

**PENGARUH JAGUNG BIOFORTIFIKASI BESI TERHADAP
KADAR HEMOGLOBIN DAN ERITROSIT
TIKUS WISTAR ANEMIA**

*The Effect of Iron Biofortified Maize on Haemoglobin and
Erythrocyte Level of Wistar Rat Anemia*

JUMADI



PROGRAM PASCASARJANA

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2020



**PENGARUH JAGUNG BIOFORTIFIKASI BESI TERHADAP
KADAR HEMOGLOBIN DAN ERITROSIT
TIKUS WISTAR ANEMIA**

Disertasi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Doktor

Program Studi

Ilmu Kesehatan Masyarakat

Disusun dan diajukan oleh

JUMADI

Kepada

PROGRAM PASCASARJANA

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2020



DISERTASI

PENGARUH JAGUNG BIOFORTIFIKASI TERHADAP KADAR HEMOGLOBIN DAN ERITROSIT TIKUS WISTAR ANEMIA

Disusun dan diajukan oleh

JUMADI
Nomor Pokok P1000316006

telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Disertasi
pada tanggal 21 Agustus 2020
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui
Komisi Penasehat,


Prof. Dr. Saifuddin Sirajuddin, M.S.
Promotor



Prof. Dr. M. Natsir Djide, Apt., M.S
Ko-Promotor



Prof. Anwar Mallongi, SKM., MScPH, Ph.D.
Ko-Promotor

Ketua Program Studi
Ilmu Kesehatan Masyarakat

Dekan Fakultas Kesehatan Masyarakat
Universitas Hasanuddin,


Dr. Ridwan Amiruddin, SKM., M.Kes


Dr. Aminuddin Syam, SKM., M.Kes., M.Med.Ed



PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Jumadi

Nomor mahasiswa : P1000316006

Program Studi : Ilmu Kesehatan Masyarakat

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

Makassar, 21 Agustus 2020

Yang menyatakan

Jumadi



PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Tuhan Yang Maha Esa dengan selesainya disertasi ini.

Gagasan yang melatari tajuk permasalahan ini timbul dari hasil pengamatan tingginya prevalensi anemia defisiensi besi dari tahun ke tahun, terutama terjadi di negara sedang berkembang. Penulis menduga disebabkan rendahnya asupan zat besi yang berasal dari bahan makanan pokok beras, jagung dan gandum. Penulis bermaksud menyumbangkan konsep asupan jagung biofortifikasi besi untuk memenuhi kebutuhan zat besi dalam tubuh secara berkelanjutan tanpa merubah pola makan.

Banyak kendala yang dihadapi oleh penulis dalam rangka penyusunan disertasi ini, dan hanya berkat bantuan berbagai pihak, maka disertasi ini dapat diselesaikan. Dalam kesempatan ini penulis dengan tulus menyampaikan terima kasih kepada Prof. Dr. Saifuddin Sirajuddin, M.S. sebagai Promotor, Prof.Dr. M. Natsir Djide, M.S., Apt. dan Prof. Anwar Mallongi, SKM,.M.Sc.PH.,PhD., sebagai ko-promotor. Demikian halnya kepada tim penilai, Dr. Ir. Hadi Riyadi, M.S., Prof.Dr. drg. Andi Zulkifli, M.Kes., Dr. Masni, Apt., MSPH., dan Rahayu Indriasari, SKM., MSPH.,Ph.D., atas bantuan dan bimbingan yang telah diberikan mulai dari perumusan permasalahan penelitian, pelaksanaan penelitian sampai

penulisa disertasi ini. Terima kasih juga penulis sampaikan staf Balai Penelitian Sereal-Maros, Kepala Laboratorium Pangan dan Gizi-Universitas Gajah Mada, Staf Sekolah Ilmu Hayati Institut



Teknologi Bandung, dan Staf Balai Besar Industri dan Kehutanan-Makassar, Staf Prodia-Baubau, dan Kepala Laboratorium Terpadu Universitas Dayanu Ikhsanuddin-Baubau, dan teman-teman Mahasiswa S-3 FKM – Unhas, dan terkhusus kepada Ibunda Hj. Iboddiman, Istri tercinta Dra. Rosliana, dan anak-anaku tersayang Muhammad Afif Firas, S.Ds., Afifah Safira, Fadil Muhammad, dan Putri Rahmawati serta mereka yang tidak disebutkan namanya tetapi telah banyak membantu penulis untuk menyelesaikan penelitian dan penulisan disertasi ini.

Makassar, 21 Agustus 2020

JUMADI



ABSTRAK

JUMADI. Pengaruh Jagung Biofortifikasi Besi Terhadap *Kadar Hemoglobin dan Eritrosit Tikus Wistar Anemia*. (Dibimbing oleh **Saifuddin Sirajuddin, M. Natsir Djide, dan Anwar Mallongi**)

Anemia yang disebabkan defisiensi besi dapat berdampak pada perkembangan otak dan fisik anak. Anemia defisiensi besi yang tidak diantisipasi sejak dini dapat menurunkan kemampuan kognitif, daya tahan fisik dan gangguan perilaku. Penelitian bertujuan untuk meningkatkan kandungan Fe biji jagung biofortifikasi (JBF) dan menganalisis pengaruhnya terhadap kadar hemoglobin dan eritrosit tikus Wistar anemia.

Peningkatan kadar Fe biji jagung dilakukan dengan metode biofortifikasi intervensi agronomi. Selanjutnya, *tru experiment randomized pre and post with control group design* pada tikus Wistar anemia dilaksanakan di Laboratorium Terpadu Universitas Dayanu Ikhsanuddin-Baubau. Penelitian ini menggunakan 25 ekor tikus Wistar betina anemia yang ditempatkan secara acak dalam 4 kelompok perlakuan dan 1 kontrol, masing-masing 5 ulangan. Variasi perlakuan JBF, yakni 10, 12, 14 dan 16%. Data pretest dan hari ke 7 dianalisis menggunakan Anova-Satu Arah, Regresi linier, Fisher's LSD (*Least Significance different*), dan Chi-Square pada $p < 0.05$.

Biofortifikasi dengan *Pseudomonas putida* FNCC – 0071 dapat meningkatkan kadar Fe biji jagung 18.78% menjadi 10.1117 mg kg⁻¹ setelah budidaya 90 hari. JBF berpengaruh terhadap laju peningkatan kadar hemoglobin (p value=0,005) dan formasi eritrosit (p value=0,007), tertinggi terjadi pada R-1 (10%) yakni 0.040% dan 0.058 ± 0.034 per hari. Namun cenderung menurun dengan meningkatnya kadar JBF, mengikuti persamaan $y = -0.028x + 0.104$ dan $y = -0.0181x + 0.0675$. Sebaliknya, bobot tubuh cenderung meningkat dengan peningkatan kadar JBF, hingga 14% (2.04 g per hari). Observasi pemberian JBF 15% selama 14 hari menunjukkan potensi faktor risiko terjadinya anemia terhadap tikus Wistar betina normal dengan nilai *prevelesi* 1.17. Berdasarkan maximum safe iron level (MSIL) 10% atau 0.19 mg kg⁻¹ Fe per hari pada tikus Wistar anemia, maka Human Equivalency Iron Dose (HEID) anak 20 kg adalah 0.92 mg kg⁻¹ atau 91.44 g JBF per hari. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar pengembangan intervensi JBF berbasis masyarakat (*community trials*).

Kata Kunci: Jagung Biofortifikasi Besi, Anemia Defisiensi Besi, Hemoglobin, Eritrosit, Maximum Safe Iron Level, Human Equivalence Iron Level



ABSTRACT

JUMADI. The Effect of Iron Biofortified Maize on *the Haemoglobin and Erythrocyte Level in Wistar Rat Anemia* (Supervised by **Saifuddin Sirajuddin, M. Natsir Djide, and Anwar Mallongi**)

Anemia caused by iron deficiency can have an impact on the brain and physical development of children. Iron deficiency anemia if not anticipated early can potentially reduce cognitive abilities, physical endurance and behavioral disorders. The aim of the study was to improve the iron content in biofortified maize (JBF) and to analyze its effect on the haemoglobin and erythrocyte level in Wistar rat anemia.

Improving iron content was carried out with biofortification with agronomic intervention. The experiment randomized pre and post with control group design on Wistar anemia was carried out at the Integrated Laboratory of the University of Dayanu Ikhsanuddin-Baubau. This research used 25 of Wistar rats anemia placed in 4 treatment groups and 1 control by randomized, each with 5 replications. JBF level was 10, 12, 14, and 16%. Pretest and 7th day data were analyzed using One Way Anova, Linear Regression, Fisher's LSD (Least Significance Different), and Chi-Square at $p < 0.05$.

Biofortification with *Pseudomonas putida* FNCC - 0071 can increase the Fe content of corn kernels 18.78% to 10.1117 mg kg⁻¹ after 90 days of cultivation. JBF affects the improving rate of hemeoglobin (p value = 0.005) and erythrocyte level (p value = 0.007), the highest occurs at R-1 (10%), namely 0.040% and 0.058 ± 0.034 per day. However, it tends to decrease with increasing levels of JBF, following the equation $y = -0.028x + 0.104$ and $y = -0.0181x + 0.0675$. In contrast, body weight tends to increase with increasing JBF levels, up to 14% (2.04 g per day). Observation of JBF 15% for 14 days showed potential risk factors for anemia in normal female Wistar rats with a prevalence value of 1.17. Based on the maximum safe iron level (MSIL) of 10% or 0.19 mg kg⁻¹ Fe per day in anemic Wistar rats, the Human Equivalency Iron Dose (HEID) of 20 kg children is 0.92 mg kg⁻¹ or 91.44 g JBF per day. It is hoped that the results of this study will form the basis for the development of community-based JBF interventions (community trials).

Keyword: Maize Biofortified Iron, Iron Deficiency Anemia, Haemoglobin, Erythrocyte, Maximum Safe Iron Level, Human Equivalence Iron Level



DAFTAR ISI

Halaman Judul	
Halaman Pengajuan	ii
Prakata	iii
Abstrak	v
Abstract	vi
Daftar Isi	vii
Daftar Tabel	xiii
Daftar Gambar	xv
Daftar Lampiran	xvii
Daftar Singkatan	xviii

BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	12
C. Tujuan Penelitian	12
D. Kegunaan Penelitian	13
E. Ruang Lingkup Penelitian.....	14
F. Novelty Penelitian	14

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Umum tentang Anemia	15
1. Prevalensi anemia	15



2. Penyebab anemia gizi besi	17
3. Faktor risiko anemia gizi besi	19
4. Mekanisme terjadinya anemia gizi besi.....	19
5. Indikator anemia gizi besi (AGB)	20
B. Tinjauan tentang Sumber, Absorpsi, Distribusi, dan Penyimpanan Besi dalam Tubuh Manusia	
1. Makanan sumber zat besi	23
2. Absorpsi besi dalam tubuh manusia	24
3. Inhibitor serapan besi dalam tubuh manusia	25
a. Asam fitat	25
b. Polifenol	26
c. Kalsium	26
d. Protein	27
4. Pemicu serapan besi dalam tubuh manusia	28
a. Asam askorbik	28
b. Protein daging	30
5. Sirkulasi besi dalam tubuh manusia	30
a. Penyimpanan besi dalam tubuh manusia	31
b. Distribusi besi dalam tubuh manusia	33
c. Kebutuhan dan keseimbangan besi tubuh manusia	34
C. Tinjauan tentang Defisiensi Besi pada Manusia	35
1. Kelompok berisiko defisiensi besi	37



2. Dampak defisiensi besi	42
a. Perkembangan otak embrio dan janin	44
b. Gangguan perilaku selama pertumbuhan dan perkembangan anak	45
c. Penurunan daya tahan fisik	46
3. Kelebihan besi (iron overload) pada manusia	46
D. Tinjauan tentang Strategi Mengatasi AGB	49
1. Plant soil system, PGP dan mekanisme perolehan besi	49
a. Fortifikasi	51
b. Suplementasi	62
c. Biofortifikasi	53
2. Protection motivation theory	65
E. Tinjauan tentang Biofortifikasi Tanaman Jagung	70
1. Klasifikasi	71
2. Nilai gizi jagung	72
3. Manfaat jagung untuk kesehatan	78
F. Tinjauan tentang Tikus Wistar	81
1. Karakteristik dan klasifikasi	81
2. Kebutuhan mineral tikus	83
3. Makanan dan pencernaan	83
4. Pertumbuhan	84
5. Efisiensi penggunaan pakan	85



6. Profil hematologi tikus	85
7. Hubungan umur tikus Wistar dengan manusia	89
G. Tinjauan tentang Human Equivalent Dose	95
H. Kerangka Teori	98
I. Kerangka Konsep Penelitian	100
J. Hipotesis	101
K. Definisi Operasional dan Kriteria Obyektif	101
BAB 3 METODE PENELITIAN	
A. Rancangan Peneliatian	104
B. Lokasi dan Waktu	106
C. Alat dan Bahan	107
D. Populasi dan Sample	113
E. Teknik Pengumpulan Data	113
F. Analisis Data	116
1. ANOVA-SATU ARAH	116
2. LSD Test	116
3. Regresi Linier.....	117
4. Chis Square	117
5. Human Equivalent Dose (HED)	117
6. Alur Penelitian.....	120



BAB 4 HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Pengaruh *Pseudomonas putida* FNCC – 0071 terhadap peningkatan kadar besi jagung biofortifikasi 122
2. Pengaruh jagung biofortifikasi besi (JBF) terhadap peningkatan kadar hemoglobin tikus Wistar betina anemia 123
3. Pengaruh jagung biofortifikasi terhadap peningkatan jumlah eritrosit tikus Wistar betina anemia 128
4. *Human equivalent iron doses* (HEID) berdasarkan maximum safe iron level tikus Wistar betina anemia 131
5. Peningkatan bobot badan (BB) tikus Wistar betina anemia yang diberi asupan jagung biofortifikasi besi 133
6. Hubungan asupan jagung dengan kejadian anemia tikus Wistar 137

B. Pembahasan

1. Pengaruh *Pseudomonas putida* FNCC – 0071 terhadap peningkatan kadar besi jagung biofortifikasi 139
2. Pengaruh jagung biofortifikasi besi (JBF) terhadap peningkatan kadar hemoglobin tikus Wistar betina anemia 142
3. Pengaruh jagung biofortifikasi terhadap peningkatan jumlah eritrosit tikus Wistar betina anemia 148
4. *Human equivalent iron doses* (HEID) berdasarkan maximum safe iron level tikus Wistar betina anemia 150
5. Peningkatan bobot badan (BB) tikus Wistar betina



anemia yang diberi asupan jagung biofortifikasi besi	153
6. Hubungan asupan jagung dengan kejadian anemia tikus Wistar	156
C. Keterbatasan Penelitian	161

BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan	165
B. Saran.....	165

DAFTAR PUSTAKA

LAMPIRAN-LAMPIRAN



DAFTAR TABEL

Tabel	Uraian	Hal
1	Kategori anemia berdasarkan kadar hemoglobin (g/L)..	22
2	Cadangan besi berdasarkan konsentrasi feritin serum ..	32
3	Konsetrasi feritin normal ($\mu\text{g/L}$) menurut jenis kelamin dan kelompok umur	32
4	Spesies bakteri yang memiliki potensi sebagai <i>plant growth promotion</i>	59
5	Kandungan Gizi Jagung	74
6	Profil hematologi dan berat badan tikus Wistar betina umur 4, 6, dan 8 minggu	88
7	Profil hematologi dan berat badan tikus Wistar jantan umur 4, 6, dan 8 minggu	88
8	Konversi umur tikus ke umur manusia (Tahun)	91
9	Faktor <i>km</i> dan (Body Surface Area) manusia dan spesies lainnya	91
10	Konvesri umur tikus ke umur manusia	118
11	Rerata penurunan Hb tikus wister setelah diinjeksi 40 mg/kg DNPH selama 2 hari berturut-turut	118
12	Sampel tikus wistar betina anemia menurut berat dan kadar hemoglobin (Hb) setelah diinduksi dengan DNPH 40 mg/kg	119
13	Rerata Laju perubahan kadar hemoglobin tikus wistar betina anemia ($\% \text{ hr}^{-1}$) selama pemberian makanan jagung biofortifikasi Fe JBF).....	123
	Distribusi perbedaan pengaruh asupan JBF terhadap kadar hemoglobin tikus Wistar betina setelah hari ke 7	124
	Distribusi perbedaan efek pemberian asupan JGB terhadap laju peningkatan kadar hemoglobin ($\% \text{ h}^{-1}$)	125



16	Rerata laju formasi eritrosit tikus Wistar betina anemia selama asupan JBF ($\% \text{ hr}^{-1}$)	128
17	Distribusi pengaruh asupan JBF terhadap jumlah eritrosit tikus Wistar betina setelah hari ke 7	128
18	Distribusi perbedaan efek pemberian asupan JBF terhadap laju peningkatan jumlah eritrosit ($\% \text{ h}^{-1}$)	129
19	Human equivalence iron dose (HEID)	131
20	Diet JBF berdasarkan Human Equivalensi Iron Dose (HEID)	133
21	Rerata laju peningkatan bobot badan (BB) wistar betina anemia ($\% \text{ hr}^{-1}$).....	134
22	Distribusi pengaruh asupan JBF terhadap bobot badan tikus Wistar betina setelah hari ke 7.....	135
23	Distribusi perbedaan efek pemberian asupan JBF terhadap laju peningkatan bobot badan ($\% \text{ h}^{-1}$).....	136
24	Hubungan makanan JBF (15% BB) dengan kejadian anemia tikus Wistar betina	138



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Uraian	Hal
1	Diagnosis Anemia Hipokromik	21
2	Keseimbangan Besi dalam Tubuh Manusia	34
3	Dampak Kelebihan Besi Terhadap Oksidasi LDL dan Pembentukan Sel Gabus.....	49
4	Perbedaan Strategi Mereduksi Prevalensi Defisiensi Besi pada Masyarakat	51
5	Variasi Mekanisme Kerja Plant Growth Promotion.....	61
6	Mekanisme Pengambilan Besi Oleh Tanaman.....	65
7	Protection Motivation Theory	67
8	Hubungan Umur Tikus dan Umur Manusia	90
9	Modifikasi <i>Plant Soil System</i> dan <i>Protection Motivation Theory</i>	98
10	Kerangka Konsep Pengaruh Jagung Biofortifikasi Besi Terhadap Kadar Hb dan Eritrosit Tikus Wistar Anemia	100
11	Rancangan Penelitian Pengaruh JBF Terhadap Kadar Hb dan Eritrosit Tikus Wistar Anemia	105
12	Alur Penelitian Pengaruh Jagung Biofortifikasi Terhadap Kadar Hb dan Eritrosit Tikus Wistar Betina Anemia	120
13	Konsentrasi Besi Dalam Biji Jagung Biofortifikasi dengan <i>P. putida</i> FNCC – 0071 selama 90 hari.....	122



14	Laju Perubahan Kadar Hemoglobin ($\%hr^{-1}$) Menurut Asupan JBF.....	126
15	Perbedaan Laju Peningkatan Kadar Hb Tikus Wistar Anemia yang Diberi makanan 10% dari JNB dan JBF	127
16	Laju Peningkatan Eritrosit Menurut Asupan JBF (% BB) Tikus Wistar Anemia	130
17	Laju Peningkatan BB Tikus Wistar Anemia Menurut Asupan JBF.....	137
18	Aliran Mikronutrisi dari Tanah Melalui Rantai Makanan Ke Manusia	141
19	Aliran Energi Selama Komsumsi Jagung Biofortifikasi.....	161



DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Uraian	Hal.
1	Sertifikasi Biakan Murni <i>Pseudomonas putida</i> FNCC-007, No. PSPG/0299/II/10. Universitas Gajah Mada.....	192
2	Sertifikat Veteriner No. 524.3/3873-Dispangtan/2019. Dinas Pangan dan Pertanian, Pemerintah Kota Bandung.....	193
3	Rekomendasi Persetujuan Etik, No: 270/UN4.6.4.5.31/PP36/2019. Komite Etik Penelitian Kesehatan, Fakultas Kedokteran RSPTN Universitas Hasanuddin, RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar.....	194
4	Kadar Besi (Fe) Sampel Jagung Perlakuan: Laporan Pengujian No. 2.7934/LU-BBIHP/XII/2018, Laboratorium Penguji BBIHP, Badan Penelitian dan Pengembangan Industri, Kementerian Perindustrian, Makassar.....	195
5	Kadar Besi (Fe) Jagung Kontrol: Laporan Pengujian No. 2.7935/LU-BBIHP/XII/2018, Laboratorium Penguji BBIHP, Badan Penelitian dan Pengembangan Industri, Kementerian Perindustrian, Makassar	196
6	Hasil ANOVA Laju Peningkatan Kadar Hemoglobin (Hb).....	191
7	Hasil ANOVA Laju Peningkatan Jumlah Sel darah Merah Tikus Wistar	193
8	Hasil ANOVA Laju Peningkatan Bobot Badan Tikus Wistar	196
9	Hasil Crosstab Hubungan Makanan dengan Kejadian Anemia pada Populasi Tikus Wistar Betina.....	198
	Analisis Variance (ANOVA) biomassa tu,buham, jumlah akar, dan panjang akar primer benih jagung.....	199



DAFTAR SINGKATAN

AGB	Anemia gizi besi
AKG	Angka Kecukupan Gizi
ASI	Air susu ibu
ABR	Auditory brainstem response
BMR	Basal metabolism energy
BB	Bobot badan
BSA	Body surface area
CKDs	Chronic kidney diseases
CRV:	C-reactive protein,
CTKs	Cytokinins
DAP	Day After Pollination
DMT1	Divalent metal transporter 1
DNA	Deoxyribonucleate acyd
DAPG	2,4-diacetylphloroglucinol.
ft	Femtoliter
FRO	Ferric reductase oxidase,
Fe-PS	Fe- protein substrat
GBD	Global Barden Diseases
GAs	Gibberellins,
	Glukose transporter type 4
	Human Equivalence Iron Doses



Hb	Hemoglobin
HCN	Hydrogen cyanide
HFCS	Hight fructose corn syrup
HFD	Hight fat diet
IAA	Indole acetic acid,
IDA	Iron-deficiency anemia
IFA	Iron-folic acid
IFLS	Indonesia Family Live Survey
JBF	Jagung biofortifikasi besi
JNB	Jagung non-biofortifikasi
LDL	Low dencity lypoprotein
MA	Mugineic acid
MMN	Multiple micronutrient
MNP	Micronutrient powder
MMFR	Multi-micronutrient fortified rice
MCH	Mean cellular hemoglobin
MCV	Mean cellular volume of erythrocytes,
MCHC	Mean cellular hemoglobin concentration
MSL	Maximum safe level
NIH	National Institute of Health
OPT	Oligopeptide transporter
	Plant growth promotion
	Picogram



PHZ	Phenylhydrazine
ppm	Part per million
PMT	Protection motivation Theory
pVAC	Provitamin A carotenoid
RBC	Red blood cell,
RDA	Recommended Diet Absorption
RNA	Ribonucleid Acyd
ROS	Reactive oxygen species
SF	Serum feritin
sTfR	Soluble transferrin receptor
SDM	Sel darah merah
SI	Serum iron
TfR	Transferin Reseptor
TNF-alpha	Tumor necrosis factor-alpha
TEF	Thermic effect of food
TC	Total carotenoid
TEF	Thermic effect of food
VA	Vitamin A
YS1	Yellow stripe 1
WHO	World Health Organization
WBC	White blood cell



BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Malnutrisi dan penyakit kronis merupakan permasalahan global, terutama terjadi di negara sedang berkembang. Hal ini menjadi salah satu faktor penghambat tercapainya tujuan *Millennium Development Goals* 2015 karena berkontribusi pada peningkatan angka mortalitas (*mortality rate*). Malnutrisi gizi mikro dapat berupa defisiensi Fe, defisiensi Zn dan defisiensi Vitamin A. *Iron-deficiency anemia* (IDA) atau anemia gizi besi (AGB) merupakan penyebab utama kejadian anemia di berbagai negara di dunia (Dipti et al. 2012).

Laporan *Global Burden Diseases* (GBD) tahun 2013 menyatakan bahwa penderita anemia dengan kadar hemoglobin rendah mencapai 27% atau sekitar 1.93 milyar jiwa di seluruh dunia, 89% diantaranya terjadi di negara sedang berkembang. Rerata prevalensi penderita anemia relatif tinggi terjadi pada kelompok populasi, yakni: ibu hamil, bayi dan anak usia di bawah 2 tahun, anak usia prasekolah, anak usia sekolah, remaja; dan wanita tidak hamil (WHO 2006). Di India dan sub-Saharan Afrika, 90% wanita mengalami anemia selama kehamilan dan 21% dari 1,2 milyar remaja anemia di dunia (Sivagurunathan et al. 2015). Di

ur, prevalensi anemia gizi besi pada anak dan wanita hamil ai 75 dan 71% (Aung et al. 2013). Demikian halnya di Cina, sekitar



24% anak menderita anemia berat karena defisiensi besi (Yang, Chen, and Feng 2007).

Di Indonesia, malnutrisi tetap menjadi isu kesehatan masyarakat dengan prevalensi kekurusan (*wasting*) 13% dan pendek (*stunting*) 36% (Miller et al. 2013). Hasil survey *Indonesia Family Live Survey* (IFLS) menunjukkan prevalensi anemia tetap merupakan permasalahan kategori sedang pada anak usia 0 - 5 tahun, anak 5 - 12 tahun, wanita hamil dan wanita tidak hamil (Barkley et al. 2015). Anak usia sekolah banyak mengalami anemia karena kurangnya mengkonsumsi zat besi dan asam folik, dan terlalu seringnya mengkonsumsi minuman teh atau kopi (Ramachandran et al. 2015). Rendahnya asupan gizi nampaknya menjadi faktor determinan yang signifikan sebagai penyebab defisiensi gizi mikro, termasuk defisiensi besi (Thomas et al. 2015).

Mineral besi terdapat di dalam berbagai bahan makanan alami, bahan tambahan dalam makanan dan tersedia sebagai suplemen (Wessling. et al. 2014). Zat besi terdiri atas dua bentuk, yakni heme dan non-heme. Tumbuhan dan makanan fortifikasi besi hanya mengandung besi non-heme, sedangkan daging, makanan laut, dan daging ayam mengandung besi heme dan non-heme. Besi heme berkontribusi sekitar 10-15% dari total suplai besi dalam tubuh(Wessling. et al. 2014).

Zat besi (Fe) dalam tubuh manusia disimpan di hati dalam bentuk

an haemosiderin. Besi merupakan komponen penting hemoglobin, protein eritrosit yang mengangkut oksigen dari paru-paru ke jaringan



(Wessling. et al. 2014), berperan penting dalam metabolisme otot, jaringan ikat, pertumbuhan fisik, perkembangan saraf, fungsi sel dan sintesis hormon (Aggett. et al. 2012). Zat besi juga merupakan komponen penting berbagai sistem enzim, seperti dalam sitokrom, terlibat langsung dalam proses metabolisme oksidatif (WHO 2006).

Defisiensi besi dalam tubuh dapat disebabkan oleh beberapa faktor, antara lain: 1) rendahnya asupan besi; 2) rendahnya asupan vitamin C (asam askorbut); 3) kurangnya absorpsi besi dari makanan tinggi fitat (polong-polongan dan sereal) atau senyawa fenol (terdapat dalam kopi, tea, sorgum dan millet); 4) fase kehidupan, saat mana besi dibutuhkan dalam jumlah relatif banyak, seperti pertumbuhan dan kehamilan; 5) kehilangan darah dalam jumlah besar akibat menstruasi, infeksi parasit (kecacingan dan malaria) (Trabelsi et al. 2014) (Sobani et al. 2010; WHO 2006), bahkan manifestasi dari *chronic kidney diseases* (CKDs), *malignancies*, dan *autoimmune disorders* (Gebreegziabiher, Etana, and Niggusie 2014).

Tubuh yang kekurangan besi menjadi tempat yang baik untuk bertumbuh dan kembangnya organisme parasit, sehingga peningkatan ketersediaan besi dalam tubuh akan dapat mengurangi infeksi parasit (Malafaia et al. 2011). Defisiensi besi mengurangi daya tahan tubuh ibu dan anak (Lee and Okam 2011), mempengaruhi performa anak di sekolah

asitas kerja fisik wanita dan remaja (*nonpregnant adolescents*), dapat meningkatkan risiko anemia usia muda saat mengalami



kehamilan (*teenage pregnancies*) (Leenstra et al. 2009), gangguan perilaku selama fase pertumbuhan dan perkembangan anak (Mahajan et al. 2011; Sivagurunathan et al. 2015).

Anemia juga erat kaitannya dengan pendapatan per kapita rumah tangga, umur, dan status nutrisi anak. Peningkatan status ekonomi keluarga, pendidikan perempuan dan pengetahuan tentang keseimbangan konsumsi makanan dari hewan dan tumbuhan merupakan strategi penting untuk mengurangi jumlah penderita anemia. Pemberdayaan ekonomi dan pendidikan perempuan, terutama ibu hamil adalah faktor kunci untuk mencegah permasalahan yang berhubungan kejadian anemia (Gebreegziabher, Etana, and Niggusie 2014) (Achouri et al. 2015; Noronha et al. 2010). Sementara strategi menurunkan angka defisiensi besi dapat dilakukan melalui tiga cara, yakni: 1) modifikasi atau diferensiasi makanan; 2) memberikan suplemen besi atau fortifikasi; dan 3) biofortifikasi besi pada bahan makanan (Xuebin and Yuan 2012). Pemberian suplemen berupa *Iron-folic acid* (IFA) dan *multiple micronutrient* (MMN) menjadi hal penting untuk menjaga berat tubuh anak baru lahir (*birth weight*) dan perbaikan kognisi anak selama usia 6 bulan pertama (Hanieh et al. 2013).

Hasil studi di Amerika Serikat menunjukkan bahwa pemberian suplemen besi selama kehamilan mengurangi jumlah lahir prematur dan

berat badan lahir rendah. Zat besi (Fe) bermanfaat pada enzim yang menggunakan besi tiroksin, sehingga rendahnya status Fe akan berdampak pada



metabolisme Iodin (I). Populasi anak dengan prevalensi anemia dan gondok yang tinggi akan dapat diperbaiki dengan suplemen besi melalui pemberian minyak beryodium dan garam beryodium. Namun, hal yang penting diketahui, terdapat bukti ilmiah bahwa pemberian suplemen besi dapat memberikan pengaruh negatif terhadap perkembangan bayi, kemampuan bekerja dan produktifitas. Demikian halnya, upaya perbaikan status besi melalui pemberian vitamin A dan Iodin, dimana vitamin A dimobilisasi dari hati oleh enzim tergantung besi (*iron-dependent enzyme*) juga diketahui kurang bermanfaat. Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa dalam kasus pemberian vitamin A pada penderita defisiensi besi ditemukan bahwa besi hanya tersimpan atau terperangkap di hati sehingga kurang terdistribusi ke jaringan atau organ lainnya. (WHO 2006). Pemberian gizi mikro tepung pada anak dan ibu melahirkan tidak berkontribusi secara signifikan terhadap perbaikan status besi walaupun tidak menyebabkan perubahan konsentrasi hemoglobin (Ndemwa et al. 2011).

Selain suplementasi, fortifikasi bahan makanan yang dilakukan dengan menambahkan unsur atau vitamin, antara lain vitamin A (Perignon et al. 2016) , Zn (Shah et al. 2016), Fe dan Ca (Khan et al. 2014), bumbu masakan yang difortifikasi dengan NaFe-EDTA (Guo et al. 2014), biskuit (Bal et al. 2015), fortifikasi NaFeEDTA pada sous kecap (Huo et al. 2015).

an *micronutrient powder* (MNP), dapat mengatasi permasalahan gizi mikro (Jefferds et al. 2013), mencegah defisiensi besi dan



anemia pada anak usia 12 bulan (Bilenko et al. 2014), mengatasi kekurangan besi tanpa merubah pola makan (Paganini, Uyoga, and Zimmermann 2016), meningkatkan kadar hemoglobin dan mereduksi anemia pada bayi (Nogueira Arcanjo et al. 2013), mengurangi anemia pada anak (Semba et al. 2010). Pemberian *Multi-micronutrient fortified rice* (MMFR) yang mengandung vitamin A (VA) efektif memperbaiki status VA pada anak usia sekolah, tetapi dampaknya terhadap perbaikan status besi hemoglobin dan *subclinical inflammation* sangat terbatas atau tidak signifikan (Perignon et al. 2016). Sebagai perbandingan, fortifikasi bahan makanan dengan seng (Zn) tunggal dapat memperbaiki status seng serum populasi, tetapi kombinasi seng dengan gizi mikro lain, tidak memberikan perbaikan status Zn serum secara signifikan (Shah et al. 2016). Pemberian makanan dengan MNP dapat memperbaiki anemia dan hemoglobin, tetapi tidak berpengaruh pada pertumbuhan anak bahkan meningkatkan kejadian diare (Salam et al. 2013). Fortifikasi bumbu makanan dengan NaFe-EDTA dapat memperbaiki kadar hemoglobin dan mencegah anemia, namun masih perlu dievaluasi efek pencegahannya pada anak usia prasekolah (Guo et al. 2014). Selain itu, pemberian gizi mikro melalui makanan dalam bentuk tepung diketahui memberikan efek negatif terhadap mikroorganisme saluran pencernaan (*gut microbiome*), meningkatkan kelimpahan bakteri patogen dan inflamasi usus (Jaeggi et



Perbaikan status besi melalui peningkatan kadar hemoglobih dan jumlah eritrosit, selain dapat dilakukan melalui pemberian dalam bentuk suplemen dan serbuk dalam bahan makanan (fortifikasi) juga dapat dilakukan melalai upaya biofortifikasi bahan makanan. Biofortifikasi pada bahan makanan dapat dilakukan melalui metode transgenik, pemuliaan tanaman, dan intervensi agronomi (pupuk anorgani, organik, dan pupuk hayati). Strategi baru biofortifikasi ini telah dilakukan pada berbagai produk bahan makanan, seperti pada beras, jagung, kedelai, dan kacang-kacangan lainnya (Vasconcelos, Gruisse, and Bhullar 2016).

Biofortifikasi dengan transgenik telah dilakukan pada beras (Yang et al. 2016), kacang kedelai (*Glycine max*) (Stacey et al. 2016), tomat (Weremczuk et al. 2016). Demikian halnya biofortifikasi dengan pendekatan metode pemupukan tanaman telah dilakukan, antara lain peningkatan kandungan Iodiu (I) dan Seleniu (Se) pada wortel melalui pemberian pupuk anorganik $KI+Na_2SeO_3$ dan $KIO_3+Na_2SeO_3$ (Smolen et al. 2016). Biofortifikasi Se pada lobak (*Raphanus sativus*) meningkatkan kandungan senyawa Se antikarsinogenik yang sangat bermanfaat bagi kesehatan manusia (Schiavon et al. 2016),

Konsumsi iron-biofortified dari pearl millet (*Pennisetum glaucum*) sebagai hasil transgenik akan meningkatkan absorpsi besi dua kali lipat, dan secara efektif mengatasi defisiensi besi masyarakat yang

msumsinya (Cercamondi et al. 2013). Namun demikian, beberapa n menunjukkan bahwa produk bahan makanan dari proses



biofortifikasi dengan metode transgenik dalam jangka panjang berpotensi memberikan efek yang serius terhadap gangguan kesehatan bagi konsumen akibat perubahan genetik (*genetic modify*). Sedangkan penggunaan pupuk organik dan anorganik berpotensi merusak lingkungan tanah akibat akumulasi senyawa anorganik dan organik sehingga merusak lingkungan pertanian dan pada akhirnya memberi dampak negatif terhadap ketersediaan pangan bagi masyarakat.

Salah satu upaya yang belum banyak dikaji dalam kesehatan masyarakat adalah bagaimana meningkatkan kandungan besi pada produk tanaman jagung melalui pendekatan biofortifikasi metode *plant growth promotion* (PGP) dan selanjutnya dapat memperbaiki kadar haemoglobin dan status besi pada konsumen. Biofortifikasi dengan metode PGP ini telah sukses meningkatkan kandungan mineral pada tanaman gandum (Gopalakrishnan et al. 2016) dan padi, walaupun belum signifikan (Yasmin et al. 2016). Keuntungan dari biofortifikasi pendekatan ini adalah dapat diproduksi melalui bioteknologi sederhana, lebih murah, menjangkau seluruh lapisan konsumen, dan tidak merubah pola makan.

Permasalahannya bahwa gizi mikro penting untuk hidup sehat, tetapi tubuh manusia tidak mampu menghasilkan gizi mikro, seperti Fe, Zn, dan I, dan karenanya mereka harus mendapatkan melalui rantai makanan. Tanaman adalah sumber primer makanan manusia, namun

lengkapi dengan bahan makanan lain untuk menyempurnakan
gan satu atau lebih gizi mikro lainnya. Pada kenyataannya



defisiensi besi pada berbagai fase kehidupan telah dialami semua masyarakat baik di negara maju maupun negara sedang berkembang. Defisiensi besi berdampak pada kejadian anemia (*Fe deficiency induced anemia*) dan perkembangan kognisi anak. Sementara mengatasi anemia melalui pemberian suplemen besi juga telah diketahui menimbulkan dampak negatif pada metabolisme tubuh dan dibutuhkan perubahan-perubahan perilaku masyarakat agar dapat mengomsumsi besi sesuai kebutuhan tubuh mereka. Di Indonesia, fortifikasi besi makanan telah dilakukan, seperti industri gandum (*weath flour*) dan beras ekstrusi, namun belumlah secara signifikan memberikan dampak terhadap upaya pembebasan masyarakat dari kejadian anemia defisiensi besi.

Biofortifikasi pangan seperti beras, jagung, dan gandum merupakan pilihan yang dapat menunjang pendekatan lain dalam mengatasi anemia defisiensi besi. Jagung adalah salah satu dari tiga makanan pokok paling banyak dikonsumsi penduduk di dunia, termasuk di Indonesia, sehingga biofortifikasi besi pada jagung diharapkan dapat secara signifikan berkontribusi terhadap penurunan angka defisiensi besi dan angka morbiditas serta mortalitas yang disebabkan oleh defisiensi besi tanpa merubah pola makan mereka.

Sehubungan dengan itu, strategi sistem tanah-tanaman (*soil plant system*) dapat diadopsi untuk meningkatkan gizi mikro manusia terutama

(1) memanfaatkan genotipe mikronutrien tanaman dengan ajari fisiologi dan genetika aliran mikronutrien dari tanah ke



bagian tanaman yang dapat dimakan; (2) meningkatkan bioavailabilitas mikronutrien melalui pengkajian yang lebih baik tentang mekanisme peningkatan produksi dan akumulasi di bagian tanaman yang dapat dimakan dan regulasi melalui sistem tanah-tanaman; (3) meningkatkan pengkajian tentang hubungan antara bioavailabilitas mikronutrien dalam tanah dan produk tanaman untuk perbaikan gizi manusia; (4) mengembangkan pupuk mikronutrien khusus dan teknologi pengelolaan hara terpadu untuk meningkatkan kandungan mikronutrisi dalam bagian tanaman yang dapat dimakan dan bioavailabilitas mereka untuk manusia (Yang, Chen, and Feng 2007).

Perbaikan gizi masyarakat berbasis tanaman ini merupakan hal yang sangat penting dan bernilai ekonomi tinggi untuk memenuhi kebutuhan gizi mikro sebahagian besar penduduk dunia. Bahkan akhir-akhir ini, tanaman jagung telah muncul sebagai prioritas strategis bagi peningkatan diversitas pangan, termasuk di Indonesia, namun peningkatan kualitas produksinya melalui pemuliaan tanaman secara konvensional sering dibatasi oleh variabilitas genetik yang rendah (Bhullar and Grisse 2013). Biofortifikasi besi adalah salah satu pilihan penting untuk meningkatkan kandungan mikronutrien besi pada tanaman jagung yang selanjutnya diharapkan berkontribusi terhadap strategi mereduksi anemia. Penelitian ini diharapkan dapat memanfaatkan bakteri

monas putida yang secara spesifik berperan meningkatkan kandungan besi biji jagung. Upaya biofortifikasi besi menggunakan bakteri



PGP adalah suatu peluang yang penting untuk meningkatkan kandungan mineral besi (Fe) pada tanaman jagung.

Tanaman jagung dapat lebih mudah dibiofortifikasi dengan bakteri *Pseudomonas putida* karena bakteri ini diketahui mampu mereduksi Fe^{3+} , melarutkan posfat, menghasilkan fitohormon: *Indole-3-acetic acid*, *Gibberellic acid*, *Trans-zeatin riboside* dan *Abscisic acid* dan dapat merangsang perpanjangan akar, meningkatkan berat kering dan kandungan prolin, serta kandungan mineral *Zea mays* L. (Naz and Bano 2010). Dengan demikian, inokulasi *P. putida* pada akar diharapkan dapat mendorong peningkatan laju absorpsi dan akumulasi besi selama pertumbuhan dan pembentukan biji tanaman jagung. Selanjutnya, dengan menggunakan tikus wistar anemia dapat ditemukan model asupan jagung biofortifikasi yang sesuai untuk mengatasi kejadian anemia berbasis komunitas. Keunggulan biofortifikasi metode *plant growth promotion*, antara lain: ramah lingkungan, sederhana, ekonomis, dan dapat menjangkau seluruh lapisan masyarakat sampai ke wilayah terpencil. Dengan demikian sangat sesuai dengan kondisi geografis Indonesia. Aplikasi praktis hasil penelitian ini, nantinya akan menuntut perubahan visioner dalam kebijakan peraturan dan penerimaan konsumen yang lebih luas.



B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas maka dapat diajukan rumusan masalah sebagai berikut:

1. Apakah biofortifikasi besi dengan *Pseudomonas putida* FNCC-0071 dapat meningkatkan kadar besi produk biji jagung?
2. Apakah jagung biofortifikasi besi dapat meningkatkan kadar hemoglobin tikus Wistar betina anemia? .
3. Apakah jagung biofortifikasi besi dapat meningkatkan jumlah eritrosit tikus Wistar betina anemia?.
4. Berapa *maximum safe iron level* (MSIL) dari jagung biofortifikasi besi yang dapat mengatasi anemia ringan tikus Wistar betina?.
5. Berapa *human equivalensi iron dosis* (HEID) dari jagung biofortifikasi besi berdasarkan MSIL pada tikus Wistar betina anemia?

C. Tujuan Penelitian

1. Tujuan Umum

Tujuan umum penelitian adalah mengkaji peranan jagung biofortifikasi besi terhadap kadar hemoglobin dan eritrosit tikus Wistar betina anemia.



2. Tujuan Khusus

Penelitian ini telah dilaksanakan dengan tujuan khusus sebagai berikut:

- a. Menganalisis peningkatan kadar besi jagung yang dibiofortifikasi dengan *Pseudomonas putida* FNCC-0071
- b. Menganalisis pengaruh jagung biofortifikasi besi (JBF) terhadap peningkatan kadar hemoglobin tikus wistar betina anemia
- c. Menganalisis pengaruh jagung biofortifikasi besi (JBF) terhadap jumlah eritrosit tikus Wistar betina anemia
- d. Menganalisis maximum safe iron level (MSL) jagung biofortifikasi besi yang dapat mengatasi anemia ringan pada tikus Wistar betina anemia.
- e. Menganalisis Human Equivalence Iron Doses (HEID) berdasarkan MSIL pada tikus Wistar betina anemia

D. Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat sebagai berikut:

- a. Memberikan kontribusi terhadap perkembangan ilmu dan teknologi biofortifikasi untuk meningkatkan kandungan Fe biji jagung

at menjadi acuan dalam pengembangan penelitian biofortifikasi basis pangan pokok jagung sebagai upaya mengatasi kejadian mia



- c. Dapat menjadi acuan pemerintah dan stakeholder dalam mengembangkan kebijakan biofortifikasi untuk mereduksi kejadian anemia.
- d. Dapat menjadi referensi dalam pengembangan penelitian biofortifikasi untuk meningkatkan kecukupan gizi mikro masyarakat melalui pendekatan *plant soil system*.

E. Ruang Lingkup Penelitian

Ruang lingkup pada penelitian ini adalah Bagian Ilmu Kesehatan Masyarakat, khususnya gizi masyarakat dan anemia gizi besi pada wanita.

F. Novelty Penelitian

Nilai novelty dari hasil penelitian ini adalah peneliti dapat:

1. Menemukan metode biofortifikasi menggunakan *Pseudomonas putida* FNCC-0071 yang dapat meningkatkan kadar besi biji jagung.
2. Mengetahui *maximum safe iron level* (MSIL) dari asupan jagung biofortifikasi besi yang dapat mengatasi anemia ringan pada tikus Wistar betina
3. Mengetahui cara mengestimasi *Human Equivalence Iron Dose* (HEID)

anak dan orang dewasa berdasarkan MSIL pada tikus Wistar
nia.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Umum tentang Anemia

Anemia secara fungsional didefinisikan sebagai penurunan jumlah massa eritrosit (*red cell mass*) sehingga tidak dapat memenuhi fungsinya untuk membawa oksigen (*oxygen carrying capacity*) dalam jumlah yang cukup dari paru-paru ke jaringan tubuh lainnya. Anemia dapat disebabkan adanya gangguan nutrisi (defisiensi gizi mikro, vitamin B₁₂, vitamin A, dan asam folat) atau non-nutrisi (malaria, kecacingan, thalassemia dan pendarahan). Apabila dalam periode waktu lama suplai besi dari makanan tidak mencukupi kebutuhan tubuh maka cadangan besi berangsur-angsur berkurang hingga menimbulkan defisiensi besi. Hal tersebut dapat ditunjukkan oleh penurunan kadar hemoglobin, hematokrit atau jumlah eritrosit (Wick, Pinggera, and Lehmann 2011; Bertinato et al. 2014; WHO 2007).

1. Prevalensi anemia

Anemia adalah suatu penyakit yang menjadi permasalahan secara global, baik di negara sedang berkembang maupun di negara maju.

Prevalensi anemia gizi besi (AGB) berbeda-beda di setiap negara di

hususnya yang terjadi pada anak dan wanita. Di Cina, sekitar 24%

mengalami anemia akut (Yang, Chen, and Feng 2007), Myanmar,



anemia pada anak dan wanita hamil mencapai 75 dan 71% (Aung et al. 2013), India dan sub-Saharan Africa, 90% of anemia terjadi pada wanita hamil atau 21% dari 1.2 milyar penderita anemia di dunia (Sivagurunathan et al. 2015) Prevalensi anemia pada pelajar di India mencapai 31.4%, sekitar 1% anemia berat, 11.9% anemia sedang dan 18.5% anemia ringan (Ramachandran et al. 2015).

Hasil survei *Indonesia Family Life Surveys* (IFLS), yang diukur berdasarkan kadar hemoglobin terhadap prevalensi anemia menyimpulkan bahwa anemia kategori moderat terjadi pada umur 0 – 5; 5 - 12, wanita tidak hamil dan wanita hamil (Barkley et al. 2015). Menurut (Klaus Kraemer and Zimmermann 2007), berdasarkan prevalensinya kejadian anemia dalam masyarakat maka dapat dikategorikan, sebagai berikut: <5% (*no public health problem*); 5–19.9% (*mild public health problem*); 20–39.9% (*moderate public health problem*); >40% (*severe public health problem*).

Di Indonesia, status malnutrisi masyarakat pedesaan sangat tergantung pada hasil pertanian lokal, berfluktuasi menurut waktu panen. Hasil penelitian di Kecamatan Oesao, Nusa Tenggara Timur, sekitar 30% anak-anak menderita anemia (Hb <11 mg/100 mL), 68% defisiensi vitamin A (vitamin A plasma <0.8 $\mu\text{mol/L}$) dan 50% defisiensi seng (Zn plasma <9.94 $\mu\text{mol/L}$), terjadi di bulan Maret dan 19% di bulan

er (Miller et al. 2013).



2. Penyebab anemia gizi besi

Anemia merupakan masalah kesehatan masyarakat yang luas, berdampak terhadap peningkatan risiko morbiditas dan mortalitas, terutama pada wanita hamil dan anak-anak. Faktor-faktor yang berkontribusi terhadap timbulnya anemia, yakni: gizi (kekurangan vitamin dan mineral, defisiensi besi) dan non-gizi (parasit, infeksi dan hemoglobinopati), gangguan metabolisme besi (defisiensi besi, dan gangguan distribusi besi). Gangguan distribusi besi seringkali disebabkan oleh tumor, infeksi atau peradangan kronis (*chronic inflammations*) (Klaus Kraemer and Zimmermann 2007; Wick, Pinggera, and Lehmann 2011).

Kekurangan besi dianggap sebagai penyebab anemia paling umum di dunia. Selain itu dapat juga disebabkan kekurangan gizi lainnya, seperti asam folat, vitamin B12 dan vitamin A, peradangan akut dan kronis, infeksi parasit, dan kelainan bawaan yang mempengaruhi sintesis dan produksi hemoglobin serta kelangsungan hidup sel darah merah (WHO 2011a). Kekurangan asupan besi dapat menyebabkan gangguan metabolik yang bersifat kronis, termasuk peluruhan mitokondria, kerusakan DNA (*deoxyribonucleate acyd*), kromosom, penuaan sel dan bahkan dapat memicu terjadinya kanker. Kerusakan DNA yang berakibat timbulnya penyakit merupakan konsekuensi dari respon alokasi triase terhadap kekurangan mikronutrisi (Bruce. 2006).

an hati menginduksi produksi hepcidin, dapat menyebabkan dan defisiensi besi pada beberapa pasien gagal jantung (Suzuki



et al. 2014). Anemia yang disebabkan oleh penyakit degeneratif, seperti diabetes militus (DM), umumnya karena kelebihan mengonsumsi makanan kaya energi, tetapi miskin gizi mikro (Grossman et al. 2014), dan pendarahan (Ranucci et al. 2013). Anemia gizi besi pada anak usia sekolah umumnya disebabkan kurangnya mengonsumsi makanan yang kaya besi, asam folik dan terlalu seringnya meminum teh dan kopi (Ramachandran et al. 2015). Rendahnya asupan gizi merupakan faktor determinan yang signifikan sebagai penyebab defisiensi besi (Thomas et al. 2015).

Demikian halnya anemia dapat disebabkan oleh berbagai penyakit kronis. Pasien kanker yang prevalensinya mencapai kisaran 32-60% (Aapro et al. 2012; Wilson et al. 2017; Beale, Penney, and Allison 2005), 80% diantaranya mengalami anemia (Beale, Penney, and Allison 2005). Demikian halnya pada pasien kanker pankreas (63.2%), colorectal (51.9%) dan paru-paru (50.7%) (Ludwig et al. 2013), umumnya mengalami defisiensi besi, termasuk setelah pasca operasi (*postoperative complication rate*) (Wilson et al. 2017). Bahkan di Spanyol, sekitar 60.2% pasien tanpa anemia mengalami anemia selama menjalani pengobatan (de Castro et al. 2014). Demikian halnya anemia terjadi pada wanita postmenopaus (Ioannou et al. 2002), pasien penyakit ginjal kronis dengan diabetes militus (Robles et al. 2018), pasien obesitas (Yu et al. 2016), dan ginjal kronis (Zapora-Kurel et al. 2017).



3. Faktor risiko anemia gizi besi

Faktor risiko anemia gizi besi (AGB) meliputi rendahnya kadar besi dalam bahan makanan, kemampuan sosial-ekonomi, umur, pendidikan, jarak kelahiran, riwayat pendarahan, keluarga besar, wilayah terpencil, kecacingan, periode kehamilan, pengetahuan anemia selama kehamilan, dan kemampuan memilih bahan makanan (Klaus Kraemer and Zimmermann 2007; Noronha et al. 2010) (Kounnavong et al. 2011). Kadar besi yang rendah dari makanan selain dapat menimbulkan anemia, juga dapat menyebabkan penurunan kadar trigliserida plasma, hemoglobin, dan kolesterol (Marquez-Ibarra et al. 2016). Wanita yang kehilangan cadangan besi (SF <12 micro-g/L) selama kehamilan memiliki resiko anemia dua kali lebih besar (Ru et al. 2016).

4. Mekanisme terjadinya anemia gizi besi

Anemia defisiensi besi terjadi ketika absorpsi besi tidak cukup untuk dibawa ke sel-sel hematopoitik sumsum tulang untuk membentuk sel darah merah. Volume darah orang dewasa rata-rata 5 liter dengan kadar eritrosit $5 \times 10^6/\mu\text{L}$, membentuk 2.5×10^{13} eritrosit. Eritrosit dapat bertahan hidup hingga 120 hari, dan dibutuhkan sekitar 2×10^{11} eritrosit baru setiap hari untuk memenuhi kebutuhan eritrosit. Oleh karena itu, untuk keperluan ini, sekitar 20–30% sel stem modulla mengalami

asi menjadi sel eritrosit. Ketika sel darah merah didegradasi, daur ulang besi (*recycle*) dan disimpan. Namun apabila besi



yang dibutuhkan tubuh melebihi jumlah yang tersedia, tubuh dapat menggunakan cadangan besi (ferritin) untuk membentuk sel darah merah secara normal, tetapi bilamana cadangan ini terus digunakan maka akan kehilangan persediaan besi sehingga terjadi abnormalitas pembentukan sel darah merah atau hemoglobin (Wick, Pinggera, and Lehmann 2011; Lachowicz et al. 2014).

5. Indikator anemia gizi besi

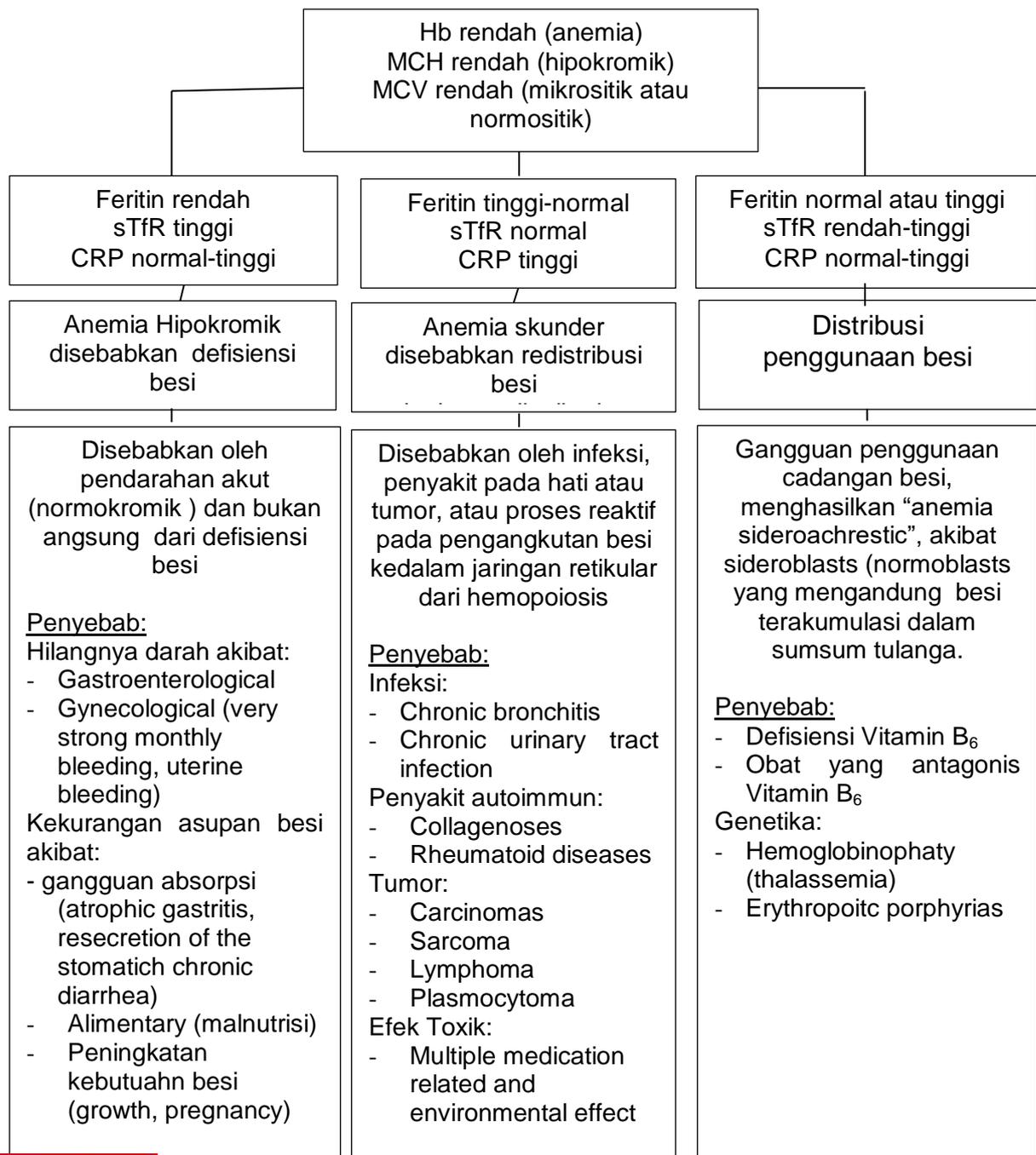
Anemia adalah suatu kondisi dimana jumlah sel darah merah yang kapasitas sebagai pembawa oksigen dari paru-paru ke jaringan tidak mencukupi untuk memenuhi kebutuhan fisiologis tubuh. Kebutuhan fisiologis spesifik bervariasi menurut usia, jenis kelamin, ketinggian tempat tinggal di atas permukaan laut, perilaku merokok, dan perbedaan tahap kehamilan (WHO 2011a).

Konsentrasi hemoglobin dan beberapa indikator lain dapat digunakan untuk membedakan anemia defisiensi besi dengan anemia kronis akibat penyakit degeneratif. Konsentrasi serum ferritin (SF) juga dapat digunakan sebagai indikator determinan defisiensi besi, dimana konsentrasi SF yang rendah menggambarkan keadaan penurunan cadangan besi (Daru et al. 2017). Penggunaan indikator ini terhadap kasus anemia gizi besi (AGB) pada wanita, hasilnya tidak pernah melebihi

Langkan penggunaan sTfR pada anak, AGB dapat mencapai 20%
nya 10% bilamana digunakan ferritin. Defisiensi folate, B₁₂, dan



vitamin A hanya menghasilkan kurang dari 5% (Harvey-Leeson et al. 2016).



: Diagnosis anemia hipokromik (Wick, Pinggera, and Lehmann 2011)
 = Hemoglobin content of erythrocytes (*mean cellular hemoglobin*),
 = *mean cellular volume of erythrocytes*, CRP: C-reactive protein,
 (MC)= *mean cellular hemoglobin concentration*

Anemia gizi besi pada orang sehat dapat diindikasikan dengan menurunnya kadar feritin dan meningkatnya kadar *soluble transferrin receptor* (sTfR) dalam plasma darah. Diagnosis anemia hipokromik (anemia yang disebabkan defisiensi besi) dapat dilakukan seperti tercantum dalam Gambar 1 (Wick, Pinggera, and Lehmann 2011).

Menurut World Health Organization (WHO), anemia terjadi bilamana kadar hemoglobin kurang dari 12 g/dL untuk perempuan dan kurang dari 13 g/dL untuk pria (Zakai et al. 2005). Kategori anemia berdasarkan kadar hemoglobin disajikan pada Table 1.

Tabel 1: Kategori anemia berdasarkan kadar hemoglobin (g/L)(WHO 2011b)

No	Populasi	Non Anemia	Anemia		
			Ringan	Sedang	Berat
1	Anak 6-59 bulan	≥110	100-109	70-99	<70
2	Anak 5-11 tahun	≥115	110-114	80-109	<80
3	Anak 12-14 tahun	≥120	110-119	80-109	<80
4	Wanita tidak hamil ≥15 tahun	≥120	110-119	80-109	<80
5	Wanita hamil	≥110	100-109	70-99	<70
6	Pria ≥15 tahun	≥130	110-129	80-109	<80

Selain kadar hemoglobin plasma darah, juga digunakan indikator lain untuk membedakan anemia gizi besi dengan anemia kronis terkait dengan penyakit degeneratif. Hepcidin pada anemia penyakit ginjal kronis

(Derek et al. 2013).



B. Tinjauan tentang Sumber, Absorpsi, Distribusi, dan Penyimpanan Besi dalam Tubuh Manusia

1. Makanan sumber zat besi

Sumber makanan yang mengandung kadar besi heme yang relatif tinggi, meliputi daging dan makanan laut. Sedangkan sumber besi non-heme meliputi kacang-kacangan, sayuran, roti, sereal, dan produk biji-bijian lainnya. Air susu ibu (ASI) mengandung kadar besi yang cukup tinggi tetapi tidak cukup untuk memenuhi kebutuhan anak yang berusia lebih dari 4-6 bulan. Bioavailabilitas besi yang berasal dari campuran daging, makanan laut dan vitamin C (asam askorbat, yang meningkatkan bioavailabilitas zat besi nonheme) sekitar 14- 18% dan 5-12% dari diet vegetarian. Suplemen besi yang umum digunakan adalah garam besi ferro (Fe^{2+}) dan ferri (Fe^{3+}), seperti ferro sulfat, ferro glukonat, ferri sitrat, dan ferri sulfat. Senyawa ini digunakan karena kelarutan dalam makanan relatif lebih tinggi daripada besi ferri. Bentuk lain dari suplemen besi, seperti besi heme polipeptida, besi karbonil, besi-asam amino, dan kompleks besi-polisakarida memiliki efek negatif terhadap gastrointestinal yang lebih ringan dibanding garam ferro atau ferri. Suplemen besi dosis tinggi dapat menyebabkan efek negatif terhadap gastrointestinal, seperti mual dan sembelit (NIH 2010).



2. Absorpsi besi dalam tubuh manusia

Besi merupakan unsur penting sebagai biokatalis pada pembentukan hemoglobin dan sitokrom dalam tubuh manusia. Kandungan zat besi dalam makanan yang dapat diserap oleh tubuh sekitar 10% atau 1 mg per hari. Rerata asupan besi hanya sekitar 0.25‰ (*part per thousand*) dari total besi tubuh (4 g). Besi dalam makanan umumnya dalam bentuk Fe^{3+} atau heme. Besi Fe^{3+} akan direduksi oleh *ferric reductase (duodenal cytochrome b)* menjadi Fe^{2+} , kemudian diangkut melewati membran sel oleh *ferrous iron transporter* (divalent metal transporter 1, DMT1). Selanjutnya Fe^{2+} terikat dengan feritin di dalam sel membentuk kompleks Fe^{2+} -feritin. Namun sebelum zat besi diekspor ke dalam plasma darah oleh *ferroportin*, Fe^{2+} terlebih dahulu dioksidasi menjadi Fe^{3+} oleh endooksidase, kemudian Fe^{3+} diikat oleh transferin plasma. DMT1 diekspresikan dalam ginjal, hati, otak, dan jantung. Anemia gizi besi dan hipoksia mendorong peningkatan laju sintesis transferin dan DMT1 yang bermanfaat untuk meningkatkan penyerapan dan kapasitas transportasi (Wick, Pinggera, and Lehmann 2011).

Penyerapan zat besi oleh tubuh manusia dibatasi oleh bentuk fisika-kimia dan fisiologi dari ion besi. Faktor-faktor penghambat absorpsi besi, yakni: rendahnya produksi asam lambung, rendahnya ketersediaan ion besi divalent (Fe^{2+}), rendahnya kadar senyawa pereduksi asam

dalam makanan, atau terbentuknya kompleks akibat konsumsi teh yang berlebihan. Sebaliknya, absorpsi besi dapat



ditingkatkan dengan meningkatkan suplai besi-heme (*heme-bound iron*) dan asam dari makanan (Wick, Pinggera, and Lehmann 2011).

3. Inhibitor serapan besi dalam tubuh manusia

a. Asam fitat

Senyawa fitat (*myo-inositol hexakisphosphate*) adalah penghambat utama penyerapan zat besi dari makanan yang bersumber dari nabati. Hasil penelitian menunjukkan bahwa efek negatif dari fitat pada penyerapan besi tergantung pada dosis. Rasio konsentrasi fitat terhadap zat besi 1: 1 atau lebih menghasilkan penyerapan besi yang lebih baik, 0,4 : 1 secara signifikan meningkatkan penyerapan zat besi dari makanan yang berupa sereal atau makanan berbahan dasar kacang-kacangan yang tidak mengandung penambah penyerapan zat besi, atau, 6: 1 dalam makanan komposit dengan sayuran tertentu yang mengandung asam askorbat dan daging sebagai peningkat. Namun demikian kandungan fitat dari nabati dapat direduksi melalui berbagai metode pengolahan, antara lain: penggilingan, perlakuan panas, perendaman, perkecambahan, dan fermentasi. Penambahan fitase eksogen atau aktivasi selama pemrosesan bahan makanan sebelum dikonsumsi manusia, juga telah terbukti meningkatkan penyerapan zat besi secara signifikan (Hurrell and Egli 2010a).



b. Polifenol

Polifenol ditemukan dalam berbagai jenis bahan makanan dan minuman yang bersumber dari tumbuhan, seperti sayuran, buah, sereal dan kacang-kacangan, teh, kopi, dan anggur. Efek penghambat polifenol pada penyerapan zat besi telah ditunjukkan pada teh hitam dan teh herbal. Polifenol dari teh hitam lebih menghambat daripada polifenol dari teh herbal dan anggur. Cabai lebih menghambat penyerapan zat besi pada wanita, meskipun kunyit mengandung lebih banyak polifenol dari pada cabai. Demikian halnya polifenol pada sorgum dan kacang-kacangan meningkatkan efek penghambatan dari fitat terhadap absorpsi zat besi. Apabila terjadi degradasi fitat secara lengkap, maka penyerapan besi dari sorgum yang kandungan polifenolnya relatif rendah akan meningkat secara signifikan, sedangkan penyerapan besi dari sorgum dengan polifenol tinggi tidak meningkat. Namun demikian, dibutuhkan studi lebih lanjut untuk mengetahui pengaruh polifenol pada kacang-kacangan dan sereal yang banyak dikonsumsi manusia, seperti kacang biasa (*Phaseolus vulgaris*) dan millet (Hurrell and Egli 2010a).

c. Kalsium

Kalsium memiliki efek negatif pada absorpsi besi non-heme dan heme, berbeda dari inhibitor lain yang hanya mempengaruhi penyerapan

non-heme. Efek penghambatan terjadi pada absorpsi kedua zat besi selama pengangkutan besi melintasi membran basolateral



dari enterosit ke plasma, walaupun akhir-akhir ini disepakati bahwa penghambatan hanya berlangsung selama awal penyerapan ke dalam enterosit. Efek penghambatan tergantung dosis, dimana dosis 75-300 mg kalsium menjadi penghambat ketika ditambahkan ke roti dan dosis 165 mg kalsium dari produk susu. Hasil studi penambahan 200 mg kalsium ke dalam makanan uji berbasis jagung tidak memiliki efek signifikan pada penyerapan zat besi dari NaFeEDTA. Berdasarkan uji dari berbagai jenis makanan dan konsentrasi inhibitor dan senyawa pengikat lainnya diketahui bahwa kalsium hanya memiliki efek terbatas pada penyerapan zat besi (Hurrell and Egli 2010a).

d. Protein

Daging (jaringan hewan) memiliki efek peningkatan absorpsi zat besi nonheme, tetapi protein hewani yang berupa protein susu, protein telur, dan albumin dapat menghambat penyerapan zat besi. Terdapat 2 (dua) fraksi utama protein susu sapi, yakni kasein dan whey, dan putih telur juga menghambat penyerapan zat besi pada manusia. Demikian halnya protein dari kedelai juga mengurangi penyerapan zat besi. Fitat terbukti menjadi penghambat utama dalam isolat protein kedelai, bahkan setelah degradasi fitat secara sempurna pun, isolat protein kedelai dapat menghambat absorpsi zat besi walaupun daya hambatnya lebih rendah

g putih telur. Bahkan isolat protein kedelai yang telah dihidrolisis ekstensif oleh enzim dan fitat terdegradasi dapat menghambat zat besi hingga 19 kali lipat. Para penulis menyimpulkan bahwa



gugus fitat dan protein terkait yang terkandung dalam fraksi conglycinin adalah penghambat utama penyerapan zat besi dalam protein kedelai (Hurrell and Egli 2010a).

4. Pemicu serapan besi dalam tubuh manusia

a. Asam askorbik

Studi radioisotop pada sukarelawan yang diberi makan sekali telah menunjukkan secara signifikan efek peningkatan dosis asam askorbat alami atau tambahan terhadap penyerapan zat besi. Efek meningkatkan sebagian besar karena kemampuannya untuk mereduksi besi ferri menjadi besi ferrous dan juga karena potensinya untuk mengikat besi. Asam askorbat akan mengatasi efek negatif pada penyerapan zat besi dari semua inhibitor, seperti fitat, polifenol, kalsium dan protein dalam produk susu, dan akan meningkatkan penyerapan besi alami dan fortifikasi. Pada buah dan sayuran, efek asam askorbat untuk peningkatan absorpsi seringkali dihambat oleh efek inhibitor polifenol. Asam askorbat adalah satu-satunya penambah penyerapan utama dalam diet vegetarian, dan penyerapan zat besi dari makanan vegetarian dan vegan dapat dioptimalkan dengan memasukkan sayuran yang mengandung asam askorbat. Cara memasak, proses industri, dan penyimpanan bahan makanan seringkali dapat menurunkan asam askorbat dan

menurunkan efek peningkatannya pada penyerapan zat besi karena penurunan asam askorbat kurang sensitif terhadap panas dan



oksigen, seperti ascorbil palmitat dan asam eritorbik. Adapaun vitamin C, diketahui memiliki efek peningkatan absorpsi penyerapan zat besi dua kali lipat lebih besar dibanding asam askorbat. Kelimpahan senyawa tersebut dalam makanan, mungkin menjadi alasan mengapa belum banyak informasi yang jelas tentang efek peningkatan dari vitamin C pada absorpsi zat besi berbasis multi-makanan dari diet yang umumnya dikonsumsi masyarakat (Hurrell and Egli 2010a).

b. Protein daging

Studi radioisotop terhadap sukarelawan yang diberi sekali makan telah secara konsisten menunjukkan efek peningkatan daging, ikan atau unggas pada penyerapan zat besi dari makanan vegetarian, 30 g jaringan otot dianggap setara dengan 25 mg asam askorbat. Penambahan daging ayam, daging sapi, atau ikan ke tepung jagung meningkatkan penyerapan zat besi non-heme 2–3 kali lipat. Seperti halnya asam askorbat, agak sulit untuk menunjukkan efek peningkatan daging dalam berbagai makanan dan studi diet lengkap. Namun demikian "faktor daging" diduga bukan karena fraksi peptida tunggal tetapi lebih cenderung pada banyak peptida kecil. Sedangkan protein lain, seperti myofibrillar dicerna secara baik oleh pepsin di perut sehingga dapat mengikat zat besi dan mencegah pengendapannya pada pH duodenum. Sementara L-a-gliserofosfokolin

meningkatkan absorpsi zat besi pada wanita yang mengonsumsi yang rendah inhibitor. Efek peningkatan L-a-gliserofosfokolin tidak hasi pada wanita yang mengonsumsi makanan jagung fitat tinggi,



meskipun penyerapan zat besi dari makanan ini meningkat oleh asam askorbat (Hurrell and Egli 2010a).

5. Sirkulasi besi dalam tubuh manusia

Transferin berperan sangat penting untuk sirkulasi besi dalam tubuh manusia. Transferin disintesis di hati dan waktu paruhnya dalam darah mencapai 8–12 hari. Konsentrasi transferin selalu berada dalam kisaran 2.0 - 4.0 g/L, dan perubahan kejenuhan transferin terhadap konsentrasi ion besi tergantung kebutuhan dan asupan besi dari makanan setiap hari. Kompleks Fe^{3+} -transferin diikat oleh reseptor transferin sel target pada organ sehingga memungkinkan pengambilan besi menurut kebutuhan sel. Setiap molekul transferin dapat mengikat 2 ion Fe^{3+} (1.41 μg per mg transferin). Total besi yang terikat transferin dalam plasma darah orang dewasa sehat hanya sekitar 4 mg, atau 1‰ (*part per thousand*) dari total besi tubuh (4 g). Laju pengembalian besi secara internal yang dihasilkan dari degradasi eritrosit, sekitar 20–25 mg per hari, lebih tinggi dari asupan dan ekskresi besi harian. Setiap individu membutuhkan sintesis hemoglobin, myoglobin, dan enzim baru yang dapat terpenuhi dari resikluasi besi yang ada dalam tubuh (Wick, Pinggera, and Lehmann 2011).



1) Penyimpanan besi dalam tubuh manusia

Zat besi dalam tubuh dapat tersimpan sebagai:

a. Feritin

Besi disimpan dalam bentuk feritin atau *semi-crystalline condensation product hemosiderin* di dalam hati, limpa (spleen), dan sumsum tulang. Setiap sel memiliki kemampuan menyimpan kelebihan besi melalui sintesis feritin. Umumnya feritin yang disintesis dilepas ke dalam plasma darah, sehingga konsentrasi feritin dalam plasma menggambarkan ketersediaan besi, kecuali terjadi gangguan distribusi besi. Hubungan ketersediaan besi dengan feritin serum dapat diprediksi dengan menggunakan pendekatan:

“1 ng/mL ($\mu\text{g/L}$) feritin serum ekuivalen dengan 10 mg cadangan besi (Wick, Pinggera, and Lehmann 2011)”.

Pendekatan ini bukan hanya digunakan untuk mengestimasi jumlah yang dibutuhkan untuk menggantikan selama terjadi defisiensi tetapi juga digunakan untuk mengestimasi kelebihan besi. Kandungan feritin plasma darah bervariasi antara 10 dan 200 μg per liter (*iron overload*) (Wick, Pinggera, and Lehmann 2011) (Jacobs, Miller, Worwood, Beamish, and Wardrop, 1972) (Walters, Miller, and Worwood 1973).



Tabel 2: Cadangan besi berdasarkan konsentrasi feritin serum (Wick, Pinggera, and Lehmann 2011)

No	Cadangan besi	Feritin Serum ($\mu\text{g/L}$)			
		< 5 Tahun		>5 Tahun	
		Pria	Wanita	Pria	Wanita
1	Cadangan besi terkuras (<i>Depleted Iron Stores</i>)	<12	<12	<15	<15
2	Cadangan besi menurun akibat infeksi	<30	<30		
3	Kelebihan besi yang berisiko			>200	>150

Kisaran normal konsentrasi ferritin serum ($\mu\text{g/L}$) orang dewasa menurut jenis kelamin disajikan dalam Tabel 3. (WHO 2014).

Tabel 3: Konsentrasi feritin normal ($\mu\text{g/L}$) menurut jenis kelamin dan kelompok umur (Worwood)

Kelompok Umur (Tahun)	Ukuran Sampel	Pria			Perempuan			
		Rerata Konsentrasi Feritin serum ($\mu\text{g/L}$)	Persentil 5 th	Persentil 95 th	Ukuran Sampel	Rerata Konsentrasi Feritin serum ($\mu\text{g/L}$)	Persentil 5 th	Persentil 95 th
18-24	107	80	15	223	96	30	5	73
25-34	211	108	21	291	226	38	5	65
35-44	202	120	21	329	221	38	5	108
45-54	166	138	21	395	177	60	5	217
55-64	140	143	22	349	162	74	12	199
65-74	127	140	12	374	138	91	7	321
	80	110	10	309	99	77	6	209
	1033	121	16	328	1119	56	5	170



b. Transferin

Selain itu kejenuhan transferin juga dapat digunakan sebagai langkah awal untuk skrining hemokromatosis herediter. Defisiensi besi menyebabkan penurunan kadar besi (SI) serum dan peningkatan kadar transferin (TIBC). Kejenuhan transferin dapat diukur melalui perbandingan SI/TIBC. Setiap molekul transferin dapat mengikat 2 (dua) ion Fe^{3+} , ekuivalen 1,41 μg besi per mg transferin (Wick, Pinggera, and Lehmann 2011).

c. Transferin reseptor (TfR)

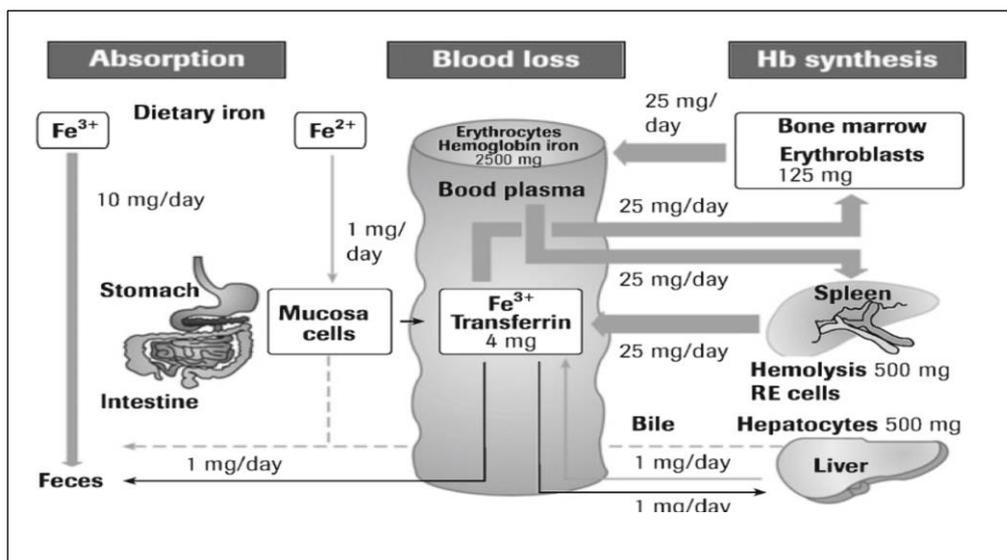
Zat besi dibawa masuk ke eritroblas (sel darah merah) dimediasi oleh interaksi transferin plasma dengan reseptor transferin (TfR) permukaan sel (Punnonen Kari , Irijala Kerttu , and Allan 1997). Peningkatan TfR serum merupakan respons sensitif selama awal terjadinya defisiensi besi. TfR meningkat secara progresif bilamana pasokan zat besi ke jaringan semakin berkurang (WHO 2001). Ketika protein transferin yang membawa ion besi mencapai transferin reseptor di permukaan sel, maka transferin reseptor mengikat protein transferin dan membawanya masuk ke dalam sel. Selanjutnya transferin melepaskan 2 (dua) ion Fe^{3+} ke dalam sitoplasma. *Soluble transferrin receptor* (sTfR) menggambarkan total transferin reseptor (TfR) yang terikat pada

in plasma (Wick, Pinggera, and Lehmann 2011).



2) Distribusi besi dalam tubuh manusia

Total besi yang terkandung dalam hemoglobin eritrosit mencapai 2500 mg, myoglobin dan berbagai enzim (400 mg). Apabila suplai besi cukup (pria dan wanita postmenopause), maka seperempat sebagai feritin (800–1200 mg) tersimpan di hati, limpa, dan sumsum tulang. Hanya sekitar 4 mg total besi tubuh terikat transferin untuk transport besi dalam plasma darah (Gambar 2) (Wick, Pinggera, and Lehmann 2011) (WHO 2001).



Gambar 2: Keseimbangan Besi dalam Tubuh manusia

3) Kebutuhan dan keseimbangan besi

Pada saat lahir normal, kadar zat besi tubuh sekitar 75 mg/kg, dua kali lipat dari kandungan besi pria dewasa. Selama 6 bulan pertama, kadar zat besi sedikit meningkat dan pemberian ASI (air susu ibu) eksklusif cukup untuk menjaga keseimbangan secara optimal.



Setelah itu, peningkatan kadar besi sangat tergantung dari makanan tambahan (MPASI) yang diperoleh anak. Sementara faktor yang dapat menyebabkan kekurangan gizi besi pada bayi antara lain: kehilangan darah, tingginya laju pertumbuhan postnatal, dan rendahnya bioavailabilitas besi makanan (Faldella et al. 2003). Pemenuhan kebutuhan zat besi, selain bersumber dari makanan, juga dihasilkan dari degradasi sel darah merah (*erythrocytes*), yakni sekitar 20–25 mg per hari. Namun demikian besi dalam tubuh pria dan wanita postmenopaus yang sehat kehilangan sekitar 1 mg besi per hari melalui usus halus, urin, dan keringat. Wanita menstruasi kehilangan 30–60 mL darah yang mengandung sekitar 15–30 mg besi setiap bulan. Kebutuhan besi mencapai 5 mg per hari untuk remaja, wanita hamil, dan donor darah. Wanita hamil membutuhkan tambahan besi hingga 7 mg per hari (Wick, Pinggera, and Lehmann 2011).

C. Tinjauan tentang Defisiensi zat besi

Defisiensi zat besi umumnya berkaitan dengan diet gizi rendah (poor diet), gangguan penyerapan, dan kekurangan darah dan umumnya orang yang mengalami defisiensi besi juga mengalami defisiensi gizi lainnya. World Health Organization mengestimasi bahwa sekitar setengah dari 1.62 milyar kasus anemia di seluruh dunia diakibatkan oleh defisiensi

negara sedang berkembang, defisiensi besi seringkali dihasilkan oleh infeksi parasit dan kekurangan darah sebagai akibat adanya infeksi parasit dalam sistem pencernaan (gastrointestinal parasites).



Menurut (Wick, Pinggera, and Lehmann 2011), penyebab defisiensi besi adalah:

- 1) Peningkatan kebutuhan fisiologi: fase pertumbuhan, menstruasi, kehamilan, dan menyusui.
- 2) Kehilangan darah:
 - (a) Gastrointestinal: esofagus, varises, ulcers, implamasi, dan malformasi (pembuluh darah)
 - (b) Urogenital: Hipermenorea, melahirkan, tumor saluran urin, dan calculi
 - (c) Iatrogenik: pemeriksaan laboratorium, obat-obatan, dan donor darah
- 3) Malabsorpsi: sprue, bedah ulang lambung (*gastric resection*), gastritik atrofik kronis (*chronic atrophic gastritis*), dan obat-obatan
- 4) Ketidacukupan suplai: diet tidak berimbang, umur, dan vegetarian baru.

Hasil studi terhadap 4,983 wanita usia reproduksi pada wilayah pedesaan di Vietnam ditemukan bahwa kasus defisiensi mikronutrien terutama disebabkan karena ketidacukupan asupan dan rendahnya kualitas bioavailabilitas mikronutrien, terutama yang bersumber dari tepung. Rendahnya kadar zat besi dalam bahan makanan menjadi salah

faktor risiko terbesar penyakit anemia (Klaus Kraemer and Lehmann 2007).



Menurut National of Health (NIH 2010), kehilangan dan kekurangan besi terjadi melalui beberapa tahapan:

- 1) Defisiensi sedang atau hilangnya cadangan besi: Konsentrasi ferritin serum dan kadar besi dalam sumsum tulang berkurang.
- 2) Defisiensi marginal, defisiensi fungsional sedang, atau defisiensi besi- erythropoiesis (erythrocyte production): Cadangan besi menghilang, suplai besi ke sel erythropoietic dan kejenuhan transferin menurun, tetapi kadar hemoglobin biasanya masih berada pada kisaran normal.
- 3) AGB: Cadangan besi dihabiskan; hematocrit dan kadar hemoglobin menurun; dan menimbulkan microcytic, anemia hypochromic yang dicirikan oleh adanya sel darah merah berukuran kecil dengan konsentrasi hemoglobin yang rendah.

1. Kelompok berisiko defisiensi besi

Menurut National Institute of Health (NIH 2010), kelompok yang berpotensi mengalami kekurangan asupan zat besi.

a. Wanita hamil

Selama kehamilan, volume plasma dan massa sel darah merah meningkat karena peningkatan dramatis dalam produksi sel darah merah

Sebagai hasil dari ekspansi ini dan untuk memenuhi kebutuhan janin in utero, jumlah zat besi yang dibutuhkan wanita meningkat selama



kehamilan. Kekurangan zat besi selama kehamilan meningkatkan risiko kematian ibu dan bayi, kelahiran prematur, dan berat badan lahir rendah.

Asupan zat besi yang tidak mencukupi selama kehamilan meningkatkan risiko wanita terkena AGB. Asupan rendah besi juga meningkatkan risiko kelahiran bayi dengan berat badan lahir rendah, kelahiran premature dengan cadangan zat besi rendah, yang selanjutnya dapat menimbulkan gangguan perkembangan kognitif dan perilaku anak. Analisis data tahun 1999–2006 dari Survei Pemeriksaan Kesehatan dan Gizi Nasional (NHANES) menemukan bahwa 18% wanita hamil di Amerika Serikat mengalami kekurangan zat besi. Tingkat defisiensi adalah 6,9% di antara wanita pada trimester pertama, 14,3% pada trimester kedua, dan 29,7% pada trimester ketiga (NIH 2010).

b. Bayi dan anak-anak

Bayi terutama mereka yang lahir prematur atau dengan berat badan lahir rendah atau yang ibunya kekurangan zat besi berisiko kekurangan zat besi karena kebutuhan zat besi yang tinggi karena pertumbuhannya yang cepat. Bayi cukup bulan biasanya memiliki cadangan zat besi yang cukup dan membutuhkan sedikit zat besi dari sumber luar sampai mereka berusia 4 hingga 6 bulan. Namun, bayi memiliki risiko menjadi kekurangan zat besi pada 6 sampai 9 bulan kecuali

mendapatkan jumlah makanan padat yang kaya akan zat besi
mula yang diperkaya zat besi.



Bayi cukup bulan biasanya memiliki cadangan zat besi yang cukup untuk sekitar 4 sampai 6 bulan pertama, tetapi risiko defisiensi zat besi pada bayi berat lahir rendah dan bayi prematur dimulai saat lahir karena cadangan zat besi yang rendah. AGB pada masa bayi dapat menyebabkan efek kognitif dan psikologis yang merugikan, termasuk keterlambatan perhatian dan penarikan sosial, bahkan beberapa efek ini tidak dapat diubah.

Bayi yang mendapat ASI yang menerima zat besi tidak cukup (kurang dari 1 mg / kg / hari) dari makanan tambahan pada usia 6 bulan harus menerima tambahan asupan besi 1 mg / kg / hari. Formula bayi standar yang mengandung 10 hingga 12 mg / L zat besi dapat memenuhi kebutuhan zat besi bayi untuk tahun pertama kehidupan. WHO merekomendasikan suplementasi universal dengan 2 mg / kg / hari zat besi pada anak usia 6 hingga 23 bulan yang dietnya rendah zat besi, terutama di negara berkembang dengan prevalensi anemia lebih dari 40% (NIH 2010).

c. Wanita menstruasi dengan pendarahan berat

Wanita usia reproduksi yang mengalami menoragia, atau perdarahan hebat yang tidak normal selama menstruasi, berisiko lebih tinggi mengalami defisiensi besi. Setidaknya 10% wanita menstruasi

mengalami menoragia, tetapi persentasenya sangat bervariasi tergantung pada kriteria diagnostik yang digunakan. Wanita dengan menoragia mengalami kehilangan zat besi secara signifikan lebih banyak per siklus



menstruasi rata-rata daripada wanita dengan perdarahan menstruasi normal. Menoragia menyebabkan sekitar 33- 41% kasus IDA pada wanita usia reproduksi.

d. Frekuensi donor darah

Donor darah reguler berpotensi mengalami risiko defisiensi zat besi hingga 25 -35%. Dalam sebuah penelitian terhadap 2.425 donor darah, pria yang telah memberikan setidaknya tiga dan wanita yang telah memberikan setidaknya dua kali donor darah pada tahun yang sama berpotensi mengalami kehabisan cadangan besi.

e. Pasien kanker

Penyakit peradangan, infeksi, dan neoplastik tertentu, seperti rematik artritis, penyakit radang usus, dan keganasan hematologis dapat menyebabkan anemia penyakit kronis atau anemia peradangan. Anemia penyakit kronis adalah jenis anemia yang paling umum kedua setelah AGB. Pada orang dengan anemia penyakit kronis, sitokin inflamasi meningkatkan hormon hepcidin. Akibatnya, homeostasis besi terganggu dan besi dialihkan dari peredaran ke tempat penyimpanan, sehingga membatasi jumlah zat besi yang tersedia untuk eritropoiesis. Anemia penyakit kronis biasanya termasuk kategori ringan sampai sedang (kadar hemoglobin 8 hingga 9,5 g / dL) dan memiliki hubungan dengan jumlah

yang rendah dan penurunan eritropoiesis. Kondisi ini bisa sulit didiagnosis karena walaupun kadar feritin serum rendah yang



biasanya menunjukkan kekurangan zat besi, tetapi kadar ini cenderung lebih tinggi pada pasien dengan infeksi atau peradangan. Anemia ringan dari penyakit kronis seringkali dikaitkan dengan peningkatan risiko rawat inap dan kematian pada orang tua. Dua studi observasional prospektif menemukan bahwa kekurangan zat besi pada pasien gagal jantung yang diukur secara objektif memiliki berhubungan dengan peningkatan risiko transplantasi jantung dan kematian. Namun demikian, analisis data NHANES pada 574 orang dewasa dengan gagal jantung telah melaporkan bahwa tidak menemukan hubungan antara kekurangan zat besi dan semua penyebab atau mortalitas kardiovaskular. Penggunaan suplemen zat besi baik oral, intravena, atau parenteral merupakan suatu hal yang kontroversial karena dapat meningkatkan risiko infeksi dan kejadian kardiovaskular dan dapat menyebabkan kerusakan jaringan (NIH 2010).

Sekitar 60% pasien kanker usus besar memiliki kekurangan zat besi pada saat diagnosis, yang diduga karena kehilangan darah kronis. Prevalensi defisiensi besi pada pasien dengan jenis kanker lain berkisar 29-46%. Penyebab utama defisiensi besi pada orang dengan kanker adalah anemia penyakit kronis dan anemia yang diinduksi kemoterapi. Namun, kehilangan darah kronis dan defisiensi gizi lain, akibat anoreksia yang diinduksi kanker dapat memperburuk defisiensi zat besi.



f. Gangguan gastrointestinal

Orang dengan gangguan pencernaan tertentu, seperti penyakit seliaka, kolitis ulserativa, dan penyakit crohn atau yang telah menjalani prosedur bedah gastrointestinal tertentu (gastrektomi atau reseksi usus) dan adanya gangguan atau pembatasan diet selama proses pembedahan atau akibat malabsorpsi besi atau kehilangan darah di saluran pencernaan memiliki peningkatan risiko defisiensi besi. Kombinasi dari asupan zat besi yang rendah dan kehilangan zat besi yang tinggi dapat menyebabkan keseimbangan zat besi yang negatif; mengurangi produksi hemoglobin; atau anemia mikrositik-hipokromik.

g. Penderita gagal jantung

Sekitar 60% kasus gagal jantung kronis memiliki kekurangan zat besi dan 17% penderita IDA diduga memiliki keterkaitan dengan peningkatan risiko kematian. Penyebab potensial defisiensi besi pada orang dengan gagal jantung meliputi gizi yang buruk, malabsorpsi, mobilisasi cadangan zat besi yang tidak sempurna, cachexia jantung, dan penggunaan aspirin dan antikoagulan oral, yang dapat mengakibatkan hilangnya sebagian darah di saluran pencernaan.

2. Dampak defisiensi besi

Micronutrients (gizi mikro) atau trace elements merupakan mineral untuk pertumbuhan dan perkembangan tubuh manusia. Anemia defisiensi besi selama kehamilan memberikan dampak negative terhadap



ibu dan perkembangan janin (Gambling et al. 2002; Malek-mellouli et al. 2013). Defisiensi besi dapat merusak sistem kekebalan tubuh sehingga memudahkan timbulnya penyakit infeksius, menghambat perkembangan embryo dan otak janin, mempengaruhi status kognisi anak (Lachowicz et al. 2014), berdampak negatif terhadap fungsi respon batang otak pendengar (the functional response of the brain stem of listeners), meningkatkan latensi respon batang otak pendengar (the auditory brainstem response, ABR) (Greminger and Mayer-Proschel 2015). Neonatal yang mengalami defisiensi besi akan mengganggu proses DNA hippocampal dan pengaturan gen yang terlibat dalam hipoksia, angiogenesis sehingga menyebabkan perubahan perkembangan dan fungsi saraf. Mekanisme defisiensi besi pada neonatal, dalam jangka panjang akan mereduksi perkembangan kognitif anak (Schachtschneider et al. 2016).

Sebaliknya, penipisan zat besi jaringan atau anemia kronis dapat memberikan sinyal hipoksia seluler. Pada tikus yang kekurangan zat besi, hipoksia kronis menginduksi peningkatan jumlah dan kompleksitas pembuluh otak neonatal (Gambling et al. 2002). Kekurangan zat besi perinatal menyebabkan gangguan kognitif berbasis hippocampal terus menerus hingga dewasa, menurunkan ukuran hipokampus dan perubahan neurokimia di masa dewasa, perubahan neurokimia dalam mengurangi

metabolik, aktivitas neuronal, dan plastisitas pada hippocampus; fungsi hippocampal jangka panjang (Jorgenson et al. 2005).



Defisit fungsional yang terkait dengan AGB termasuk gangguan pencernaan; kelemahan; kelelahan; kesulitan berkonsentrasi; dan gangguan fungsi kognitif, fungsi kekebalan tubuh, kinerja olahraga atau kerja, dan pengaturan suhu tubuh. Pada bayi dan anak-anak, AGB dapat menyebabkan kelainan psikomotor dan kognitif yang, tanpa perawatan, dapat menyebabkan kesulitan belajar. Beberapa bukti menunjukkan bahwa efek defisiensi di awal kehidupan bertahan sampai dewasa. Karena kekurangan zat besi sering disertai dengan kekurangan nutrisi lain, tanda-tanda dan gejala kekurangan zat besi bisa sulit untuk diisolasi (NIH 2010).

a. Perkembangan otak embrio dan janin

Gizi mikro atau *trace elements* merupakan mineral esensial untuk pertumbuhan dan perkembangan tubuh manusia. Anemia defisiensi besi selama kehamilan, berdampak buruk pada ibu dan perkembangan janin (Gambling et al. 2002) (Malek-mellouli et al. 2013). Defisiensi besi menyebabkan gangguan pada sistem imun yang berakibat pada timbulnya penyakit infeksi, menghambat perkembangan otak embryo dan janin, berdampak pada status kognisi anak (Lachowicz et al. 2014), mempengaruhi respon fungsional dari batang otak pendengar, meningkatkan latensi *auditory brainstem response* (ABR) (Greminger and Roschel 2015). Kekurangan besi pada neonatal mengganggu metilasi DNA (*deoxyribonucleate acyd*) hippocampal dan regulasi yang terlibat dalam hipoksia (sel kekurangan oksigen), angiogenesis



(formasi pembuluh darah baru), yang berakibat pada perubahan fungsi dan perkembangan saraf. Mekanisme defisiensi besi pada neonatal ini, dalam jangka panjang dapat mereduksi perkembangan kognitif manusia (Schachtschneider et al. 2016). Namun sebaliknya, akumulasi besi di otak memainkan peran sentral dalam menginduksi terjadinya stres oksidatif sehingga mengakibatkan neurodegenerasi. Absorpsi zat besi di otak diketahui terjadi dua arah, tetapi jumlah yang masuk (*influx*) dan keluarnya (*efflux*) tidak seimbang sehingga dari waktu ke waktu terjadi akumulasi zat besi di otak. Hal ini yang memberi kemungkinan peran kelebihan asupan menyebabkan akumulasi besi di otak yang dapat berakibat terjadinya neurodegenerasi (Chen et al. 2014). Sebaliknya, penipisan besi jaringan atau anemia kronis dapat memberikan sinyal hipoksia seluler. Pada tikus yang kekurangan besi, hipoksia kronis menginduksi peningkatan jumlah dan kompleksitas pembuluh darah otak neonatal. Hal ini diduga karena terjadinya peningkatan sinyal angiogenik / vaskulogenik (gangguan fungsi pembuluh darah). Paling tidak, ini merupakan respons adaptif dari defisiensi besi untuk mempertahankan homeostasis substrat metabolik pada otak yang sedang berkembang. Kondisi ini akan berkontribusi terhadap hambatan perkembangan saraf (Gambling et al. 2002).



b. Gangguan perilaku selama pertumbuhan dan perkembangan anak

Menurut (Rao et al. 2011), defisiensi besi perinatal menyebabkan:

- 1) gangguan kognitif berbasis hippocampus terus-menerus hingga dewasa meskipun dilakukan suplementasi besi;
- 2) menurunkan ukuran hippocampal dan perubahan neurokimia pada usia dewasa, meskipun terjadi koreksi defisiensi besi di otak;
- 3) perubahan neurokimia yang nampak pada berkurangnya energi metabolisme, aktifitas neuron, dan plastisitas pada hippocampus; dan
- 4) disfungsi hippocampal jangka panjang

Kelambanan penanganan defisiensi besi pada janin dan awal pascakelahiran menyebabkan gangguan belajar dan memori pada manusia. Model tikus dari defisiensi besi janin menunjukkan abnormalitas struktural dan biokimia hippocampal jangka pendek dan jangka panjang (Jorgenson, Sun, O'Connor, & Georgieff , 2005).

c. Penurunan daya tahan fisik

Zat besi dapat bergabung dengan protein dan enzim sehingga dapat melakukan fungsi penting pada kinerja fisik dan neuropsikologis

(g and Murray-Kolb 2013). Selanjutnya, rendahnya kadar besi dari n menurunkan kadar trigliserida serum, hemoglobin dan pl, namun meningkatkan kadar insulin, dan toleransi glukosa.



Sebaliknya, diet besi tinggi meningkatkan kolesterol tanpa ada perubahan signifikan pada konsentrasi trigliserida (Marquez-Ibarra et al. 2016).

3. Kelebihan besi (Iron Overload)

Kelebihan zat besi dapat timbul, baik melalui peningkatan penyerapan zat besi meskipun memiliki cadangan zat besi yang memadai, atau secara introgenik sebagai akibat dari seringnya transfusi darah atau terapi zat besi yang tidak tepat. Kelebihan besi sebagai akibat dari tingginya absorpsi terjadi terutama sebagai akibat dari gangguan mekanisme umpan balik negatif, yang dalam hemochromatosis dimanifestasikan sebagai kegagalan mekanisme perlindungan dalam sel mukosa. Kondisi yang ditandai dengan eritropoiesis yang tidak efektif, seperti talasemia, porfiria, dan sideroachrestic serta anemia hemolitik yang menyebabkan peningkatan sintesis eritropoietin, reseptor transferrin, dan penyerapan zat besi, meskipun cadangan zat besi yang memadai (penggunaan zat besi untuk mensintesis hemoglobin terganggu). Sedangkan kelebihan zat besi yang disebabkan transfusi yang disertai ketidakmampuan tubuh untuk secara aktif mengeluarkan zat besi. Kedua mekanisme tersebut di atas menyebabkan kelebihan cadangan besi sehingga terjadi redistribusi zat besi ke sel parenkim di banyak organ, seperti hati, jantung, pankreas, dan gonad. Hampir semua kondisi

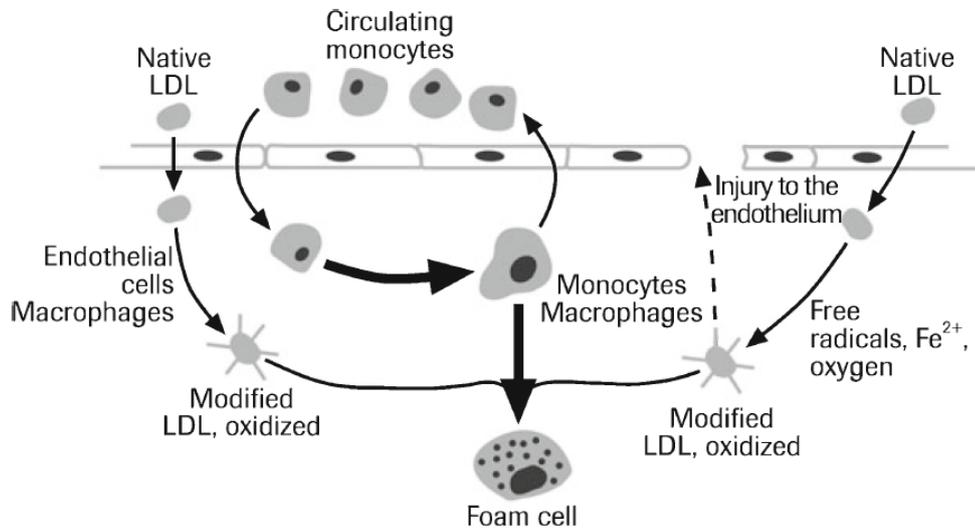
n zat besi dapat dikenali dengan peningkatan konsentrasi ferritin dan peningkatan nilai saturasi transferin. Ekspresi reseptor n dapat bervariasi, tergantung pada penyebab kelebihan zat besi,



apakah erithropoiesis meningkat atau menurun. Investigasi epidemiologis telah mengungkapkan bahwa kelebihan zat besi laten menjadi faktor risiko aterosklerosis dan diabetes tipe 2, dan peningkatan oksidasi lipoprotein densitas rendah (LDL).

Orang dewasa dengan fungsi usus normal memiliki sedikit risiko kelebihan zat besi dari sumber makanan besi. Namun, asupan zat besi lebih dari 20 mg / kg dari suplemen atau obat-obatan dapat menyebabkan sakit lambung, sembelit, mual, sakit perut, muntah, dan pingsan. Overdosis zat besi dapat menyebabkan kegagalan organ multisistem, koma, kejang, dan bahkan kematian. Di Amerika Serikat, antara tahun 1983 dan 2000, setidaknya 43 anak-anak meninggal karena menelan suplemen yang mengandung zat besi dosis tinggi (36-43 mg besi / kg berat badan). Overdosis produk mengandung zat besi adalah penyebab utama keracunan fatal pada anak di bawah 6 tahun. Hemochromatosis, penyakit yang disebabkan oleh mutasi pada gen hemochromatosis (HFE), dikaitkan dengan penumpukan zat besi yang berlebihan di dalam tubuh. Sekitar 1 dari 10 kulit putih membawa mutasi HFE paling umum (C282Y), tetapi hanya 4,4 kulit putih per 1.000 yang homozigot untuk mutasi dan memiliki hemochromatosis. Kondisi ini jauh lebih jarang terjadi pada kelompok etnis lain. Efek-efek ini dapat meliputi sirosis hati, karsinoma hepatoseluler, penyakit jantung, dan gangguan fungsi pankreas.





Gambar 3: Dampak Kelebihan Besi Terhadap Oksidasi LDL dan Pembentukan Sel Gabus

Akumulasi zat besi di otak memainkan peran sentral dalam mendorong terjadinya stres oksidatif yang mengakibatkan neurodegenerasi (Gambar 3). Penyerapan zat besi di otak diketahui terjadi dalam dua arah, tetapi jumlah yang masuk (influx) dan keluar (efflux) tidak seimbang sehingga dari waktu ke waktu terjadi akumulasi zat besi di otak. Asupan berlebih merupakan salah satu kemungkinan penyebab terjadinya akumulasi zat besi di otak yang dapat menyebabkan neurodegenerasi (Chen et al. 2014; Wick, Pinggera, and Lehmann 2011)

D. Tinjauan tentang Strategi Mengatasi Anemia

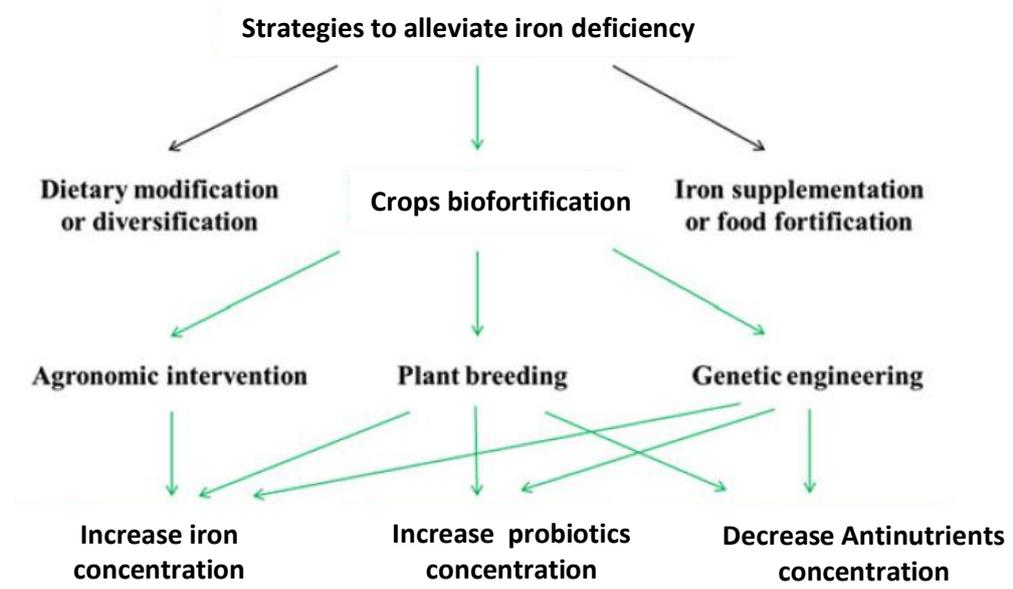
Strategi untuk menurunkan tingkat prevalensi defisiensi besi di tingkat dapat dilakukan melalui pendekatan teori *plant soil system* *action motivation theory* (PMT), sebagai berikut:



1. Plant soil-system

Strategi sistem tanah-tanaman (*plant soil system*) dapat diadopsi untuk meningkatkan gizi mikronutrien masyarakat melalui: (1) pemanfaatan genotipe mikronutrien tanaman dengan mempelajari fisiologi dan genetika aliran mikronutrien dari tanah ke bagian tanaman yang dapat dimakan; (2) meningkatkan bioavailabilitas mikronutrien melalui pengkajian yang lebih baik tentang mekanisme peningkatan produksi dan akumulasi di bagian tanaman yang dapat dimakan dan regulasi melalui sistem tanah-tanaman; (3) meningkatkan pengkajian tentang hubungan antara bioavailabilitas mikronutrien dalam tanah dan produk tanaman untuk perbaikan gizi masyarakat; (4) mengembangkan pupuk mikronutrien khusus dan teknologi pengelolaan hara terpadu untuk meningkatkan kandungan mikronutrien dalam bagian tanaman yang dapat dimakan dan bioavailabilitas mereka untuk masyarakat (Yang, Chen, and Feng 2007).





Gambar 4. Perbedaan strategi dalam upaya mereduksi prevalensi defisiensi besi pada masyarakat (Yang, Chen, and Feng 2007).

Berdasarkan pendekatan di atas (Gambar 4), maka strategi yang dapat dilakukan untuk menurunkan angka defisiensi besi masyarakat, yakni: 1) modifikasi atau diferensiasi makanan; 2) memberikan suplemen Fe atau fortifikasi; dan 3) biofortifikasi besi pada bahan makanan. Selanjutnya biofortifikasi dapat dilakukan melalui metode transgenik, pemuliaan tanaman secara konvensional, dan intervensi agronomi melalui pemberian pupuk mikronutrien (Yin and Yuan 2012). Selain itu, strategi untuk mengurangi beban penyakit anemia di masyarakat juga dapat dilakukan melalui perbaikan ekonomi keluarga, pendidikan perempuan, dan pendidikan kesehatan mengenai keseimbangan

sumsi makanan yang bersumber dari hewan dan tumbuhan (Achouri 2015), mengimplementasikan program suplementasi, fortifikasi, dan



edukasi nutrisi (Wong et al. 2014) (Luo et al. 2014), menghindari penyakit malaria, meningkatkan promosi asupan vitamin A dari sumber alam, dan pemberantasan penyakit kecacingan (Nkulikiyinka, Binagwaho, and Palmer 2015).

b. Fortifikasi

Pembentukan makanan fortifikasi dapat dilakukan dengan cara menambahkan gizi mikro pada makanan olahan. Pada banyak situasi, strategi ini dapat meningkatkan status mikronutrien yang relatif cepat dalam suatu populasi, tergantung pada harga dan jaringan distribusi. Salah satu syarat makanan yang difortifikasi adalah dikonsumsi oleh sebagian besar populasi sasaran. Makanan fortifikasi harus mendapat dukungan dari industri makanan. Fortifikasi makanan dapat memperkuat dan mendukung program perbaikan gizi yang berkelanjutan dan harus dianggap sebagai bagian dari pendekatan terpadu yang lebih luas untuk memperbaiki status mikronutrien masyarakat (Lindsay et al. 2006).

Makanan fortifikasi memberikan manfaat karena dapat diserap dengan baik oleh sistem pencernaan manusia. Hasil studi terhadap 366 dan 419 wanita hamil yang mengalami anemia ($Hb < 11g/dL$) yang diintervensi dengan tepung terigu (flour) fortifikasi di Maringa-India menunjukkan adanya perbaikan kadar Hb sebesar 12,% dan 9,4%

(Araujo et al. 2013). Demikian halnya status seng masyarakat memiliki perbaikan melalui fortifikasi tunggal, walaupun tidak signifikan perbaikan status seng serum bilamana dikombinasikan



dengan mikronutrien lain, (Shah et al. 2016; Petry, Olofin, et al. 2016). Pemberian makanan berupa susu fortifikasi, garam beryodium, suplemen vitamin A dapat menurunkan faktor risiko anemia masyarakat di Indonesia (Souganidis et al. 2012) (Semba et al. 2010) (Barth-Jaeggi et al. 2015; Shah et al. 2016).

c. Suplementasi

Suplementasi besi harian efektif mengurangi prevalensi anemia dan defisiensi besi, meningkatkan hemoglobin, meningkatkan kinerja dan mengurangi kelelahan simptomatik (Low et al. 2016). Pada situasi kadar besi makanan rendah, maka suplementasi besi dapat memperbaiki status besi jangka panjang (Kaluza and Madej 2015). Suplemen besi dapat diberikan secara tunggal atau kombinasi dengan seng (Zn). Penghentian pemberian suplemen besi atau kombinasi besi/seng sebelum waktunya dapat menimbulkan efek negatif pada hematologi, tetapi tidak pada parameter status zat besi lainnya (Mujica-Coopman et al. 2015).

d. Biofortifikasi

Biofortifikasi besi pada produk pangan belum diaplikasikan secara luas tetapi merupakan salah satu intervensi yang diperlukan di masa datang untuk menyempurnakan kualitas pangan dan mengatasi defisiensi mikronutrien pada masyarakat secara luas (Klaus Kraemer and



Zimmermann 2007). Meningkatnya kandungan mikronutrien pada tanaman pangan dapat memenuhi kecukupan mikronutrien konsumen. Biofortifikasi mikronutrien pada beras (*Oryza sativa* L.), jagung dan gandum diyakini sebagai strategi berkelanjutan untuk mengatasi defisiensi besi (Fe) dan seng (Zn) pada manusia (Moreno-Moyano et al. 2016). Biofortifikasi dihasilkan melalui tiga pendekatan, yaitu: pemuliaan tanaman, intervensi agronomi, dan rekayasa genetika:

1) Pemuliaan tanaman

Program pemuliaan tanaman berfokus pada peningkatan tingkat dan ketersediaan mineral pada tanaman pangan pokok dengan menggunakan variasi genetik alami. Pembiakan untuk meningkatkan konsentrasi zat besi dapat dibagi menjadi beberapa langkah, sebagai berikut:

- a) Identifikasi variabilitas genetik dalam kisaran yang dapat mempengaruhi nutrisi manusia;
- b) Introgressing variasi ini ke dalam genotipe *high-yielding*, *stress tolerant* yang memiliki atribut kualitas penggunaan akhir yang dapat diterima; menguji stabilitas akumulasi besi di lingkungan target; dan
- c) penyebaran benih kultivar yang ditingkatkan ke petani secara besar-besaran.



varietas tanaman padi, jagung, gandum, kacang, singkong, dan dapat dibiakkan secara selektif untuk meningkatkan kandungan

zat besinya. Jumlah besi dalam jaringan tanaman yang dapat dimakan bervariasi: beras antara 6 dan 22 mg kg⁻¹, jagung (10 dan 160 mg kg⁻¹), dan gandum (15-360 mg kg⁻¹). Meski terdapat perbedaan kandungan zat besi pada gandum dan beras, sebagian besar besi terbuang selama proses penggilingan (Yin and Yuan 2012). Hasil penelitian pada buncis (*Phaseolus vulgaris*) yang diperoleh dari hasil penyilangan mampu mengakumulasi zat besi yang cukup tinggi, tetapi memiliki senyawa inhibitor absorpsi berupa *phytic acid* (PA), dan *polyphenols* (PP). Namun, ketika buncis tersebut dikombinasikan dengan berbagai jenis tepung, maka konsentrasi PP tinggi tidak berdampak negatif terhadap absorpsi besi (Petry et al. 2012). Sedangkan manfaat buncis biofortifikasi dapat diamati dari hasil penelitian di Huye-Rwanda terhadap 195 wanita berumur antara 18-27 tahun dengan serum feritin <20 µg/L setelah diberi perlakuan buncis biofortifikasi besi mengalami peningkatan kadar hemoglobin (3.8 g/L), log serum ferritin (0.1 log µg/L), dan BI (0.5 mg/kg) secara signifikan (Haas et al. 2016) (Petry, Rohner, et al. 2016). Konsentrasi besi dari *cooked composite meals* dengan buncis biofortifikasi adalah 54% lebih tinggi dibanding dengan kontrol. Jumlah besi yang diserap dari buncis biofortifikasi (406 µg), 19% lebih tinggi dari kontrol bean meals (Petry et al. 2014). Demikian juga pada subyek yang mengalami defisiensi besi 86% (serum feritin <15 µg/L) dan 37% anemia

hemoglobin <120 g/L). Setelah mengkonsumsi buncis biofortifikasi besi 128 hari, subyek mengalami peningkatan hemoglobin secara



signifikan (3.8 g/L), log serum feritin (0.1 log mug/L). Untuk setiap mengkonsumsi 1 g Fe dari buncis selama 128 hari, terjadi peningkatan kadar hemoglobin secara signifikan 4.2-g/L (Haas et al. 2016).

2) Transgenik

Penggunaan metode transgenik untuk biofortifikasi besi terutama berfokus pada peningkatan akumulasi dan ketersediaan besi hayati (*bioavailability*), atau penurunan kandungan antinutrien pada tanaman. Untuk meningkatkan pengambilan besi dari tanah, tanaman telah dikembangkan dengan strategi berbasis pengurangan dan strategi berbasis chelasi (*reduction-based strategy and a chelation-based strategy*). Oleh karena itu, tanaman telah ditransformasi dengan gen yang mengkode transporter, reduktase, dan enzim lainnya yang terlibat dalam biosintesis *phytosiderophore* (Yin and Yuan 2012).

Dalam upaya meningkatkan kemampuan beras untuk mengatasi kondisi kekurangan besi, maka Takahashi dkk. (2001) dalam (Yin and Yuan 2012) memperkenalkan gen untuk aminotransferase nikotinamin, salah satu gen di jalur biosintesis fitosiderofora dimasukkan ke dalam beras dan telah menunjukkan ketahanan yang lebih baik terhadap klorosis besi pada tanaman transgenik yang tumbuh di tanah berkapur. Selanjutnya, hasil gabah rata-rata transforman adalah 4,1 kali lipat lebih

daripada kontrol tanaman padi. Kesuksesan terbesar telah dicapai dengan tanaman transgenik yang mengekspresikan feritin, protein penyimpanan besi yang dapat mengikat dan menyimpan mineral dan menyimpannya dalam bentuk bioavailabilitas. Feritin



kedelai rekombinan telah disisipkan ke dalam beberapa tanaman sereal di bawah kendali *endosperm-specific promoter* dan feritin kacang telah disisipkan secara konstitutif dalam padi. Hal ini meningkatkan kadar besi dalam jaringan tanaman yang dapat dimakan lebih besar dari 35 mg kg^{-1} (Yin and Yuan 2012). Biofortifikasi beras yang dilakukan dengan metode transgenik, dapat meningkatkan konsentrasi besi 3,4 kali dan seng 1,3 kali lebih besar daripada non transgenik. Sedangkan melalui rekayasa jalur biosintesis tiamin dapat meningkatkan kandungan tiamin benih beras 5 kali dibandingkan tanpa rekayasa (Aung et al. 2013) (Goyer 2016).

3) Intervensi agronomi

Intervensi agronomi merupakan pendekatan tradisional untuk meningkatkan hasil dan kualitas produksi melalui pemanfaatan pupuk anorganik, organik, dan pupuk hayati. Di dalam tanah, unsur besi terikat oleh partikel tanah sehingga mobilitasnya menjadi sangat rendah. Aplikasi pupuk FeSO_4 , akan mengkonversi Fe (II) menjadi Fe (III), sehingga menghambat penyerapan besi oleh tanaman. Beberapa upaya yang dilakukan untuk meningkatkan ketersediaan besi dalam tanah, antara lain: pemberian pupuk nitrogen dan tumpang sari (*intercropping*), penggunaan prebiotik, *chelate* dan nitrogen, aplikasi pupuk NPK (nitrogen, posfor, kalium), pengasaman tanah dengan unsur belerang, pemupukan (Yin and Yuan 2012).

lain pemamfaatn pupuk organik, penggunaan bakteri yang potensi sebagai *plant growth promotion* (PGP) juga telah mulai



dikembangkan (Tabel 4). Bakteri yang teridentifikasi sebagai PGP umumnya berasal dari genus: *Azotobacter*, *Acetobacter*, *Azospirillum*, *Burkholderia*, *Pseudomonas* dan *Bacillus*. Beberapa bakteri yang diketahui mampu melakukan fiksasi nitrogen untuk tanaman rumput-rumputan dan sereal (*grasses* dan *cereal*), termasuk *sugarcane*, yaitu: *Pseudomonas* sp., *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Azospirillum*, *Campylobacter* sp., *Bacillus azotofixans* dan *Herbaspirillum seropedicae* (Iqbal, Pichtel, and Hayat 2008). Sedangkan spesies bakteri yang telah diketahui dapat berperan sebagai PGP, yakni *Pseudomonas stutzeri*, *Bacillus subtilis*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Bacillus amyloliquefaciens*, berasal dari akar cucumber (Islam et al. 2015). *Rhodopseudomonas palustris*, strain TN414 berasal dari rizosfer padi (Sakpirom et al. 2017). *Bacillus subtilis*, *Bacillus* sp., *Enterobacter* sp., *Enterobacter ludwigii*, *Lactobacillus plantarum*, *punctata*, *Curtobacterium citreum*. *L. plantarum*, *C. citreum*, dan *Pantoea punctata*) berasal dari buah strawberry (*Fragaria ananassa*) (de Melo Pereira et al. 2012).

Strain bakteri *plant growth-promotion* (PGP) yang telah diketahui dapat meningkatkan kandungan mikronutrien pada tanaman chickpea dan pigeonpea di lahan pertanian, yakni *Pseudomonas plecoglossicida* SRI-156, *Brevibacterium antiquum* SRI-158, *Bacillus altitudinis* SRI-178, *Enterobacter ludwigii* SRI-211, *E. ludwigii* SRI-229, *Acinetobacter tandoii*

dan *Pseudomonas montellii* SRI-360. Ketujuh bakteri tersebut meningkatkan PGP dan kandungan mineral Fe biji/bulir tanaman



chiaspeak hingga 18 dan 12%, seng (23 dan 5%), copper (19 dan 8%), mangan (2 dan 39%) dan calcium (22 dan 11%. (Gopalakrishnan et al. 2016).

Tabel 4: Spesies bakteri yang memiliki potensi sebagai *plant growth promotion*

No	Bakteri PGP	Host/ Tanaman	Hasil	Referensi
1	<i>Pseudomonas plecoglossicida</i> SRI-156, <i>Brevibacterium antiquum</i> SRI-158, <i>Bacillus altitudinis</i> SRI-178, <i>Enterobacter ludwigii</i> SRI-211, <i>E. ludwigii</i> SRI-229, <i>Acinetobacter tandoii</i> SRI-305, <i>Pseudomonas monteilii</i> SRI-360.	chickpea dan pigeonpea (kacang-kacangan)	kandungan mineral biji/bulir tanaman chiaspeak hingga 18 dan 12%), Zn (23 dan 5%), copper (19 dan 8%), mangan (2 dan 39%) dan calcium (22 dan 11%.	(Gopala krishnan et al. 2016)
2	<i>Pseudomonas stutzeri</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> , <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> ,	akar cucumber		(Islam et al. 2015).
3	<i>Rhodopseudomonas palustris</i> , <i>Rubrivivax gelatinosus</i> ,	Rizosfer padi		(Sakpirom et al. 2017).
4	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus</i> sp., <i>Enterobacter</i> sp., <i>Enterobacter ludwigii</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Pseudomonas</i> sp., <i>Pantoea punctata</i> , <i>Curtobacterium nitreum</i>	Strawberry (<i>Fragaria ananassa</i>) fruit		(de Melo Pereira et al. 2012).



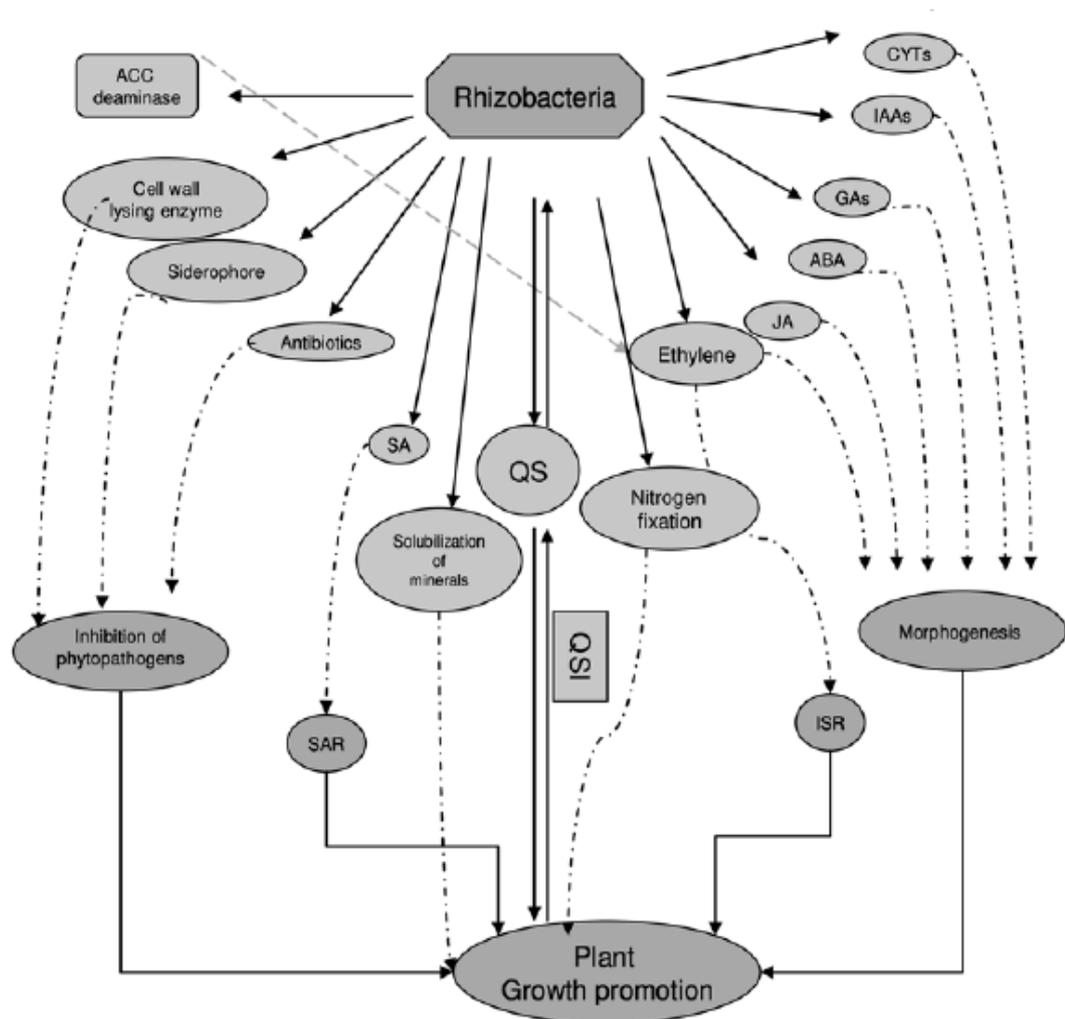
a) Plant growth promotion (PGP)

Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) adalah bakteri rizosfer yang dapat digunakan untuk meningkatkan pertumbuhan dan menekan penyakit tanaman. PGP memiliki kemampuan memproduksi *Indole-3-Acetic Acid* (IAA) dan *siderophores* (de Melo Pereira et al. 2012). Identifikasi dapat dilakukan melalui analisis morfologi, uji biokimia dan analisis filogenetik berdasarkan squensi 16S rRNA (Islam et al. 2015).

(1) Mekanisme kerja PGP

Plant growth promoting (PGP) dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman, baik secara langsung maupun tidak langsung (Gambar 5). Mekanisme langsung, karena: (a) kemampuannya menghasilkan *plant growth regulators* (*indole acetic acid*, *gibberellins* (GAs), *cytokinins* (CTKs) dan *ethylene*); (b) kemampuan melarutkan mineral-mineral, seperti posfat. Mekanisme tidak langsung melibatkan antagonism terhadap fitopatogen; (c) produksi *siderophores*; (d) produksi enzim ekstraseluler yang mendegradasi dinding sel fitopatogen, seperti *b-1,3-glucanase* dan *chitinase*; (e) produksi antibiotik; dan (f) produksi sianida. Sifat PGP tersebut semuanya memberikan pengaruh dan saling berinteraksi (*interaction of multiple PGP traits*) sehingga memberi efek positif terhadap *plant growth promotion* (Gambar 5) (Iqbal, Pichtel, and Hayat 2008).





Gambar 5: Variasi mekanisme yang terlibat dalam *plant growth promotion* oleh rhizobacteria. Bakteri menghasilkan fitohormon (oval: CTKs, IAA). Mekanisme tidak langsung terkait dengan penghambatan produksi fitopatogen termasuk produksi antibiotik, siderofor, dan enzim lisis.

Plant growth promotion (PGP) dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman baik secara langsung maupun tidak langsung:

(a) Secara langsung melalui mekanisme fiksasi nitrogen dari atmosfer

yang kemudian ditransfer ke tanaman, produksi *siderophores* yang mengikat (*chelate*) besi sehingga tersedia untuk akar tanaman, dan menyediakan mineral, seperti fosfat dan mensintesis fitohormon.



- (b) Secara tidak langsung, meningkatkan penyerapan mineral permukaan akar tanaman dan pertumbuhan tanaman dengan cara menekan fitopatogen, menghasilkan antibiotics, *iron-sequestering compounds*, *extracellular lytic enzymes*, metabolik sekunder lainnya, seperti *hydrogen cyanide* (HCN) dan induksi dari resisten sistemik atau persaingan ruang dan nutrisi (Iqbal, Pichtel, and Hayat 2008).

Menurut Rovera *et al.* dalam (Iqbal, Pichtel, and Hayat 2008), *Pseudomonas aurantiaca* SR1 dapat menghasilkan metabolit sekunder, yakni:

- (a) Senyawa antibiotic: *phenazine-1-carboxylic acid*, *pyrrolnitrin*, *pyoluteorin* dan *2,4-diacetylphloroglucinol* (DAPG).
- (b) *Indol-3-acetic acid* (IAA) (11 mgml^{-1}) yang merupakan hormone auksin aktif.
- (c) *Siderophores* dan HCN serta pelarut posfat (*moderately solubilizes phosphate*).

Sedangkan *Pseudomonas mendocina* Khsr2, *Pseudomonas stutzeri* Khsr3 dan *Pseudomonas putida* Khsr4 yang masing-masing diisolasi dari akar *Lactuca dissecta* D. Don, *Solanum surattense* Burm. dan *Sonchus arvensis* L. Dalam media kultur, ketiganya diketahui mampu melarutkan posfat, memnhasilkan fitohormon: *Indole-3-acetic acid*, *Gibberellic acid*, *Trans-zeatin riboside* dan *Abscisic acid*. Bakteri ini dapat meningkatkan perpanjangan akar, meningkatkan berat kering dan kandungan prolin *Zea mays* L. (Naz and Bano 2010).



(3) Mekanisme perolehan besi oleh tanaman

Tumbuhan melibatkan dua pendekatan untuk melarutkan dan mengabsorpsi zat besi dari tanah (Gambar 6), yakni:

- (a) Strategi I (*reduction-based strategy*), pada kondisi kadar besi rendah, tanaman non-rumput-rumputan aktif melakukan (*reduction-based strategy*). Pada Strategy I, tanaman non-rumput (*non-grasses*) melepaskan proton masuk ke rizosfer, menurunkan pH tanah dan meningkatkan kelarutan Fe^{3+} , melalui bantuan enzim H^+ -ATPases dari membran plasma akar. Setelah suasana menjadi asam, Fe^{3+} direduksi menjadi Fe^{2+} oleh *membrane-bound ferric reductase oxidase* (FRO), FRO_2 . Selanjutnya terjadi transfer electron dari NADH^+ melewati empat gugus heme ke zat besi dalam rizosfer. Ketika Fe^{3+} tereduksi, Fe^{2+} diangkut masuk ke dalam akar oleh *iron-regulated transporter 1* (IRT1).
- (b) Strategi II (*chelation-based strategy*), berlangsung pada tanaman golongan rumput-rumputan mengadopsi *chelation-based strategy* (Strategy II), terjadi pada tanaman jagung, gandum, dan padi. Dalam responnya terhadap defisiensi besi, *mugineic acid* (MA) family PSs disintesis dari L-methionine yang dilepaskan dari epidermis akar melalui saluran anion. PS mempunyai afinitas yang tinggi untuk Fe^{3+} dan mengikat Fe^{3+} dalam rizosfer secara efisien. Selanjutnya kompleks Fe^{3+} -PS diangkut masuk ke dalam akar tanaman melalui *specific transport system*. Diduga bahwa memiliki kesamaan

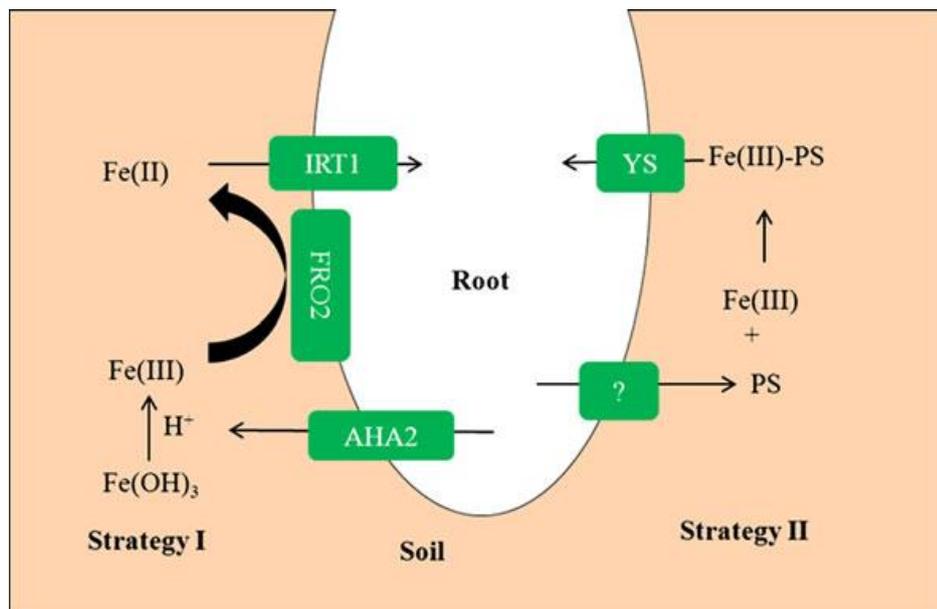


dengan protein *yellow stripe 1* (YS1) family dari *oligopeptide transporter* (OPT) pada jagung (*Zea mays*). Senyawa ini bertanggung jawab untuk penyerapan Fe^{3+} -phytosiderophore dengan Strategi II. Protein YS1 adalah suatu kompleks simporter metal proton (*proton-coupled metal-complex symporter*). Strategi chelation kurang sensitive terhadap pH dibanding strategi reduksi. Oleh karena itu, strategi ini lebih efisien sehingga memungkinkan tanaman rumput-rumputan bertahan hidup (*survive*) pada kondisi defisiensi besi yang ekstrim (*drastic iron deficiency*) (Yin and Yuan 2012). Perberian perlakuan bakteri *Pseudomonas sp.* yang mampu menghasilkan senyawa siderofor (senyawa yang mampu mereduksi Fe^{3+} menjadi Fe^{2+}) akan dapat meningkatkan persentase germinasi dan pertumbuhan tanaman jagung, meliputi: panjang akar, panjang batang, berat tanaman, jumlah biji, dan kandungan besi pada biji, batang, dan daun (Sah, Singh, and Singh 2017; Sharma and Johri 2003).

(c) Kombinasi strategi I dan II, terjadi pada tanaman padi

Selain memiliki kemampuan untuk mengangkut kompleks Fe-PS, tanaman padi mampu mengangkut Fe^{2+} melalui OserT1. Di sawah, padi dapat mengimbangi kekurangan *chelate reduktase* Fe (III) secara efektif, sehingga keseimbangan $\text{Fe}^{3+} / \text{Fe}^{2+}$ bergeser ke arah Fe^{2+} karena kekurangan oksigen. Adopsi strategi akuisisi Fe^{2+} (*Fe²⁺ acquisition*) sangat menguntungkan, karena tanaman padi tidak efisien menyerap Fe^{3+} melalui Strategi II (Yin and Yuan 2012).





Gambar 6: Mekanisme Pengambilan Besi oleh Tanaman

Pengangkutan Fe melewati membran plasma merupakan fungsi protein pembawa atau saluran plasma. Setelah memasuki epidermis, besi diikat oleh senyawa *chelating* (sitrat atau nikotianamina). Kompleks besi-*chelating* diangkut melalui jaringan intraseluler secara difusi. Kompleks Fe(III)-sitrat digunakan untuk pengangkutan besi dari akar ke batang tanaman. Selanjutnya kompleks Fe(III)-sitrat oleh transporter atau direduksi menjadi Fe^{2+} kemudian diangkut kedalam berbagai sel-sel tumbuhan. NA adalah suatu asam amino non-proteogenik yang *chelating* Fe^{2+} dan Fe^{3+} bersama dengan nutrient divalent lainnya (Cu, Zn, Mn, Co, dan Ni). Pada daun dan benih yang kelebihan besi, Fe-*chelating* dapat terakumulasi dalam vakuola. Namun, di tingkat seluler sebagian

besi berada di dalam plastida, terikat oleh protein feritin (Fang et al. Mohammad 2001).

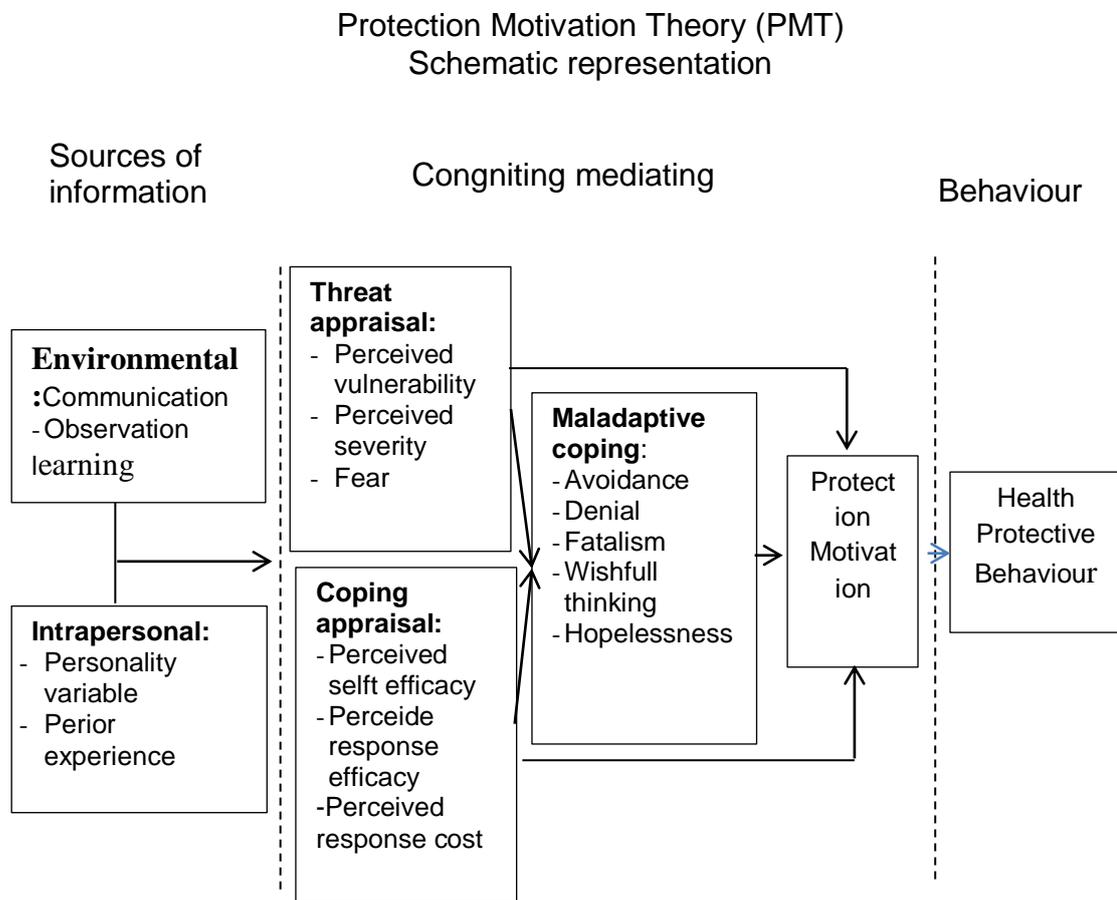


2. Protection motivation theory (PMT)

Teori motivasi perlindungan (PMT) adalah teori utama perubahan perilaku yang mencoba menjelaskan proses mediasi kognitif dari perubahan perilaku dalam hal ancaman dan penilaian coping. Menurut PMT, faktor lingkungan dan pribadi bergabung untuk menimbulkan potensi ancaman kesehatan. Pesan ancaman memulai dua proses kognitif: penilaian ancaman dan penilaian coping. Proses penilaian ancaman mengevaluasi faktor-faktor yang terkait dengan perilaku yang berpotensi menimbulkan bahaya, meliputi faktor intrinsik dan ekstrinsik yang menyertai perilaku, tingkat keparahan bahaya, dan kerentanan seseorang terhadapnya. Proses penilaian coping mengevaluasi kemampuan seseorang untuk mengatasi dan mencegah bahaya yang mengancam (efikasi diri dan respon efikasi) yang diimbangi dengan biaya terkait dengan perilaku perlindungan (biaya respon). Dua jalur penilaian ini bergabung untuk membentuk motivasi perlindungan. Dengan demikian, adopsi perilaku kesehatan adalah proses temporal dari motivasi, keputusan untuk melakukan tindakan. Ancaman terhadap kesehatan dianggap sebagai stimulus untuk merenungkan motivasi perlindungan, diikuti oleh keputusan untuk mengambil tindakan atau niat untuk bertindak. Niat ini kemudian menuntun seseorang untuk melaksanakan keputusan dalam menghadapi kesulitan, berhasil atau gagal. Proses ini

ditunjukkan pada Gambar 7 (Wu et al. 2005).





Source: Roger (1983)

Gambar 7: Protection Motivation Theory

Teori motivasi perlindungan mengemukakan bahwa niat untuk melindungi diri tergantung pada empat faktor, yaitu: 1) tingkat keparahan ancaman yang dirasakan; 2) kemungkinan kejadian yang dirasakan, atau kerentanan; 3) efektifitas perilaku pencegahan yang direkomendasikan (respon khasiat yang dirasakan); dan 4) Self efficacy yang dirasakan (kepercayaan pada kemampuan).



Studi untuk memperbaiki status gizi masyarakat melalui pendekatan teori PMT telah banyak dilakukan. Di bawah ini dikemukakan contoh penelitian yang menggunakan pendekatan Protection Motivation Theory (PMT) untuk mengevaluasi ketertarikan stakeholder mengadopsi makanan biofortifikasi iodin sebagai suatu alternatif memperbaiki status iodin dan performa anak sekolah. Survei dilakukan terhadap 360 orang tua murid sekolah dasar dan 40 orang kepala sekolah. *Protection motivation* diukur melalui kesesuaian proses kognitif untuk mengevaluasi defisiensi iodin (*threat appraisal*), demikian halnya makanan biofortifikasi iodin untuk mengurangi risiko "threat" (*coping appraisal*). Data dianalisis menggunakan Robust (cluster) regression analysis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa gender memiliki efek signifikan terhadap *coping appraisal* untuk kepala sekolah, sementara umur, pendidikan, pendapatan, ukuran keluarga dan pengetahuan menjadi prediktor risiko/threat, coping appraisal dan/atau ketertarikan protection motivation bagi semua orang tua murid. Namun demikian dari semua model protection motivation, hanya dua factor coping, yakni *self-efficacy* (parents) dan *response cost* (school heads), mempengaruhi ketertarikan mengadopsi makanan biofortifikasi iodin. Dengan demikian, program pemberian makanan dengan memasukkan makanan biofortifikasi iodin akan mendorong peningkatan pengetahuan konsumen tentang iodin dan

an yang berhubungan dengan defisiensi iodin, mendorong self-
dengan jaminan bahwa biaya bukanlah menjadi faktor



penghambat penerimaan makanan biofortifikasi iodin. Pengaruh *threat appraisal* yang tidak signifikan memberi peluang pencapaian target komunikasi tentang biofortifikasi sebagai suatu strategi, lebih memungkinkan dibanding target defisiensi mikronutrisi. PMT, dan faktor coping tertentu, nampaknya menjadi suatu yang penting untuk menilai penerimaan makanan (De Steur et al. 2015).

Aplikasi PMT juga telah dilakuakn suatu penelitian dengan latar belakang bahwa walapun sukses mengurangi defisiensi iodin, namun lebih dari 2 milyar penduduk masih berisiko terhadap gangguan defisiensi iodin. Wilayah pedesaan dan daerah pegunungan yang terisolasi di negara sedang berkembang memiliki tingkat kesulitan yang tinggi sehingga diperlukan upaya dan strategi baru, seperti biofortifikasi untuk mengatasi kekurangan iodin. Penelitian ini mencoba mengevaluasi penerimaan, pembelian, dan konsumsi iodine biofortified vegetable legumes (IBVL) menggunakan theory of protection motivations (PMT) yang diintegrasikan dengan teknik penilaian ekonomi. Sebanyak 1.200 partisipan dari lokasi terisolasi di Afrika Timur direkrut menggunakan teknik *multi-stage cluster* sampling, dan data dikumpulkan menggunakan dua jenis kuisioner yang dikonstruksi dengan memasukkan unsur PMT. Survei juga mengungkap ketertarikan terhadap makanan biofortifikasi iodin apabila tersedia jenis premium dan potongan harga. Determinan motivasi perlindungan dan

si terhadap makanan biofortifikasi iodin dinilai menggunakan path modelling dan two-limit Tobit regression. Hasil penelitian



menunjukkan bahwa pengetahuan tentang iodine, iodine-health link, garam beryodium dan biofortifikasi iodin lainnya adalah sangat rendah di tingkat rumah tangga. Biofortifikasi Iodin tidak dikenal sebagai pendekatan baru untuk memenuhi nutrisi. Sementara itu, keparahan, ketakutan, jabatan, pengetahuan, status iodin, komposisi keluarga, dan self-efficacy menjadi penduga ketertarikan untuk mengonsumsi pangan biofortifikasi di tingkat rumah tangga; dana merupakan kerentanan, tetapi self-efficacy, serta lokasi yang menjadi unsur penting di tingkat sekolah. Hasilnya menggambarkan adanya keinginan positif untuk membeli premium atau menerima dengan sedikit potongan harga dari pangan biofortifikasi. Selanjutnya, preferensi menuju pangan biofortifikasi iodin yang merupakan fungsi dari *protection motivations* adalah keparahan, kerentanan, ketakutan, response efficacy, respon biaya, pengetahuan, status iodin, gender, umur dan kepala rumah tangga. Hasil penelitian ini memberikan dukungungan terhadap upaya pencegahan defisiensi iodin pada populasi rentan melalui pendekatan biofortifikasi; namun ancaman 'threat appraisal" dan predictor socio-economic memberi dukungan yang tegas dalam permodelan intervensi gizi dan meningkatkan penerimaan produk biofortifikasi. Ringkasnya, biofortifikasi memberi kontribusi pada 3 aspek, yakni: 1) sukses menerapkan model terpadu sebagai pedoman perumusan kebijakan; 2) memberikan pedoman kepada stakeholder

mengidentifikasi target (niche markets); 3) menstimulasi



pertumbuhan ekonomi pedesaan yang berada di sekitar program pemberinakan makanan pada anak sekolah (Mogendi et al. 2016).

E. Tinjauan tentang Biofortifikasi Tanaman Jagung

Menurut WHO, keamanan pangan terjamin ketika semua orang sepanjang waktu memiliki akses terhadap kecukupan, keamanan, dan gizi untuk mempertahankan kesehatan dan aktifitas hidup. Keamanan pangan sangat tergantung pada sejumlah kecil tanaman yang disebut “*staple crops*=stok pangan”. Di dunia, dari sekitar 50,000 spesies tanaman yang bisa dikonsumsi, hanya ratusan yang secara signifikan berkontribusi untuk memenuhi kebutuhan pangan manusia. Asupan energi hanya diperoleh dari sebagian kecil tanaman yang ada. Dua per tiga dari kebutuhan pangan manusia di dunia bersumber dari beras, jagung dan gandum (www.fao.org/docrep). Secara global produksi jagung mencapai 750 juta ha. Negara produsen tertinggi adalah Amerika Serikat (sekitar seperlima dari produksi dunia), diikuti oleh China, Brazil, India, Mexico, Argentina dan negara-negara Asia Timur. Asia Tenggara (Japan, S. Korea, Taiwan, Malaysia, Indonesia, Thailand, dan Philippines , pengimpor jagung terbesar (konsumen sekitar 50% produksi jagung). Indonesia, produsen jagung terbesar di Asia Tenggara (Zaidi, Mohammad, and Keping 2008).

Jagung (*Zea mays*) adalah salah satu tanaman pangan penghasil serat yang terpenting di dunia, selain gandum dan padi. Pada masa



kini, jagung juga sudah menjadi komponen penting pakan ternak. Penggunaan lainnya adalah sebagai sumber minyak pangan dan bahan dasar tepung maizena. Berbagai produk turunan hasil jagung menjadi bahan baku berbagai produk industri farmasi, kosmetika, dan kimia. Jagung yang dibudidayakan memiliki sifat bijian yang bermacam-macam. Berdasarkan ciri bijiannya, dikenal enam kelompok kultivar jagung : Tunicata (*Podcorn*, jagung bersisik, merupakan kelompok kultivar yang dianggap paling primitif), Indentata (*Dent*, jagung gigi-kuda), Indurata (*Flint*, jagung mutiara), Saccharata (*Sweet*, jagung manis), Everta (*Popcorn*, jagung berondong), Amylacea (*Floury corn*, jagung tepung, dan Glutinosa (*Sticky/glutinous corn*, jagung ketan) (<https://id.m.wikipedia.org/wiki/Jagung>).

1. Klasifikasi jagung

Kingdom:	Plantae
Devisio:	Angiospermae
Kelas:	Monokotil
Ordo:	Poales
Famili:	Poaceae
Genus:	<i>Zea</i>
Spesies:	<i>Zea mays</i>

2. Nilai gizi jagung



Jagung adalah makanan pokok masyarakat dunia setelah beras dan gandum, termasuk di Meksiko, Sahara-Afrika, dan Indonesia. Produksi jagung terus meningkat dan harga relatif lebih murah

dibanding makanan pokok lainnya, tetapi jumlah konsumen langsung cenderung menurun karena kurangnya informasi tentang kandungan gizi dan manfaat jagung dalam pencegahan penyakit kronis. Jagung tidak hanya mengandung pati, protein, dan lemak tetapi juga mengandung sejumlah senyawa fitokimia dalam bentuk fenolik, flavonoid, antosianin. Bahkan jagung memiliki kandungan karoten, tokoferol, dan minyak yang lebih tinggi dari pada beras dan gandum (Subhash et al. 2008; Hoisington 2002; Van Hung 2016). Nilai optimal dari kandungan gizi dan penerimaan sensorik jagung relatif lebih tinggi (55,0-68,5%) dibanding kacang tanah (27,5-35,0%), dan malt barley (4,0-10,0%) (Fikiru et al. 2017). Jagung kaya serat yang memiliki efek positif pada proses metabolisme dan pengendalian berat badan (Casas et al. 2014; Konings et al. 2014), mengandung senyawa fenolik, oligosakarida, dan flavonoid yang tidak mudah dicerna sehingga dapat mencapai usus besar (10.24-64.4%) (Luzardo-Ocampo et al. 2017; Hernandez et al. 2018). Dengan demikian, konsumsi jagung dianggap memiliki manfaat kesehatan yang signifikan dalam mencegah penyakit kronis seperti penyakit kardiovaskular, obesitas, diabetes, dan kanker (Petroni, Pilu, and Tonelli 2014).

a. Kandungan gizi jagung

Jagung mengandung karbohidrat, lemak, protein, dan serat yang juga mengandung minyak, lemak jenuh, lemak tak jenuh, asam lemak tak jenuh, vitamin, mineral, senyawa fitokimia dan antioksidan (Tabel 7). Nilai kandungan α -karoten (0,121), β -karoten (0,449), β -cryptoxanthin (0,876),



lutein (5,803), zeaxanthin (3,048), dan total karoten (10,298) $\mu\text{g g}^{-1}$. Sedangkan kandungan α -tokoferol (23,98), γ -tokoferol (32,90), δ -tokoferol (2,189), dan total tokoferol (59,55) $\mu\text{g g}^{-1}$. Tingkat heritabilitas properti ini berada di kisaran 65,6 - 92,5% (Subhash et al. 2008). Selain itu, jagung menghasilkan limbah pengolahan dalam bentuk dedak dan serat. Limbah ini kaya akan komponen yang digunakan sebagai bahan makanan atau aditif, termasuk minyak serat jagung, permen serat jagung, gel serat selulosa, xylooligosaccharide, asam ferulic, vanillin dan xylitol (Rose, Patterson, and Hamaker 2010).

Tabel 5: Kandungan gizi jagung

Jenis kandungan	Konsentrasi	Referensi
Nilai optimum kandungan gizi	55.0-68.5%	(Fikiru et al. 2017)
Asam lemak jenuh	12,65-17,91%	(Ignjatovic-Micic et al. 2015)
Asam lemak tak-jenuh	24,19-45,52%	
Kandungan energi	307,047-394,066	(Ikram, Muhammad, and Arifa 2010) (Subhash et al. 2008) (Ignjatovic-Micic et al. 2015)
Massa biji	kcl/100g	
Lemak	319-230,4 g	
Protein	3,21-7,71%	
Karbohidrat	7,71-14,6%	
Serat koarsa	69,659-74,459%	
Debu	0,80-2,32%	
Minyak	0,7-1,3%	
triptofan	5,8-7,9%	



Asam palmitat	9,2-12,1%	
oleat	19,5-30,5%	
linoleik	53,0-65,3%	
alfa-tokoferol	(67-276) mg kg ⁽⁻¹⁾ oil	
beta-tokoferol	(0-20) mg kg ⁽⁻¹⁾ oil	
gamma-tokoferol	(583-1048) mg kg ⁽⁻¹⁾	(Goffman and
delta-tokoferol	(12-71) mg kg ⁽⁻¹⁾ oil	Bohme 2001)
total tokoferol	(767-1344) mg kg ⁽⁻¹⁾	
alfa-tokotrienol	(46-89) mg kg ⁽⁻¹⁾ oil	
gamma-tokotrienol	(53-164) mg kg ⁽⁻¹⁾ oil	
total tokotrienol	(99-230) mg kg ⁽⁻¹⁾ oil	
β-karoten	(0,449) μg g ⁻¹	
β-kriptoksanin	(0,876) μg g ⁻¹	
α-karoten	(0,121) μg g ⁻¹	
lutein	(5,803) μg g ⁻¹	(Subhash et al.
zeaksantin	(3,048) μg g ⁻¹	2008)
total karotenoid	(10,298) μg g ⁻¹ ,	
total tokoferol	(59.55) μg g ⁻¹	
Na (Natrium)	(540,30-620,41) ppm	(Ikram,
K (Kalium)	(2915-3471) ppm	Muhammad, and
Ca (Kalsium)	(410-590) ppm	Arifa 2010)
Fe (Besi)	(38,02-56,14) ppm	(Galan et al.
Zn (Zink)	(37,05-52,4) ppm	2013) (Thakkar
Mg (Magnesium)	(985,2-1125,3) ppm	and Failla 2008)
Cu (Kuprum)	(11,02-14,25) ppm	

b. Karbohidrat, protein, dan lemak jagung

Jagung mengandung karbohidrat sebanyak (79,15-80,64 g / 100 g) dan protein (8,5-10,5%) (Galan et al. 2013). Karbohidrat jagung terdiri dari pati (70-75%), gula (0,04 - 0,06%), rafinosa, sukrosa, glukosa, dan propionat



(Josiane et al. 2017), karoten, lutein dan zeaxanthin (Burt et al. 2010), beta-karoten dan beta-cryptoxanthin, beta-cryptococci, metabolit lutein dan zeaxanthin teroksidasi (Hemery et al. 2018), fenolik dan flavonoid (Hernandez et al. 2018). Bioaksesibilitas karoten jagung dipengaruhi oleh konsentrasi xantofil, tetapi penyerapan nutrisi jagung kaya karoten akan lebih cepat, terutama jika ada peningkatan konsentrasi metabolit teroksidasi lutein (Thakkar and Failla 2008). Pati dari jagung mudah dicerna di usus dengan adanya enzim alpha-amylase pankreas (PPA) (85-91%) (62-71%) (Hasjim et al. 2009; Luzardo-Ocampo et al. 2017).

Protein adalah salah satu dari tiga komponen kimia cadangan energi dalam biji jagung dan berkorelasi negatif dengan konsentrasi pati. Protein jagung disintesis selama pengembangan endosperma dan disimpan dalam lumen retikulum endoplasma sebagai cadangan protein yang kaya akan beta dan gamma-zein (Lending and Larkins 1989). Biji jagung (*Zea mays*) telah teridentifikasi 1756 jenis protein, yang termasuk dalam lima kategori utama, yaitu: jalur metabolisme, respons terhadap rangsangan, transportasi, pengembangan, pertumbuhan, dan protein pengatur (Wang et al. 2016). Sedangkan asam amino yang terkandung dalam biji jagung adalah: leusin, lisin, triptofan, metionin, isoleusin, valin, fenilalanin, asam glutamat, serin, alanin, tirosin, dan prolin (Mariscal-Landin, Reis de Souza, and Ramirez Rodriguez 2014; Li et al. 2009;

et al. 2017). Sementara kadar lemak jagung berada di kisaran 1% (Ikram, Muhammad, and Arifa 2010) (Josiane et al. 2017),



juga mengandung asam palmitat (9,2-12,1%), oleat (19,5-30,5%), dan linoleat (53,0-65,3%), alfa-tokoferol (67-276); beta-tocopherol (0-20); gamma-tocopherol (583-1048); delta-tokoferol (12-71) dan total tokoferol (767-1344) mg kg⁻¹ minyak, alpha-tocotrienol (46-89), gamma-tocotrienol (53-164), dan total tocotrienol (99-130) mg kg⁻¹ minyak (Rose, Inglett, and Liu 2010; Goffman and Bohme 2001).

c. Kandungan mineral dan vitamin jagung

Selain makronutrisi, jagung juga kaya dengan mikronutrisi, antara lain: Fe, Zn, Mg, dan Cu (11.02-14.25 ppm) (Ikram, Muhammad, and Arifa 2010). Kandungan Fe, Ca dan Zn dari produk ekstraksi jagung masing-masing adalah 6,2, 19,1, dan 9,7 mg kg⁻¹ (Galan et al. 2013), besi (25%) dan seng (30%)(Hoisington 2002). Jagung manis mengandung bio-vitamin A / pro-vitamin A yang dapat membantu mengatasi kekurangan vitamin A pada manusia. Namun, degradasi vitamin A terjadi dengan cepat, yaitu sekitar 45% dalam 3 bulan pertama, bahkan lebih dari 85% dapat hilang jika kondisi penyimpanan panen kurang mendukung (Hemery et al. 2018). Jagung manis mengandung vitamin E dan antioksidan yang kadarnya meningkat hingga 30 DAP (day after pollination). Isomer vitamin E yang ditemukan dalam biji jagung, yaitu: gamma-tokotrienol meningkat 14,9 kali, diikuti oleh alpha-tocopherol 22 kali, gamma-tokoferol, alpha-tokoferol, delta-tokoferol, delta-tokotrienol, dan beta-tokoferol (Xie et al. 2016).



3. Manfaat jagung terhadap kesehatan

a. Mencegah kegemukan

Mengatasi tingginya risiko obesitas yang disebabkan oleh diet merupakan hal penting dalam perkembangan tubuh manusia, mulai dari balita, remaja, dewasa hingga usia tua, Jagung merupakan salah satu bahan makanan penting untuk mencegah terjadinya dislipidemia, obesitas, steatosis hati, kontrol berat badan, penumpukan massa lemak, ukuran adiposa dan penyakit hati berlemak non-alkohol (Dominguez-Uscanga, Loarca-Pina, and Gonzalez de Mejia 2017). Berbagai hasil penelitian menunjukkan bahwa konsumsi jagung dapat mengontrol metabolisme tubuh yang berhubungan dengan obesitas, seperti *gluten corn hydrolyzate* (CGH) dan capsaicin dapat mengontrol metabolisme energi di hati, jaringan adiposa, dan otot rangka, sehingga membantu mengurangi berat badan (Mun, Ok, and Kwon 2014), meningkatkan hiperglikemia, dislipidemia, dan resistensi insulin pada orang gemuk (Lee et al. 2015); anthocyanin yang terkandung pada biji jagung ungu dapat mengurangi stres oksidatif dan peradangan terkait obesitas (Wu et al. 2017); dan jagung sutra ungu mencegah dan mengurangi obesitas karena dapat mengganggu tahap siklus hidup adiposit, menghambat proliferasi adiposit dan adipogenesis dan menginduksi lipolisis dan apoptosis (Chaiittianan, Sutthanut, and Rattanathongkom 2017). Maysin

terkandung dalam biji jagung dapat berfungsi sebagai agen terapi untuk mencegah obesitas, mengurangi kadar trigliserida serum, total



kolesterol, lipoprotein densitas rendah (LDL), dan glukosa (Lee et al. 2017). Asupan tinggi-pati amilosa tipe 2 (HAM-RS2) akan meningkatkan sensitivitas insulin pada wanita yang memiliki lingkar pinggang ≥ 89 cm dan pria 102 cm (Maki et al. 2012). Sirup tinggi fruktosa jagung (HFCS) dan campuran jagung dan kacang putih (70/30%) yang dipanggang dapat mencegah obesitas karena konsumsi diet tinggi lemak (HFD)(Iida et al. 2013).

2) Mencegah diabetes militus

Diabetes adalah penyakit jangka panjang atau kronis yang ditandai dengan kadar gula darah (glukosa) yang jauh di atas normal. Kontrol kadar glukosa darah adalah faktor kunci untuk mencegah efek negatif diabetes tipe 1 dan 2. Jagung dapat mengurangi indeks glikemik ke tingkat yang sangat rendah dan cocok untuk pasien dengan berbagai gangguan metabolisme seperti diabetes dan obesitas (Kamwa et al. 2015). Jagung ungu mengandung anthocyanin yang berperan penting dalam mencegah diferensiasi adiposit, penumpukan lipid, dan mengurangi aktivitas transkripsi PPAR-gamma pada adiposit. Perbaikan peradangan *tumor necrosis factor-alpha* (TNF-alpha) dan resistensi insulin dalam adiposit dengan mengaktifkan pensinyalan insulin dan meningkatkan translokasi glukosa transporter tipe 4 (GLUT4) yang menghasilkan penurunan kadar gula darah (hiperglikemia) sindrom metabolic (Luna-

weiss, and Gonzalez de Mejia 2017). Penggunaan kombinasi

jagung lilin ungu dan jahe tidak mengubah aktivitas aldose



reductase atau tidak meningkatkan gula darah (Wattanathorn et al. 2015), bahkan dapat mengubah fungsi dan struktur tikus diabetes dan streptozotocin penyempitan kronis melalui peningkatan status stres oksidatif dan menghalangi terjadinya katarak diabetes dan retinopati (Thiraphatthanavong, Wattanathorn, Muchimapura, Thukham-mee, et al. 2014) (Thiraphatthanavong, Wattanathorn, Muchimapura, Wipawee, et al. 2014). Oleh karena itu, ekstrak jagung ungu dapat menjadi agen renoprotektif untuk glomerulosklerosis terkait diabetes (Kang et al. 2012). Di Asia, jagung sutra, jagung manis, dan jagung putih banyak digunakan sebagai obat tradisional, terutama dalam fase silking karena kadar fenolik, antosianin, flavonoid, dan antioksidan relatif lebih tinggi (Sarepoua et al. 2015).

3) Mencegah kanker

Studi epidemiologis telah menunjukkan bahwa sereal merupakan sumber peptida bioaktif yang potensial untuk pengobatan kanker (Ortiz-Martinez, Winkler, and Garcia-Lara 2014). Konsumsi jagung dapat memengaruhi inisiasi atau perkembangan kanker melalui perubahan kadar hormon dan faktor-faktor lain yang bersirkulasi (Toden et al. 2010) dan mengonsumsi makanan kaya antosianin secara teratur dari jagung dapat mengurangi risiko penyakit kronis, seperti kardiovaskular, kanker, dan hipertensi (Petroni, Pilu, and Tonelli 2014).

Beberapa hasil penelitian menunjukkan potensi jagung untuk mencegah kanker pada manusia, termasuk “salad jagung” (Valerianella



locusta) mencegah kanker kolorektal (Ramos-Bueno et al. 2016). Jagung ungu melindungi tikus terhadap kardiotoxicitas (Petroni et al. 2017), mengurangi hipertensi, diabetes, dan memiliki efek anti kanker pada usus besar dan payudara (Long et al. 2013). Jagung putih dan biru mengurangi kejadian adenokarsinoma, menghambat aktivitas beta-glukuronidase, dan induksi enzim detoksifikasi di hati dan usus besar, dan penurunan ekspresi dua protein proliferasi (K-ras dan beta-catenin) yang terlibat dalam karsinogenesis kolon (Reynoso-Camacho et al. 2015).

Jagung manis bertindak sebagai anti-inflamasi dan anti-kanker serta agen pencegahan untuk munculnya kanker baru. Sementara vitamin E yang terkandung dalam jagung manis juga dapat mencegah terjadinya kanker usus besar dalam tubuh tikus melalui mekanisme tertentu. Di dalam tubuh tikus, vitamin E dapat dimetabolisme menjadi 13'-karboksikromanol (13'-COOH), dimana 13'-COOH menghambat pertumbuhan siklooksigenase-2 pro-inflamasi dan kanker (COX-2) dan 5-lipoksigenase (5-LOX), serta induksi apoptosis dan autophagy dalam sel kanker usus besar. 13'-COOH meningkatkan dihidrosfingosina, dihidroseramida intraseluler, dan seramida. Mengurangi produksi sfingolipid untuk menetralkan kematian sel yang disebabkan oleh 13'-COOH (Jang et al. 2016).



F. Tinjauan tentang Tikus Wistar

Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) banyak digunakan pada penelitian laboratorium, memiliki ciri: kepala yang lebar, telinga yang panjang, dan ekor lebih pendek dibanding panjang tubuh. Tikus wistar banyak digunakan untuk studi terjadinya sindrom metabolik pada manusia, mempelajari penyebab dan perkembangan tanda-tanda yang relevan. Model hewan ini cukup layak untuk meniru semua aspek kelainan manusia, mengembangkan semua tanda utama sindrom metabolik, obesitas, diabetes, dislipidaemia, hipertensi, gangguan hati dan disfungsi ginjal serta defisiensi mikronutrisi (Sunil and Lindsay 2011). Aplikasi penggunaan tikus wistar sebagai model dalam penelitian, antara lain: penggunaan daun *Phaseolus vulgaris* terhadap penyakit anemia. Pertama tikus Wistar normal diinduksi dengan memberi makanan yang tidak mengandung zat besi selama 11 hari. Selanjutnya diberikanan diet pemulihan zat besi selama 14 hari dengan menggunakan diet normal. Parameter yang diukur meliputi: kadar leukosit, eritrosit, limfosit, granulosit, hematokrit, hemoglobin, dan feritin tikus difisiensi (Martinez-Zavala et al. 2016).

1. Karakteristik dan klasifikasi tikus Wistar

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) berasal dari Asia Tengah dan sebarannya telah menyebar luas di seluruh dunia. Galur-galur yang digunakan dalam penelitian, antara lain : Wistar, *Sprague-Dawley*,



Long Evans, dan Holdzman. Siklus hidup tikus putih (*Rattus norvegicus*) jarang lebih dari tiga tahun, berat badan pada umur empat minggu dapat mencapai 35-40 g dan setelah dewasa rata-rata 200-250 g, bervariasi menurut galur. Bahkan tikus jantan tua dapat mencapai bobot badan 500 g dan betina 350 g. Menurut (Horatiu V. Vinerean DVM) taksonomi tikus laboratorium adalah sebagai berikut :

Kingdom : Animalia
 Filum : Chordata
 Kelas : Mamalia
 Ordo : Rodentia
 Subordo : Myomorpha
 Famili : Muridae
 Genus : Rattus
 Spesies : *Rattus norvegicus*

Kebutuhan pakan tikus sekitar 10-15% dari bobot tubuh per hari atau 2-3 g setiap interval 140 menit. Sedangkan kebutuhan minum tikus 15-30 ml air per hari. Kecukupan nutrisi dapat diamati dari pertumbuhan, reproduksi, pola tingkah laku, kesediaan nutrisi, aktivitas enzim, histologi jaringan dan kandungan asam amino serta protein dalam jaringan. Pakan tikus yang sedang tumbuh yakni: protein 12%, lemak 5%, dan serat kasar kira-kira 5%, dan mengandung vitamin A, vitamin D, asam linoleat, tiamin,

n, pantotenat, vitamin B12, biotin, piridoksin dan kolin serta mineral tertentu. Sedangkan asam amino esensial yang



diperlukan, yakni : Arginin, Histidin, Isoleusin, Leusin, Methionin, Fenilalanin, Treonin, Tryptofan, dan Valine(Sharp and Regina).

Kandang pemeliharaan tikus biasanya terbuat dari metal atau plastik. Alas kandang terdiri atas guntingan kertas, serutan kayu, serbuk gergaji atau tongkol jagung. Temperatur ideal kandang yaitu 18-27°C atau rata-rata 22°C dan kelembaban relatif 40-70% (Showkath).

2. Kebutuhan mineral tikus

Mineral makro adalah mineral yang keberadaannya dalam tubuh lebih besar dari 0,01% berat badan, sedangkan mineral mikro (trace elements) adalah mineral-mineral yang keberadaannya kurang dari 0,01% berat badan. Kebutuhan mineral makro dan mikro tikus putih: Ca (0,5%); Cl (0,05%); Mg (0,04%); P (0,4%); K (0,36%); Na (0,05%); S (0,03%); Cr (0,3 ppm); Cu (5 ppm); F (1 ppm); I (0,15 ppm); Fe (35 ppm); Mn (50 ppm); Se (0,1 ppm); Zn (12 ppm) (National Research Council (1978) dalam (Sharp and Regina).

3. Makanan dan pencernaan pakan

Tikus memiliki kebiasaan akses terhadap makanan pada interval yang cukup teratur. Tikus putih dengan akses ke makanan pada jarak pendek dari sarangnya memiliki siklus 3 – 4 jam. Jumlah yang dimakan setiap kali makan, 2-3 g. Makanan yang diambil pada malam hari lebih daripada yang dimakan di siang hari, karena itu konsumsi malam rata-rata 50 persen lebih tinggi dari pada siang hari. Irama makan dan



irama aktivitas secara umum yang dilakukan tikus merupakan produk dari interaksi antara faktor internal dan eksternal (Brnett 1976).

Pencernaan adalah proses perubahan fisik dan kimia bahan pakan dalam alat pencernaan, meliputi : pencernaan mekanik di mulut, pencernaan hidrolitik di usus oleh enzim-enzim pencernaan dan pencernaan fermentatif. Kecernaan makanan tergantung jumlah pakan yang diserap oleh tubuh hewan atau yang tidak disekresikan melalui feses (%). Kecernaan makanan dipengaruhi: jenis hewan, komposisi makanan, cara pengolahan makanan dan jumlah pakan yang dikonsumsi oleh hewan. Kecernaan nutrisi dari tikus: bahan kering 86,20%, lemak 94,95%, karbohidrat 90,58%, protein 81,66%, abu 58,89%, pati 99,53% dan pati + gula 99,46%.

4. Pertumbuhan

Pertumbuhan umumnya dinyatakan dengan pengukuran bobot badan dan tinggi badan. Potensi pertumbuhan tikus sangat dipengaruhi oleh faktor bangsa, jenis kelamin, pakan, lingkungan dan manajemen pemeliharaan. Kurva pertumbuhan individu atau populasi berbentuk sigmoid atau "S" menjadi ukuran berkembang tubuh hingga dewasa dimana bobot badan diplotkan terhadap fungsi umur atau waktu, Pertambahan bobot badan (PBB) dapat digunakan untuk menilai kualitas

makanan ternak. Kecepatan tumbuh seekor tikus sebesar 5 gram tergantung dari spesies, jenis kelamin, umur, dan keseimbangan nutrisi (IPB).



5. Efisiensi penggunaan pakan

Efisiensi penggunaan pakan dihitung berdasarkan perbandingan rata-rata pertambahan bobot badan (g/ekor/hari) dengan rata-rata konsumsi ransum (g/ekor/hari). Efisiensi pencernaan bahan makanan dipengaruhi oleh suhu, gerak laju makanan melalui alat pencernaan, bentuk fisik ransum, komposisi dan keseimbangan zat nutrisi ransum. Koefisien ransum dapat dilihat dari nilai konversi pakan, semakin rendah angka konversi maka efisiensi penggunaan pakan semakin tinggi. Konversi ransum ditentukan berdasarkan beberapa faktor yaitu suhu, lingkungan, potensi genetik, nutrisi pakan, kandungan energi dan penyakit. Konversi ransum juga dipengaruhi oleh jumlah ransum yang dikonsumsi, bobot badan, gerak atau aktifitas tubuh, musim dan suhu dalam kandang (IPB).

6. Profil hematologi tikus Wistar (*Rattus norvegicus*)

Menurut (Fitra and Sarto 2014), jumlah eritrosit hewan jantan lebih rendah daripada betina. Jumlah eritrosit meningkat seiring pertambahan umur (Tabel 6), sedangkan jumlah eritrosit pada jantan fluktuatif dengan nilai tertinggi saat umur 6 minggu (Tabel 7). Kadar hemoglobin hewan jantan lebih rendah daripada betina. Kadar hemoglobin pada jantan fluktuatif dengan nilai tertinggi saat umur 6 minggu (lebih tinggi daripada

sedangkan pada betina kadar hemoglobin meningkat seiring pertambahan umur. Nilai hematokrit hewan jantan lebih tinggi daripada



betina. Nilai hematokrit pada jantan dan betina meningkat seiring pertambahan umur. Jumlah leukosit hewan jantan lebih tinggi daripada betina. Jumlah leukosit pada jantan dan betina fluktuatif, nilai terendah saat umur 6 minggu. Jumlah neutrofil hewan jantan lebih tinggi daripada betina. Jumlah neutrofil pada jantan menurun seiring pertambahan umur, sedangkan pada betina fluktuatif dengan nilai tertinggi saat umur 4 minggu. Jumlah limfosit hewan jantan lebih tinggi daripada betina kecuali saat umur 4 minggu. Jumlah limfosit pada jantan dan betina fluktuatif dengan nilai terendah saat umur 6 minggu. Jumlah monosit, eosinofil dan basophil (*mixed*) hewan jantan lebih tinggi daripada betina. Jumlah *mixed* pada jantan dan betina meningkat seiring pertambahan umur. Jumlah trombosit hewan jantan lebih rendah daripada betina. Jumlah trombosit pada jantan menurun seiring pertambahan umur, sedangkan pada betina fluktuatif dengan nilai tertinggi saat umur 8 minggu. Massa tubuh atau berat badan hewan jantan lebih tinggi daripada betina. Massa tubuh pada jantan dan betina bertambah seiring dengan pertambahan umur.



Tabel 6: Profil hematologi dan berat badan tikus Wistar betina umur 4, 8, dan 8 minggu (Sharp and Regina)

Variabel	Umur (Minggu)		
	4	6	8
Eritrosit ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	5.16 \pm 0.80	6.67 \pm 0.018	6.92 \pm 0.38
Hemoglobin (g/dL)	11.12 \pm 1.75	12.52 \pm 0.95	13.44 \pm 0.55
Hematokrit (%)	31.80 \pm 4.59	36.84 \pm 2.29	38.06 \pm 1.61
Leukosit ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	6.58 \pm 1.16	4.90 \pm 0.76	5.36 \pm 1.21
Neutrofil ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	1.34 \pm 0.46	1.06 \pm 0.26	1.18 \pm 0.28
Limposit ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	5.24 \pm 1.36	3.84 \pm 0.74	4.12 \pm 1.24
Mixed ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.06 \pm 0.13
Trombosit ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	7.11 \pm 2.20	6.79 \pm 3.20	8.39 \pm 1.18
Berat Badan (g)	59.90 \pm 2.30	132.28 \pm 5.86	151.60 \pm 8.54
Volume darah tikus 57.5 – 69,9 ml/kg			

Tabel 7: Profil hematologi dan berat badan tikus Wistar betina umur 4, 8, dan 8 minggu (Sharp and Regina)

Variabel	Umur (Minggu)		
	4	6	8
Eritrosit ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	4.87 \pm 0.81	6.22 \pm 1.93	5.50 \pm 0.32
Hemoglobin (g/dL)	10.09 \pm 0.34	14.67 \pm 3.52	10.63 \pm 0.26
Hematokrit (%)	43.89 \pm 1.42	48.42 \pm 5.57	52.17 \pm 5.14
Leukosit ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	8.05 \pm 2.27	7.16 \pm 2.51	8.08 \pm 1.08
Neutrofil ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	2.93 \pm 0.14	2.43 \pm 0.23	2.24 \pm 0.08
Limposit ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	5.03 \pm 0.14	4.60 \pm 0.14	5.56 \pm 0.05
Mixed ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	0.09 \pm 0.14	0.13 \pm 0.14	0.29 \pm 0.06

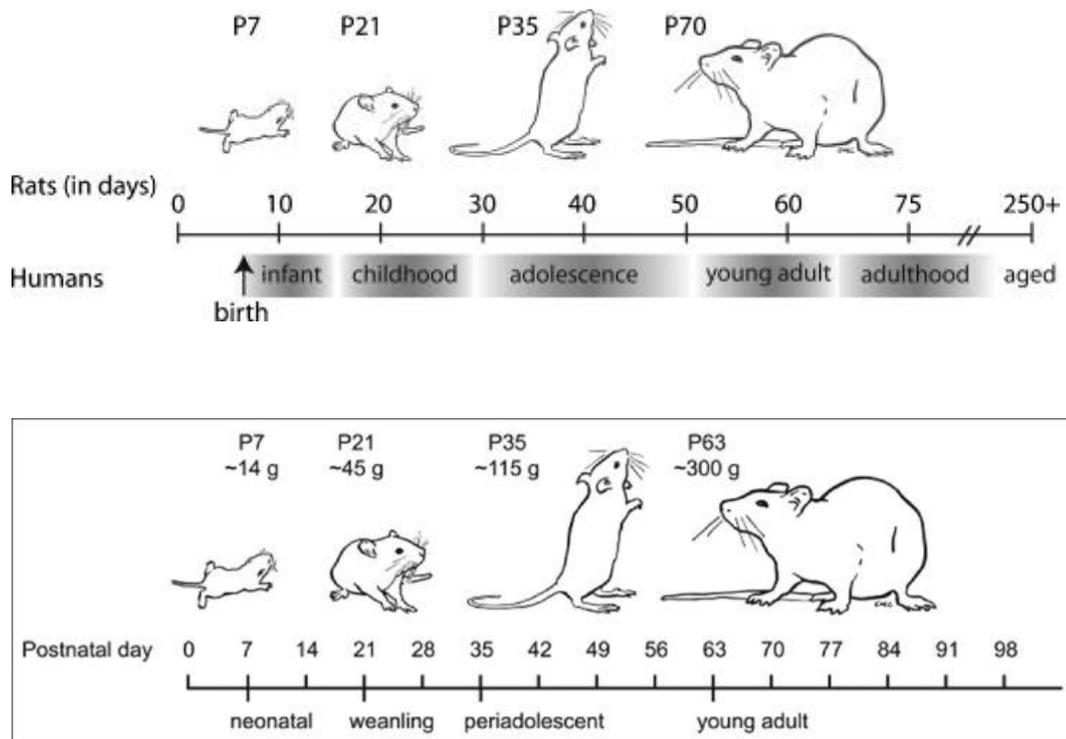


7. Hubungan umur tikus Wistar dengan manusia (Relating Rat's Age With Human's)

Tikus sebagai model eksperimental sering menghadapi banyak pertanyaan seperti "apa hubungan antara usia tikus dan manusia?" "Kapan binatang ini dianggap dewasa atau berusia?" Dengan demikian, maka diperlukan pertimbangan berbagai fase kehidupan tikus sehingga memiliki korelasi yang akurat dengan manusia (Sengupta 2013) dalam artikelnya "Relating Rat's Age With Human's" telah menguraikan secara baik hubungan usia tikus dengan manusia pada setiap fase kehidupan. Tikus tumbuh dengan cepat selama masa kanak-kanak dan menjadi dewasa secara seksual pada sekitar minggu keenam, dan mencapai kematangan sosial 5-6 bulan kemudian. Di masa dewasa, setiap hari hewan tersebut kira-kira setara dengan 34,8 hari manusia (mis.: satu bulan tikus sebanding dengan tiga tahun manusia). Tikus laboratorium hidup sekitar 2-3,5 tahun (rata-rata 3 tahun), sedangkan harapan hidup manusia di seluruh dunia adalah 80 tahun, dengan variasi di negara-negara sesuai dengan kondisi sosial ekonomi mereka. Oleh karena itu, masa hidup = $(80 \times 365) \div (3 \times 365) = 26,7$ hari manusia = 1 hari tikus; dan $365 \div 26,7 = 13,8$ hari tikus = 1 tahun manusia. Dengan demikian, satu tahun manusia hampir sama dengan dua minggu tikus (13,8 hari tikus). Namun, ketika mempertimbangkan berbagai fase kehidupan tikus, termasuk menyapih ke fase lansia, dapat dengan mudah diketahui tikus memiliki masa kanak-kanak yang singkat dan dipercepat usia manusia. Tikus berkembang pesat selama masa bayi dan



menjadi dewasa secara seksual pada usia sekitar 6 minggu. Manusia, di sisi lain, berkembang perlahan dan tidak mencapai pubertas hingga sekitar usia 11-12 tahun. Kematangan sosial diperoleh pada usia 5-6 bulan. Profil perkembangan tikus dan manusia [Gambar 8] dan Tabel 8.



Gambar 8: Hubungan Umur Tikus dan Umur Manusia

Tabel 8: Konversi umur tikus ke umur manusia (Tahun)

Umur Tikus (Bulan)	Umur Tikus (Tahun)	Umur Manusia (Tahun)
.5	0.125	12.5
6	0.5	18
12	1	30
18	1.5	45
24	2	60
30	2.5	75
36	3	90
42	3.5	105
45	3.75	113
48	4	120

Sumber: <http://www.ratbehaviour.org/RatYears.htm>

a. Perawatan bayi tikus (When do the baby rats weaned?)

Ikatan unik antara ibu dan bayi-bayi mamalia, tercipta dan terawat dengan menyusui. Proses penyapihan melibatkan reorganisasi perkembangan perilaku menelan. Bayi mamalia bertahan hidup sepenuhnya dari air susu ibu (ASI), sementara yang dewasa dapat secara mandiri memilih dan menelan makanan padat. Menyapih adalah transisi antara dua bentuk subsistem ini, dan merupakan elemen penting dalam perkembangan fungsi dewasa di semua mamalia.

Menyapih (atau menyusui) adalah fase pertama kehidupan tikus, yang merupakan proses perkembangan yang unik dan secara bertahap memperkenalkan bayi mamalia ke makanan dewasa (padat) dan

menyediakan pasokan ASI. *Rattus norvegicus*, spesies yang penting dalam studi laboratorium tentang perilaku menelan, anak-anak mulai menelan makanan padat pada sekitar hari 18 (P18). Waktu



yang dihabiskan menyusui mulai menurun sekitar P20, sementara waktu yang dihabiskan untuk mengonsumsi makanan padat meningkat. Pada sekitar P34, anak yang masih muda tidak lagi menyusui dan menyapih. Rata-rata umur sapih untuk manusia adalah sekitar 6 bulan (180 hari), dan tikus laboratorium (~ P21) 3 minggu.

b. Puberitas (Is my rat going through “puberty”?)

Fase kedua kehidupan tikus adalah masa puber, terjadi ketika reproduksi pertama terjadi yaitu, ketika sel-sel telur dilepaskan. Tikus mencapai pubertas pada umur rata-rata 50 hari setelah lahir (P50). Manusia, di sisi lain, berkembang perlahan dan tidak mencapai pubertas hingga sekitar usia rata-rata 11,5 tahun ($11,5 \times 365 = 4198$ hari). Tikus menjadi dewasa secara seksual pada 6 minggu (P42). Namun, telah dilaporkan dalam beberapa penelitian yang membandingkan berat lahir tikus dan manusia bahwa, tikus tidak "dilahirkan" sampai hari 12 setelah lahir (P12). Ini berarti bahwa tikus mencapai kematangan seksual sekitar 38 hari (12 hari kurang dari umur pubertas mereka saat P50). Dengan demikian, fase pra-pubertas: $4198 \div 38 = 110,5$ hari manusia = 1 hari tikus, dan $365 \div 110,5 = 3,3$ hari tikus = 1 tahun manusia. Jadi, dalam fase ini, satu tahun manusia sama dengan 3,3 hari tikus.

c. Tikus dewasa (When rats are considered “adult”?)

ari profil perkembangan tikus dan manusia (Gambar 8). Pada wan dipisahkan dari ibu mereka dan kemudian mulai menjalani



pematangan seksual. Kematangan seksual diindikasikan oleh pembukaan vagina (wanita) atau pemisahan balanopreputial (pria). Titik ini dicapai pada tikus betina sekitar P32-P34, tetapi pada jantan terjadi di sekitar P45-P48. Namun, usia kematangan seksual sangat bervariasi di antara individu, mulai dari yang muda P40 hingga P76 pada tikus jantan. Walaupun demikian kematangan seksual tidak menandai awal dari masa dewasa, tetapi lebih menunjukkan awal dari masa remaja. Seperti halnya manusia, tikus mengalami kemajuan melalui masa remaja yang ditandai dengan perilaku seperti peningkatan pengambilan risiko dan permainan sosial. Perilaku ini melampaui periode pubertas melalui transisi ke dewasa, yang dimulai setelah minggu kedelapan kehidupan pasca-kelahiran (~ P63). Berat badan binatang terkadang dianggap sebagai indikator umurnya. Namun, berat badan bukanlah penanda pengganti yang akurat untuk umur. Telah dilaporkan bahwa tikus jantan dengan berat antara 250 g dan 274 g berbeda usia pada 3 minggu, dari P49 (periadolescent) hingga P70 (dewasa muda). Selain itu, tikus jantan dengan umur yang sama dapat mencapai berat badan hingga 100 g. Demikian pula, untuk mengidentifikasi dewasa dengan kematangan muskuloskeletal tikus merupakan suatu masalah karena tidak ada penutupan epifisis pada tulang panjang. Pada umur sekitar 7-8 bulan (~ 210 hari), pertumbuhan kerangka berkurang pada pria dan wanita. Pada

, penutupan lempeng pertumbuhan agak tidak konsisten di antara dan di antara lempeng pertumbuhan yang berbeda di dalam



tubuh. Salah satu lempeng pertumbuhan terakhir yang melebur adalah dalam skapula, yang rata-rata mendekati umur 20 tahun ($365 \times 20 = 7300$ hari). Oleh karena itu, fase remaja = $7300 \div 210 = 34,8$ hari manusia = 1 hari tikus, yang menunjukkan bahwa $365 \div 34,8 = 10,5$ hari tikus = 1 tahun manusia. Jadi, selama fase remaja, 10,5 hari tikus sama dengan satu tahun manusia.

d. Penuaan reproduksi (Reproductive senescence: The rat is no longer sexually active!)

Penuaan reproduksi pada tikus betina terjadi antara 15 dan 20 bulan. Selama masa subur dalam kehidupan betina, perkawinan biasanya hanya terjadi ketika betina sedang subur. Tapi, integrasi perilaku dan fisiologi ini dapat rusak selama penuaan pada tikus betina. Sebagian besar tikus betina yang menua menunjukkan periode estrus persisten (penerimaan seksual konstan) yang berhubungan dengan titer darah tonik estrogen dan kadar progesteron yang rendah. Karena sekresi estrogen tonik menstimulasi cornifikasi epitel vagina, keadaan ini juga disebut sebagai cornifikasi vagina persisten. Ini adalah kondisi asiklitas paling umum pada tikus laboratorium. Demikian pula, penanda tradisional penuaan reproduksi pada wanita adalah menopause, ditandai dengan hilangnya siklus menstruasi atau kesuburan pada usia paruh baya.

Menurut American Medical Association, usia rata-rata menopause pada manusia adalah 51 tahun ($51 \times 365 = 18615$ hari), dan tikus betina mengalami menopause antara usia 15 dan 20 bulan (600 hari). Dengan



demikian, $18615 \div 600 = 31,0$ hari manusia = 1 hari tikus, dan $365 \div 31 = 11,8$ hari tikus = 1 tahun manusia. Jadi, selama penuaan reproduksi, 11,8 hari tikus sama dengan satu tahun manusia.

e. Masa penuaan (Post senescence: When the rat is aged! Post senescence)

Jika periode pasca-penuaan sampai mati dibandingkan, maka tikus betina hidup rata-rata 485 hari setelah penuaan dan wanita hidup rata-rata 10.585 hari setelah penuaan. Jadi, $10585 \div 495 = 21,4$ hari manusia = 1 hari tikus, artinya $365 \div 21,4 = 17,1$ hari tikus = 1 tahun manusia. Jadi, pada fase usia, 17,1 hari tikus sama dengan satu tahun manusia.

G. Tinjauan tentang Human Equivalent Doses (HED)

Menurut (Shin, Seol, and Son 2010), Konversi yang akurat dari dosis (mg/kg) ke dosis (mg / m^2) tergantung pada berat badan spesies yang sebenarnya. Luas permukaan umumnya telah dihitung dalam formula untuk mengubah dosis sebagai $\text{mg}/\text{m}^2 = km \times \text{mg}/\text{kg}$. Faktor km tidak konstan untuk semua spesies, tetapi meningkat seiring kenaikan berat badan. Faktor km dihitung untuk kisaran berat badan menggunakan $km = 100 / K \times W^{0.33}$ di mana K adalah nilai tertentu untuk masing-masing spesies. Sebagai contoh, nilai km pada tikus bervariasi dari 5,2 untuk tikus

hingga 7,0 untuk tikus 250 g. Dari hasil analisis, *human equivalent* (HED) dihitung menggunakan nilai km standar seperti yang tercantum pada Tabel 9 (km manusia=37) tidak akan berbeda lebih dari



± 20 persen dari HED dihitung menggunakan nilai km berdasarkan pada berat badan hewan (km tikus = 6). Berat manusia akan bervariasi secara luas, tetapi tidak menimbulkan efek variasi bobot hewan suatu spesies pada perhitungan HED. HED dapat dihitung dari rumus (1) berikut:

$$HED \left(\frac{mg}{kg} \right) = Animal\ dose \left(\frac{mg}{kg} \right) \frac{Animal\ Km}{Human\ Km} \quad (1)$$

Sebagai contoh, dosis efektif pada tikus adalah 1000 mg / kg. HED (mg / kg) = 1000 mg / kg × (3/37) = 81,1 mg / kg (4,866 g / hari) pada manusia. Kontroversi, misalkan dosis efektif klinis adalah 200 mg / kg. Dosis hewan (mg / kg) = 200 mg / kg × (37/6) = 1233 mg / kg pada tikus. Hal ini dapat dihitung hanya dengan menggunakan faktor konversi pada Tabel 9.

$$Animal\ dose \left(\frac{mg}{kg} \right) = HED \left(\frac{mg}{kg} \right) \times Conversion\ factor \quad (2)$$

$$HED \left(\frac{mg}{kg} \right) = \frac{Animal\ dose \left(\frac{mg}{kg} \right)}{Conversion\ factor} \quad (3)$$

Untuk bobot hewan di luar kisaran berat pada Tabel 9 atau untuk spesies yang tidak termasuk dalam table tersebut, HED dapat dihitung dari rumus sebagai berikut.

$$HED \left(\frac{mg}{kg} \right) = Animal\ dose \left(\frac{mg}{kg} \right) \times \frac{(Animal\ Weight\ (kg))^{0.33}}{Human\ Weight\ (kg)} \quad (4)$$



Tabel 9: Faktor *km* dan (Body Surface Area) manusia dan spesies lainnya

Spesies	Berat Badan (Kg)	Working Range (Kg)	Weight	BSA	Faktor km	Faktor Konversi
Manusia						
Dewasa	60	-		1.6	37	1
Anak	20	-		0.8	25	1.48
Baboon	12	7 – 23		0.6	20	1.85
Anjing	10	5 – 17		0.5	20	1.85
Kera	3	1.4 - 4.9		0.24	12	3.08
Kelinci	1.8	0.9 - 3.0		0.15	12	3.08
Babi	0.4	0.208 - 0.700		0.05	8	4.63
Tikus	0.15	0.080 - 0.270		0.025	6	6.17
Hamster	0.08	0.047 - 0.157		0.02	5	7.4
Mencit	0.02	0.011 - 0.034		0.007	3	12.33

Ket: Body surface area (BSA)



H. Kerangka Teori Penelitian

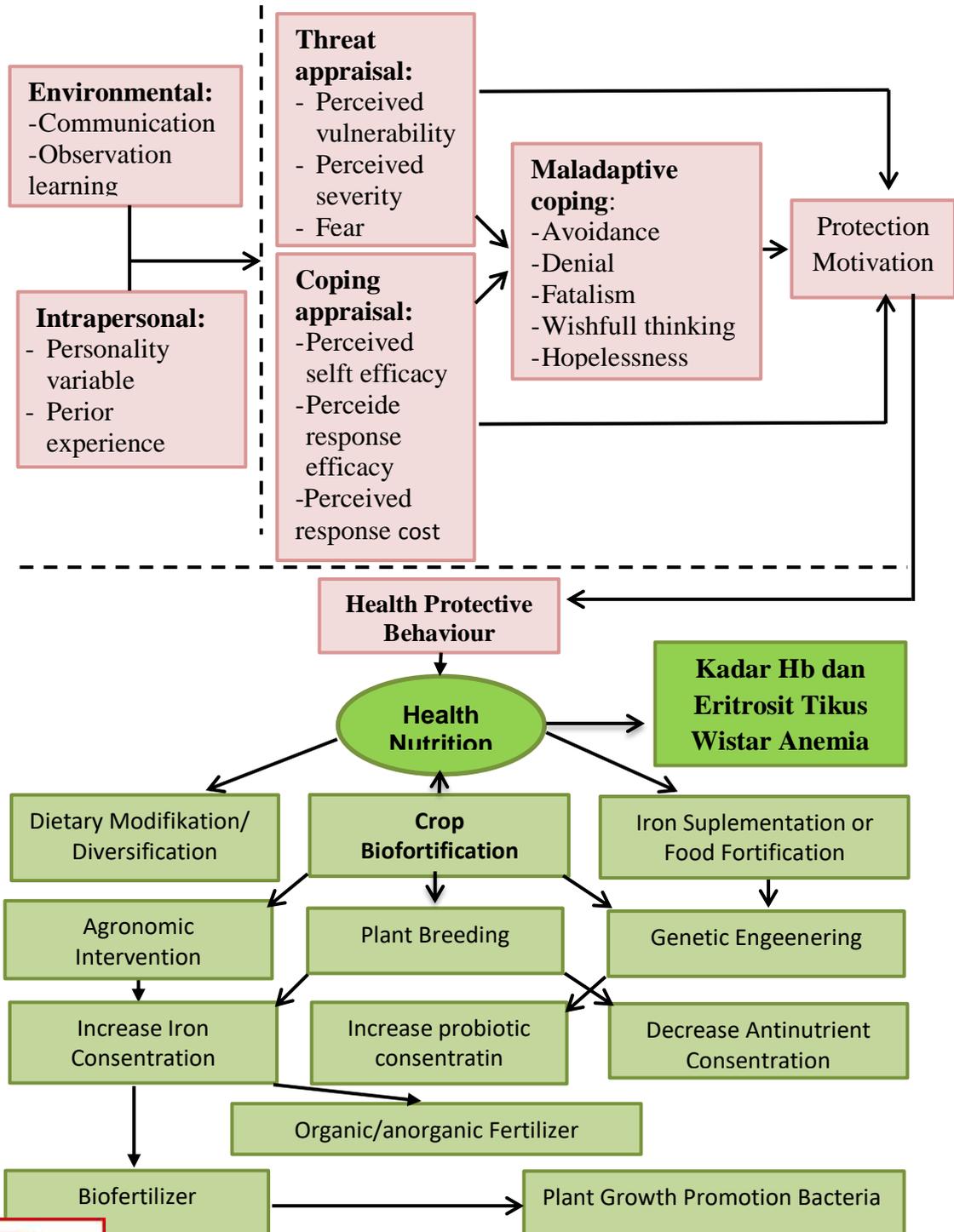


Figure 9: Plant Soil System dan Protection Motivation Theory (Yin & Yuan. 2012 dan Roger 1983) Domodifikasi Penulis

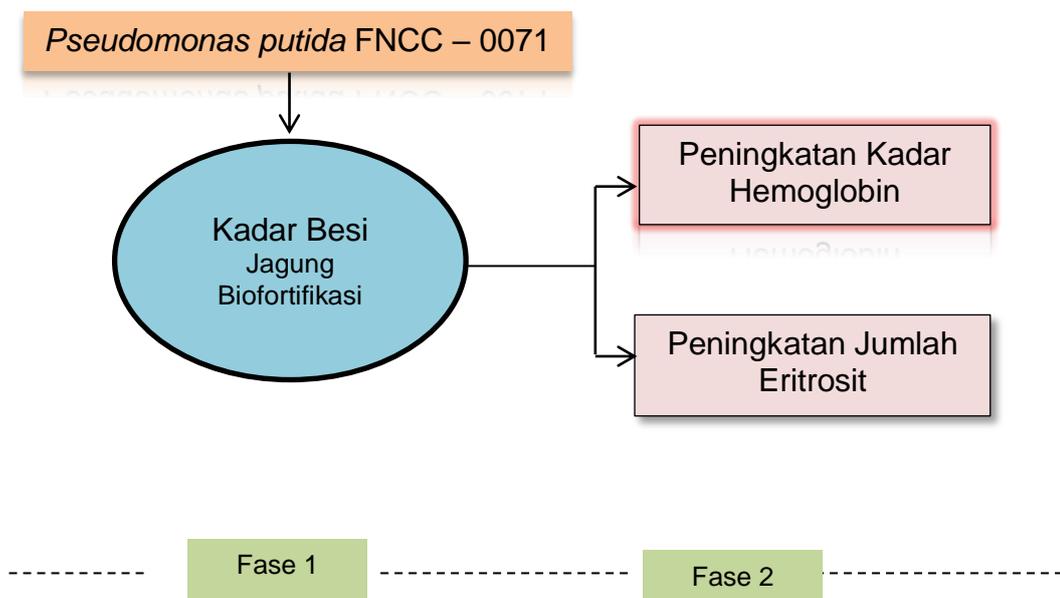


I. Kerangka Konsep Penelitian

Anemia gizi besi merupakan permasalahan global, dapat dialami oleh setiap individu bilamana asupan, sirkulasi dan distribusi besi dalam tubuh mengalami gangguan. Peningkatan asupan besi melalui suplementasi, fortifikasi, diversifikasi, dan biofortifikasi akan dapat secara bersama atau terpadu berkontribusi untuk mengatasi defisiensi besi pada masyarakat, mulai dari janin, anak-anak, remaja, ibu hamil hingga lanjut usia. Intervensi agronomi menggunakan bakteri *Pseudomonas putida* dalam biofortifikasi besi pada tanaman jagung adalah salah satu strategi jangka panjang yang relatif sederhana dan murah untuk meningkatkan asupan besi secara luas hingga ke wilayah terpencil. Bakteri *Pseudomonas putida* dapat berperan meningkatkan bioavailabilitas besi dalam lingkungan akar tanaman sehingga membantu meningkatkan laju penyerapan besi oleh akar. Dengan demikian melalui mekanisme transportasi dan metabolisme besi, tanaman dapat meningkatkan akumulasi besi pada bagian tanaman yang dapat dimakan manusia. Ketersediaan bahan pangan kaya besi pada makanan pokok diharapkan dapat membantu meningkatkan kecukupan besi dalam tubuh manusia tanpa merubah pola konsumsi. Peningkatan asupan besi akan berkontribusi terhadap perbaikan status besi dalam tubuh baik yang terdapat dalam jaringan maupun dalam plasma darah. Kecukupan besi dalam tubuh secara berkelanjutan diharapkan dapat mengurangi prevalensi anemia di masyarakat. Selanjutnya dapat

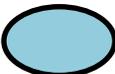


memperbaiki kondisi kognitif, fokus belajar anak, dan kemampuan kerja orang dewasa. Kerangka konsep kajian jagung biofortifikasi besi menggunakan bakteri *P. putida* terhadap status besi tikus wistar anemia disajikan pada Gambar 10.



Gambar10 : Kerangka Konsep Penelitian

Keterangan:

-  : Variabel independen fase 1
-  : Variabel dependen fase 1, dan Variabel independen fase 2
-  : Variabel dependen fase 2



J. Hipotesis

1. Hipotesis penelitian

Berdasarkan tujuan penelitian maka dirumuskan hipotesis penelitian sebagai berikut:

- a. Ada pengaruh jagung biofortifikasi besi (JBF) terhadap peningkatan kadar Hb tikus wistar betina anemia.
- b. Ada pengaruh jagung biofortifikasi besi (JBF) terhadap peningkatan jumlah eritrosit tikus Wistar betina anemia.

K. Definisi Operasional dan Kriteria Obyektif

1. Jagung biofortifikasi besi

Jagung biofortifikasi besi yang dimaksud dalam penelitian ini adalah biji jagung yang diperoleh melalui proses biofortifikasi menggunakan *Pseudomonas putida* FNCC – 0071 dengan variasi asupan, yakni 10, 12,14, dan 16 % bobot tubuh tukus Wistar betina anemia.

Skala : rasio

Kriteria obyektif:

- a. Jagung biofortikasi besi asupan 10% yang dimaksud dalam penelitian ini adalah berat biji jagung bentuk utuh kering yang telah direndam dalam air tawar selama 24 jam dan dipanaskan dalam panci presto selama 10 menit sebanyak 10% dari bobot



- badan masing masing individu tikus Wistar betina anemia yang digunakan pada kelompok perlakuan R-1.
- b. Jagung biofortikasi besi asupan 12% yang dimaksud dalam penelitian ini adalah berat biji jagung bentuk utuh kering yang telah direndam dalam air tawar selama 24 jam dan dipanaskan dalam panci presto selama 10 menit sebanyak 14% dari bobot badan masing masing individu tikus Wistar betina anemia yang digunakan pada kelompok perlakuan R-2.
- c. Jagung biofortikasi besi asupan 14% yang dimaksud dalam penelitian ini adalah berat biji jagung bentuk utuh kering yang telah direndam dalam air tawar selama 24 jam dan dipanaskan dalam panci presto selama 10 menit sebanyak 14% dari bobot badan masing masing individu tikus Wistar betina anemia yang digunakan pada kelompok perlakuan R-3.
- d. Jagung biofortikasi besi asupan 16% yang dimaksud dalam penelitian ini adalah berat biji jagung bentuk utuh kering yang telah direndam dalam air tawar selama 24 jam dan dipanaskan dalam panci presto selama 10 menit sebanyak 16% dari bobot badan masing masing individu tikus Wistar betina anemia yang digunakan pada kelompok perlakuan R-4.

2. Kadar hemoglobin

Kadar hemoglobin dalam penelitian ini adalah rerata kadar hemoglobin dalam darah tikus Wistar betina pada kelompok kontrol



dan kelompok intervensi dengan satuan mg/dL yang diukur dengan Easy Touch GCHb Meter Made in Taiwan

Skala : Rasio

- a. Kadar hemoglobin pre, yaitu kadar hemoglobin dalam darah tikus Wistar betina anemia sebelum pemberian jagung biofortifikasi besi.
- b. Kadar hemoglobin hari ke-7, yaitu kadar hemoglobin dalam darah tikus wistar betina yang diukur pada hari ke-7 setelah pemberian jagung biofortifikasi besi.

3. Formasi eritrosit

Formasi eritrosit dalam penelitian ini adalah rerata jumlah eritrosit dalam darah tikus Wistar betina pada kelompok kontrol dan kelompok intervensi dengan satuan sel/ μ L yang dihitung dengan Hemacytometer Counting Neubeur Chamber.

Skala : Rasio

- a. Formasi eritrosit pre, yaitu jumlah eritrosit dalam darah tikus Wistar betina anemia sebelum pemberian jagung biofortifikasi besi.
- b. Formasi eritrosit hari ke-7, yaitu jumlah eritrosit dalam darah tikus Wistar betina yang diukur pada hari ke-7 setelah pemberian jagung biofortifikasi besi.

