, 58% had psychiatric and/or mental health diagnosis Age: 5–18	Not reported	RCT Double-blinded	Group 1: placebo Group 2: <i>L. plantarum</i> 299v 1.7 × 10 <sup>10</sup> CFU	Ferrous sulphate 325 mg or ferrous sulphate 15 mg elemental iron/mL (if children < 20 kg, dose of 3 mg/kg/d up to maximum dose 65 mg; in children > 20 kg range 0.4–3 mg/kg/d)	Capsule plus supplemental iron and vitamin C (125 mg < 5 years of age and 250 mg > 5 years of age) 6–8 weeks No milk or food within 2 h of medication	↔ serum ferritin	No
Silva et al., 2008 [24]	Brazil N = 109 Children Age: 20–62 months	Iron (µg/dL) Group 1: 48.9 ± 9.8 Group 2: 49 ± 10.5 Hb (g/dL) Group 1: 12.2 ± 0.7 G 2: 12.1 ± 0.7 Ferritin (ng/mL) Group 1: 41.2 ± 21.4 Group 2: 38.5 ± 19	Two group comparison	Group 1: Placebo Group 2: <i>L. acidophilus</i> 10 <sup>8</sup> CFU	Not reported	80 mL whole milk beverage with 3 mg iron 1.2 g culture of <i>L. acidophilus</i> Daily between lunch and afternoon snack Monday to Friday during 101 class days	Between groups ↔ Hb Within <i>L. acidophilus</i> group ↓ Hb ↓ Hct ↓ serum iron ↓ serum ferritin Within Placebo group ↓ Hb ↓ Hct ↔ serum iron ↑ serum ferritin	No
<b>Cross-over Studies</b>								
Bering et al., 2006 [12]	Denmark N = 24 Female 100% Age: 25 ± 4 low iron stores not anemic, not pregnant, not lactating	Hb (g/L) Range: 111–137 Ferritin (µg/L) Range 12–40	Cross-over double-blinded	Product A: <i>L. plantarum</i> 299v 1.1 × 10 <sup>9</sup> CFU, fermented gruel Product B: pasteurized Product A Product C: non-fermented gruel (pH adjusted with lactic acid) Product D: control meal non-fermented gruel with added organic acids (lactic acid and acetic acid)	Not reported	100 g oat gruel Product A, B & D: non-heme Fe 2.8 mg Product C: non-heme Fe 2.5 mg Twice on four consecutive mornings 12 h of fasting	↑ non-heme iron absorption	Yes
Bering et al., 2007 [19]	Denmark N = 18 Female 100% Age: 22 ± 3 low iron stores not anemic, not pregnant, not lactating	Hb (g/L) Range: 116–135 Ferritin (µg/L) Range 13–29	Cross-over double-blinded	Product A: heat-inactivated lactic acid gruel Product B: viable lyophilized <i>L. plantarum</i> 299v 1.1 × 10 <sup>9</sup> CFU, heat-inactivated lactic acid gruel	Not reported	100 g fermented, pasteurized oat gruel plus 140 g whole-wheat roll Product A & B: non-heme Fe 1.9 mg Twice on two consecutive mornings 12 h of fasting	↔ non-heme iron absorption	Yes
Hoppe et al., 2015 [18]	Sweden N = 10 (Study 1) N = 11 (Study 2) Female 100% Healthy Age: 24.3, range 20–40 (Total sample)	Iron (µmol/L) Study 1: 15 ± 6 Study 2: 18 ± 7 Hb (g/L) Study 1: 138 ± 8 Study 2: 135 ± 9 Ferritin (µg/L) Study 1: 33 ± 13 Study 2: 33 ± 14	Cross-over single-blinded	Product A: Placebo Product B: <i>L. plantarum</i> 299v 1.3 × 10 <sup>9</sup> CFU (Study 1) <i>L. plantarum</i> 299v 1.7 × 10 <sup>10</sup> CFU (Study 2)	Ferrous lactate dehydrate 4.2 mg	200 mL fruit drink with fermented oat base plus iron (2.1 mg/100 mL) Product A: non-heme Fe 5.2 mg (Study 1) non-heme Fe 5.4 mg (Study 2) Product B: non-heme Fe 4.6 mg (Study 1) non-heme Fe 5.2 mg (Study 2) 4 consecutive days Empty stomach	↑ non-heme iron absorption (Study 1) ↔ non-heme iron absorption (Study 2)	Yes

Study/Year	Subjects	Baseline Iron Status	Design/Blinding	Study Groups or Product	Iron Compound	Intervention Delivery Method, Frequency and Duration	Effect on Iron Status or Iron Absorption	Included in Meta-Analysis
Hoppe et al., 2017 [13]	Sweden N = 14 (Study 1) N = 28 (Study 2) Female 100% Age: 26.2 ± 4.6 (Study 1) 25.6 ± 6.8 (Study 2) Healthy	Iron (µmol/L) Study 1: 15 ± 5 Study 2: 16 ± 7 Hb (g/L) Study 1: 135 ± 6 Study 2: 134 ± 10 Ferritin (µg/L) Study 1: 30 ± 21 Study 2: 27 ± 14	Cross-over single-blinded	Product A: Placebo Product B: <i>L. plantarum</i> 299v 10 <sup>10</sup> CFU (Study 1 & 2)	Not reported	Capsule plus two wheat breakfast buns made with fermented dough Product A & B: non-heme Fe 4.2 mg 4 consecutive days Empty stomach	↑ non-heme iron absorption (Study 1) ↑ non-heme iron absorption (Study 2)	Yes
Scheers et al., 2016 [20]	Sweden N = 8 low-phytate (Study 1) N = 9 high-phytate (Study 2) Female 35% Age: 21-54 Healthy	Not reported	Cross-over	Product A: Fresh vegetables Product B: <i>L. plantarum</i> 299v 2.4 × 10 <sup>9</sup> CFU fermented vegetables	Not reported	140 g bread rolls (low phytate had wheat flour; or high phytate had wheat bran and wheat flour) plus 100 g fermented or fresh vegetables Low phytate non-heme Fe 4.4 mg High phytate non-heme Fe 4.0 mg Alternate mornings on 4 consecutive days Overnight fast	↑ non-heme iron absorption	Yes

L. = lactobacillus, B. = bifidobacterium, S. = streptococcus. ↑ statistically significant increase, ↓ statistically significant decrease, ↔ no statistically significant difference. IDA refers to iron deficiency anemia, RCT refers to randomized clinical trial, CFU refers to colony forming units, Fe refers to iron, Hb refers to hemoglobin, Hct refers to hematocrit, TIBC refers to total iron binding capacity, sTfR refers to serum transferrin receptor. <sup>a</sup> Statistical analysis and significance not reported.

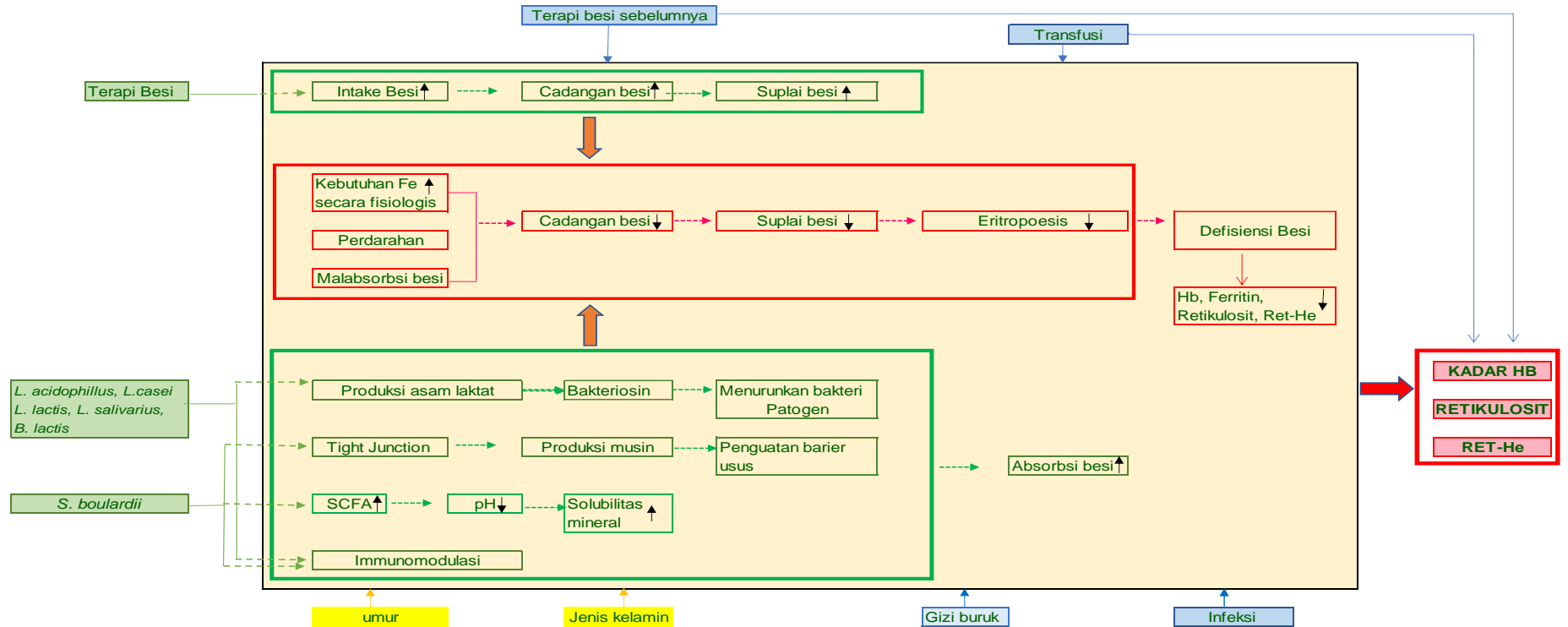
### 2.3. Kerangka Teori

## Pemberian Probiotik Bakteri dan Ragi Pada Pengobatan Anak dengan Defisiensi Besi





**BAB III**  
**KERANGKA KONSEP**



**Keterangan :**

<span style="color: red;">█</span> Variabel tergantung	<span style="color: red;">- - - - -&gt;</span> Hubungan variabel tergantung
<span style="color: green;">█</span> Variabel bebas	<span style="color: green;">- - - - -&gt;</span> Hubungan variabel bebas
<span style="color: blue;">█</span> Variabel kendali	<span style="color: blue;">- - - - -&gt;</span> Hubungan variabel kendali
<span style="color: yellow;">█</span> Variabel random	<span style="color: yellow;">- - - - -&gt;</span> Hubungan variabel random
<span style="color: orange;">█</span> Variabel antara	<span style="color: orange;">- - - - -&gt;</span> Hubungan variabel antara