

KARYA AKHIR

KHASIAT PEMBERIAN MULTI *STRAIN* PROBIOTIK (BAKTERI DAN RAGI) TERHADAP INDEKS ERITROSIT DAN INDEKS MENTZER PADA PENGOBATAN ANAK DENGAN DEFISIENSI BESI

EFFICACY OF PROBIOTIC BACTERIA AND YEAST STRAIN TO ERITROCITE INDEX AND MENTZER INDEX ON CHILDREN WITH IRON DEFICIENCY



OLEH

UTARI PRASETYANINGRUM

C105181007

PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1 (Sp.1)

PROGRAM STUDI ILMU KESEHATAN ANAK

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2023

**KHASIAT PEMBERIAN MULTI *STRAIN* PROBIOTIK (BAKTERI DAN
RAGI) TERHADAP INDEKS ERITROSIT DAN INDEKS MENTZER
PADA PENGOBATAN ANAK DENGAN DEFISIENSI BESI**

Karya Akhir

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar Spesialis Anak

Program Studi

Ilmu Kesehatan Anak

Disusun dan diajukan oleh

UTARI PRASETYANINGRUM

Kepada

PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1 (Sp.1)

PROGRAM STUDI ILMU KESEHATAN ANAK

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2023

LEMBAR PENGESAHAN TUGAS AKHIR

KHASIAT PEMBERIAN MULTI STRAIN PROBIOTIK (BAKTERI DAN RAGI) TERHADAP INDEKS ERITROSIT DAN INDEKS MENTZER PADA PENGOBATAN ANAK DENGAN DEFISIENSI BESI

Disusun dan diajukan oleh:

UTARI PRASETYANINGRUM
NIM: C105181007

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Program Pendidikan Dokter Spesialis Ilmu Kesehatan Anak Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin pada tanggal 3 Juli 2023 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Monyetuju!

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

Dr. dr. Nadirah Rusydi Balha, M.Kes, Sp.A(K)
NIP. 19730515 200112 2 004

Dr. dr. Ema Alastiry, Sp.A(K)
NIP. 19700401 199903 2 001

Ketua Program Studi,

Dekan Fakultas
Kedokteran Pascasarjana,



Dr. dr. Sa'adah Lawang, M.Kes, Sp.A(K)
NIP. 19730321 200812 2 002

Prof. Dr. dr. Hasmuni Rusydi, M.Kes, Sp.PD-KGH, Sp.GK
NIP. 19560507 199603 2 001

SURAT PERNYATAAN

Yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : dr. Utari Prasetyaningrum

No. Stribuk : C105181007

Program Studi : Ilmu Kesehatan Anak

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa tidak terdapat konflik kepentingan dalam pelaksanaan penelitian **Khasiat Pemberian Multi Strain Probiotik (Bakteri dan Ragl) Terhadap Indeks Eritrosit dan Indeks Mentzer pada Pengobatan Anak Dengan Defisiensi Besi**. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa terdapat konflik kepentingan, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 3 Juli 2023

Yang membuat pernyataan



Utari Prasetyaningrum

KATA PENGANTAR

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

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

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

Penulis juga mengucapkan banyak terima kasih kepada penguji yang telah banyak memberikan masukan dan perbaikan untuk karya akhir ini, yaitu **Prof. Dr. dr. Syarifuddin Rauf, Sp.A(K)**, **dr. Setia Budi Salekede, Sp.A(K)**, dan **dr. Ratna Dewi Artati, Sp.A(K), MARS**.

Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada:

1. Rektor dan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin atas kesediaannya menerima penulis sebagai peserta pendidikan pada Program Studi Ilmu Kesehatan Anak, Universitas Hasanuddin.
2. Koordinator Program Pendidikan Dokter Spesialis I, Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin yang senantiasa memantau dan membantu kelancaran pendidikan penulis.
3. Ketua Departemen, Ketua dan Sekretaris Program Studi Ilmu Kesehatan Anak Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin beserta seluruh staf pengajar (*supervisor*) Departemen Ilmu Kesehatan Anak atas bimbingan, arahan, dan nasehat yang tulus selama penulis menjalani pendidikan.

4. Direktur RSUP dr. Wahidin Sudirohusodo, Direktur RSP Universitas Hasanuddin, dan Direktur RS Jejaring atas ijin dan kerjasamanya untuk memberikan kesempatan kepada penulis untuk menjalani pendidikan di rumah sakit tersebut.
5. Semua staf administrasi di Departemen Ilmu Kesehatan Anak Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin dan semua paramedis di RSUP dr. Wahidin dan rumah sakit jejaring yang lain atas bantuan dan kerjasamanya selama penulis menjalani pendidikan.
6. Orang tua saya (**Alm**) **dr. Herdjan Eddy Setyono** dan **dr. Evi Ariani**, serta kakak saya **Muhammad Rizky, S.E., M.M** yang senantiasa mendukung dalam doa dan dorongan yang sangat berarti sehingga penulis mampu menjalani proses Pendidikan dan dapat menyelesaikan penulisan karya akhir ini.
7. Semua teman sejawat peserta Program Pendidikan Dokter Spesialis I Ilmu Kesehatan Anak, terutama angkatan Juli 2018 : **dr. Andi Utari Dwi Rahayu, Sp.A, dr. Min Ayatina, dr. Gracia Dewi Indrawati, Sp.A, dr. Dian Anggreni Hafid, dr. Nurfajrin Utami Ansari, dr. Abdi Dwiyanto Putra Samosir, dr. Nursyamsuddin Mogana, dr. Zulfi Hidayat, dr. Kharisma Andi Akhmad** atas bantuan dan kerjasamanya yang menyenangkan, berbagai suka, dan duka selama penulis menjalani pendidikan.
8. Teman – teman PPDS sekaligus tim penelitian penulis (**dr. Sidrah Darma, Sp.A, dr. Misjunaling Palayukan, Sp.A, dr. Rini Wulandari, Sp.A, dr. Zulyudisiawan Muin, dan dr. Randy Suryawan**) yang telah berbaik hati membantu dan bekerjasama dengan baik selama penelitian berlangsung.
9. Semua pihak yang tidak sempat penulis sebutkan satu persatu yang turut membantu menyelesaikan karya akhir ini.

Dan akhirnya penulis berharap semoga tulisan ini dapat memberikan manfaat bagi perkembangan Ilmu Kesehatan Anak di masa mendatang. Tak lupa penulis

mohon maaf untuk hal-hal yang tidak berkenan dalam penulisan ini karena penulis menyadari sepenuhnya bahwa penulisan hasil penelitian ini masih jauh dari kesempurnaan.

Makassar, 3 Juli 2023

Utari Prasetyaningrum

ABSTRAK

UTARI PRASETYANINGRUM. *Khasiat Pemberian Multi Strain Probiotik (Bakteri dan Ragi) Terhadap Indeks Eritrosit dan Indeks Mentzer pada Pengobatan Anak dengan Defisiensi Besi (dibimbing oleh Nadrah Rasyid Ridha, Ema Alasiry, Syarifuddin Rauf, Setia Budi Salekede, dan Ratna Dewi Artati).*

Probiotik merupakan mikroorganisme hidup yang dapat memperbaiki struktur histologi usus dan memulihkan flora usus yang diharapkan mampu meningkatkan fungsi absorpsi (terutama zat besi) dan dapat menjadi solusi potensial yang bisa dikembangkan untuk mengatasi masalah anemia defisiensi besi pada anak. Penelitian ini bertujuan mengetahui khasiat pemberian kombinasi probiotik strain bakteri dan ragi pada pengobatan anak dengan defisiensi besi. Desain penelitian ini adalah *randomized controlled trial* (RCT), *double blind* yang dilakukan terhadap 131 anak dengan defisiensi besi yang terbagi atas tiga kelompok yang dipilih secara acak. Kelompok A (probiotik strain bakteri dan ragi; kelompok B (probiotik strain bakteri); dan kelompok C (plasebo). Probiotik diberikan selama 7 hari dan terapi standar selama 30 hari, kemudian dievaluasi indeks eritrosit dan indeks mentzer. Hasil penelitian menunjukkan terdapat peningkatan yang bermakna nilai MCV ($p=0,000$) dan MCH ($p=0,000$) setelah pemberian terapi, tetapi untuk indeks mentzer penurunan ditemukan tidak bermakna secara statistik. Nilai MCV pada kelompok A lebih tinggi secara bermakna dibandingkan kelompok B ($p=0,025$) dan kelompok C ($p=0,011$). Sementara selisih peningkatan nilai MCV, MCH, dan penurunan indeks Mentzer sebelum dan setelah terapi antara ketiga kelompok setelah diberikan perlakuan tidak menunjukkan perbedaan bermakna. Disimpulkan bahwa anak dengan defisiensi besi yang mendapat probiotik kombinasi strain bakteri dan ragi menunjukkan nilai MCV yang lebih tinggi daripada yang mendapatkan probiotik strain bakteri atau pun plasebo bersama terapi standar.

Kata kunci: probiotik strain bakteri, probiotik strain ragi, defisiensi besi, anak



ABSTRACT

UTARI PRASETYANINGRUM. *The Efficacy of Probiotic Bacteria and Yeast Strain to Erythrocyte Index and Mentzer Index on Children with Iron Deficiency* (supervised by Nadirah Rasyid Ridha, Ema Alasiry, Syarifuddin Rauf, Setia Budi Salekede, and Ratna Dewi Artati)

Probiotics are live microorganisms that can repair the histological structure and restoring the microflora of intestines which are expected to improve the absorption function of nutrients (especially iron), so it can be a potential solution to be developed to overcome the problem of iron deficiency anemia in children. The aim of this study is to determine the efficacy of giving a combination of probiotic strains of bacteria and yeast in the treatment of children with iron deficiency. The methods used were randomized controlled trial (RCT) and double blind, which was conducted on 131 children with iron deficiency that was divided into three groups selected randomly. Group A (probiotic bacterial and yeast strains), B (probiotic bacterial strain), and C (placebo). Probiotic was given for seven days and standard therapy for 30 days. Then the erythrocyte index and mentzer index were evaluated. The results show that there is a significant increase in MCV ($p=0.000$) and MCH ($p=0.000$) values after treatment, but a decrease on the Mentzer index after treatment not statistically significant. The MCV value in group A is significantly higher than B ($p=0.025$) and C ($p=0.011$). Meanwhile, the difference in MCV, MCH, and mentzer index values in the three groups do not show a significant difference after being given treatment. In conclusion, children with iron deficiency who receive probiotics combined with bacterial and yeast strains show a higher MCV values than those who receive probiotics with bacterial strains or placebo along with standard therapy.

Keywords: bacterial strain probiotics, yeast strain probiotics, iron deficiency, children



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGAJUAN KARYA AKHIR	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERYATAAN KEASLIAN	iv
HALAMAN PENGANTAR	v
ABSTRAK	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
DAFTAR SINGKATAN	xviii
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang Masalah	1
1.2. Rumusan Masalah	5
1.3. Tujuan Penelitian	6
1.3.1. Tujuan Umum	6
1.3.2. Tujuan Khusus	6
1.4. Hipotesis	7
1.5. Manfaat Penelitian	8
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	10
21. Anemia Defisiensi Besi	10
2.1.1. Definisi	10
2.1.2. Epidemiologi	12
2.1.3. Etiologi	14
2.1.4. Metabolisme dan Absorpsi Besi.....	16
2.1.5. Faktor yang Mempengaruhi Absorpsi Besi.....	24
2.1.6. Manifestasi Klinis	25
2.1.7. Pemeriksaan Laboratorium	28
2.1.8. Diagnosis Banding	30

2.1.10. Penatalaksanaan	32
2.2 Indeks Eritrosit dan Indeks Mentzer.....	34
2.2.1. Indeks Eritrosit.....	34
2.2.2. Indeks Mentzer	37
2.3 Probiotik.....	38
2.3.1. Definisi	38
2.3.2. Kolonisasi usus dan mikroorganisme probiotik	39
2.3.3. Fungsi Probiotik.....	40
2.3.4. Metabolisme Probiotik	47
2.3.5. Dosis Probiotik	48
2.3.6. Toksisitas Probiotik	50
2.3.7. <i>Lactobacillus acidophilus</i> dan <i>Bifidobacterium</i> ..	51
2.3.8. <i>Saccharomyces boulardii</i>	52
2.3.9. Mekanisme Kerja Probiotik <i>Saccharomyces</i> <i>Boulardii</i>	53
2.4 Peranan Probiotik Terhadap Anemia Defisiensi Besi	56
2.5 Kerangka Teori.....	63
BAB III. KERANGKA KONSEP	64
BAB IV. METODOLOGI PENELITIAN	65
4.1. Desain Penelitian	65
4.2. Lokasi dan Waktu Penelitian	65
4.3. Populasi dan Sampel Penelitian	65
4.4. Kriteria Inklusi dan Eksklusi	67
4.5. Ijin Penelitian dan <i>Ethical Clearance</i>	68
4.6. Cara Kerja	68
4.6.1. Alokasi Subyek	68
4.6.2. Prosedur Penelitian	69
4.7. Evaluasi Klinis	70
4.8. Alur Penelitian	71
4.9. Identifikasi Variabel	71
4.10. Definisi Operasional dan Kriteria Objektif	72

4.10.1. Definisi Operasional	72
4.10.2. Kriteria Objektif	74
4.11. Pengolahan dan Analisis Data.....	76
IV.11.1. Analisis Univariat	77
IV.11.2. Analisis Bivariat	77
BAB V. HASIL PENELITIAN	78
5.1. Jumlah Sampel	78
5.2. Analisis Karakteristik Subjek Penelitian	79
5.3. Evaluasi Hasil Terapi.....	84
5.3.1 Analisis nilai indeks eritrosit dan indeks Mentzer pada masing-masing kelompok perlakuan.....	84
5.3.2 Analisis perbandingan nilai indeks eritrosit dan indeks Mentzer pada masing-masing kelompok perlakuan setelah diberikan terapi	88
5.3.3 Analisis perbandingan selisih nilai indeks eritrosit dan indeks Mentzer pada masing-masing kelompok perlakuan setelah pemberian terapi.....	94
BAB VI. PEMBAHASAN	97
BAB VII. KESIMPULAN DAN SARAN	107
7.1. Kesimpulan	107
7.2. Saran	108
DAFTAR PUSTAKA	109
LAMPIRAN	117

DAFTAR TABEL

Tabel 1.	Batas Normal Kadar Hemoglobin.....	10
Tabel 2.	Tahapan Anemia Defisiensi besi	12
Tabel 3.	Pemeriksaan laboratorium untuk membadakan ADB, Talasemia minor dan anemia penyakit kronis	31
Tabel 4.	Respon tubuh terhadap pemberian besi di ADB	34
Tabel 5.	Mikroorganisme Probiotik	40
Tabel 6.	Beberapa Deskripsi Produk <i>S. boulardii</i> di Eropa dan Amerika.....	49
Tabel 7.	Perbandingan Mekanisme kerja probiotik bakteri dibandingkan <i>S. boulardii</i>	54
Tabel 8.	Metaanalisis beberapa penelitian efek probiotik	61
Tabel 9.	Karakteristik sampel penelitian berdasarkan klinis antara kelompok A yang diberikan terapi standar bersama multi <i>strain</i> probiotik (bakteri dan ragi), kelompok B yang diberikan terapi standar bersama probiotik <i>strain</i> bakteri, serta kelompok C terapi standar bersama plasebo	80
Tabel 10.	Analisis pemeriksaan kadar nilai indeks eritrosit dan indeks Mentzer antara kelompok A yang diberikan terapi standar bersama multi <i>strain</i> probiotik (bakteri dan ragi), kelompok B yang diberikan terapi standar bersama probiotik <i>strain</i> bakteri, serta kelompok C terapi standar bersama plasebo ...	82
Tabel 11.	Analisis nilai indeks eritrosit dan indeks Mentzer pada kelompok A (terapi standar bersama multi <i>strain</i> probiotik (bakteri dan ragi))	84
Tabel 12.	Analisis nilai indeks eritrosit dan indeks Mentzer pada kelompok B (terapi standar bersama probiotik <i>strain</i> bakteri)	85
Tabel 13.	Analisis nilai indeks eritrosit dan indeks Mentzer pada kelompok C (terapi standar bersama plasebo).....	87
Tabel 14.	Perbandingan nilai indeks eritrosit dan indeks Mentzer pada kelompok A setelah diberikan terapi standar bersama multi	

<i>strain</i> probiotik (bakteri dan ragi), dan kelompok B setelah diberikan terapi standar bersama probiotik <i>strain</i> bakteri....	89
Tabel 15. Perbandingan nilai indeks eritrosit dan indeks Mentzer pada kelompok A setelah diberikan terapi standar bersama multi <i>strain</i> probiotik (bakteri dan ragi), dan kelompok C setelah diberikan terapi standar bersama plasebo.....	91
Tabel 16. Perbandingan nilai indeks eritrosit dan indeks Mentzer pada kelompok B setelah diberikan terapi standar bersama probiotik <i>strain</i> bakteri, dan kelompok C setelah diberikan terapi standar bersama plasebo	93
Tabel 17. Nilai selisih indeks eritrosit dan indeks Mentzer, sebelum dan setelah terapi kelompok A yang diberikan terapi standar bersama multi <i>strain</i> probiotik (bakteri dan ragi) dibandingkan dengan kelompok B yang diberikan terapi standar bersama probiotik <i>strain</i> bakteri.....	95

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Insidensi Anemia Defisiensi Besi di seluruh dunia.....	13
Gambar 2. Distribusi ADB sesuai Umur dan Jenis Kelamin di Indonesia ..	13
Gambar 3. Homeostasis besi tubuh	17
Gambar 4. Mekanisme absorpsi besi melalui enterosit	18
Gambar 5. Fase absorpsi besi di dalam usus.....	19
Gambar 6. Pengaturan besi oleh mukosa usus	20
Gambar 7. Mikrograf elektron dari sel-sel goblet mukosa usus normal (kiri) dan anemia defisiensi besi (kanan).....	21
Gambar 8. Peranan Hcpidin Pada Homeostasis Besi	22
Gambar 9. Konjungtiva anemis	26
Gambar 10. <i>Stomatitis angularis</i>	26
Gambar 11. Glossitis	27
Gambar 12. Koilonikia (<i>Spoon nail</i>)	27
Gambar 13. Hasil pemeriksaan laboratorium pada 3 tahap defisiensi besi ...	29
Gambar 14. Produksi Sel Darah Merah yang optimal membutuhkan erythropoietin dan Besi.....	36
Gambar 15. Pengelompokan anemia berdasarkan morfologi dari eritrosit ..	37
Gambar 16. Mikroflora Usus	39
Gambar 17. Mekanisme kerja probiotik	44
Gambar 18. Mekanisme probiotik di saluran pencernaan manusia	45

Gambar 19. <i>Lactobacillus acidophilus</i>	52
Gambar 20. Mikrografi electron <i>S. Boulardii</i>	53
Gambar 21. Mekanisme kerja <i>S. Boulardii</i>	54
Gambar 22. Mekanisme Regulasi Besi di Lumen Usus Besar	57
Gambar 23. Probiotik dimetabolisme oleh mikrobiota komensal usus	58
Gambar 24. Diagram Skema Penelitian	79

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Tabel Random Sampling	112
Lampiran 2. Naskah Penjelasan untuk Mendapat Persetujuan dari Keluarga/ Subjek Penelitian	114
Lampiran 3. Surat persetujuan mengikuti penelitian	117
Lampiran 4. Biodata Peneliti	118
Lampiran 5. Surat Izin Penelitian	119
Lampiran 6. Rekomendasi Persetujuan Etik	120
Lampiran 7. Pemeriksaan Darah Rutin dan Retikulosit	121
Lampiran 8. Pemeriksaan Ferritin	123
Lampiran 9. Surat Pernyataan	124
Lampiran 10. Dokumentasi Penelitian	125

DAFTAR SINGKATAN

Singkatan	Arti dan Keterangan
ADB	: Anemia defisiensi besi
BMP	: <i>Bone Morphogenetic Proteins</i>
CBC	: <i>Complete Blood Count</i>
DCs	: <i>Dendritic Cells</i>
DCytb	: <i>Doudenal Cytochrome B</i>
DMT-1	: <i>Duodenal Metal Transporter 1</i>
DNA	: <i>Deoxyribo Nucleic Acid</i>
FAO	: <i>Food and Agriculture Organization</i>
Hb	: Hemoglobin
HCP1	: <i>Heme Carrier Protein 1</i>
HIV	: <i>Human Immunodeficiency Virus</i>
HO	: Hemeoksigenase
IDAI	: Ikatan Dokter Anak Indonesia
IECs	: <i>Intestinal Epithelial Cells</i>
IM	: Indeks Mentzer
LKSA	: Lembaga Kesejahteraan Sosial Anak
LPS	: Lipopolisakarida
MCH	: <i>Mean Corpuscular Hemoglobin</i>
MCHC	: <i>Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration</i>
MCV	: <i>Mean Corpuscular Values</i>
PAMPs	: <i>Pathogen Associated Molecular Pattern</i>
PKC	: Protein Kinase C
PNH	: Paroksismal Nokturnal Hemoglobinuria
PRR	: <i>Pattern Recognition Receptor</i>
RCT	: <i>Randomized Control Trial</i>
SCFA	: <i>Short Chain Fatty Acid</i>

Singkatan	Arti dan Keterangan
SEANUTS	: <i>South East Asia Nutrition Survey</i>
sIgA	: <i>Secretory immunoglobulin A</i>
SOP	: Standar Operasional Pelayanan
TfR	: Transferrin
TGF- β	: Transforming Growth Factor- β
TIBC	: <i>Total Iron Binding Capacity</i>
TLRs	: <i>Toll Like Receptor</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>
ZO-2	: <i>Zonula Ocludens</i>

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Anemia defisiensi besi (ADB) adalah anemia yang disebabkan oleh kekurangan zat besi yang dibutuhkan untuk sintesis hemoglobin. Menurut Dallman, ADB adalah anemia akibat kekurangan zat besi sehingga konsentrasi hemoglobin menurun di bawah 95% dari nilai hemoglobin rata-rata berdasarkan umur dan jenis kelamin yang sama (Ajeng, 2016).

Anemia defisiensi besi merupakan penyebab paling sering dari anemia di seluruh dunia, yang menyebabkan sel darah merah menjadi mikrositik dan hipokromik pada apusan darah tepi. Pasien sering kali mengalami keluhan nonspesifik seperti kelelahan dan sesak saat beraktivitas. Pasien ADB ditemukan dengan waktu rawat inap lebih lama di rumah sakit dan komplikasi yang lebih banyak (Warner et al, 2020).

Diperkirakan sekitar 25% populasi dunia mengalami ADB, dan kebanyakan mereka hidup di Negara berkembang. Di Indonesia ADB juga merupakan salah satu masalah kesehatan utama yang angka kejadiannya cukup tinggi. Berdasarkan laporan Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas 2013), sebanyak 21,7% penduduk di Indonesia mengalami anemia. Angka kejadian ADB pada anak usia 12 – 59 bulan sebesar 28,1%, 5 – 14 tahun sebesar 26,4%, dan usia 15 – 24 tahun sebesar 18,4%. Kondisi ini perlu mendapat perhatian serius sebab anemia memiliki dampak luas yang dapat menurunkan kualitas sumber daya manusia karena dapat menyebabkan gangguan pertumbuhan pada anak, menurunkan konsentrasi, dan menurunkan produktivitas kerja (Riskesdas, 2018).

Pada ADB nilai indeks eritrosit MCV, MCH akan menurun, sedangkan MCHC akan menurun pada keadaan berat. Gambaran morfologi darah tepi ditemukan keadaan hipokrom, mikrositik, anisositosis dan poikilositosis (Ajeng, 2016).

Indeks Mentzer (IM) adalah salah satu formula indeks diskriminasi yang dikembangkan sebagai uji tapis *trait* thalassemia untuk membedakannya dari

anemia mikrositik hipokrom lain khususnya ADB dengan menghitung volume rata-rata sel atau *Mean Corpuscular Volume* (MCV) dibagi dengan jumlah eritrosit. Alam dkk telah menggunakan IM untuk diagnosis ADB anak usia sekolah dengan hasil yang baik yaitu sensitivitas 93% dan spesifisitas 84%. Sedangkan Vehapoglu dkk menemukan bahwa IM memiliki sensitivitas 98,7%, spesifisitas 82,3% tertinggi dibandingkan indeks diskriminasi lain untuk mendiagnosis *trait* thalassemia (Teny, 2019).

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

Berdasarkan bentuk ikatan dan fungsinya zat besi di dalam tubuh terbagi atas 2 macam, yaitu: (1). Zat besi yang membentuk ikatan heme dengan protein (heme-protein) adalah sekitar 10% berasal dari makanan. Zat besi ini dapat langsung diserap tanpa memperhatikan cadangan besi dalam tubuh, asam lambung ataupun zat yang dikonsumsi. (2). Cadangan dan transport zat besi (non heme iron) ada sekitar 90% berasal dari makanan, yaitu dalam bentuk senyawa besi inorganik ferri (Fe^{3+}), agar diserap dalam usus besinya harus diubah dulu menjadi bentuk ferro (Fe^{2+}). Penyerapan besi oleh tubuh terutama dimukosa usus duodenum sampai pertengahan jejunum. Penyerapan besi akan meningkat pada keadaan asam dan defisiensi besi sedangkan penyerapan akan menurun pada keadaan basa, infeksi, adanya bahan makanan yang mengandung phytat dan kelebihan zat besi (Ajeng, 2016).

Solusi potensial yang bisa dikembangkan untuk mengatasi masalah ADB adalah dengan mengoptimalkan peran probiotik. Probiotik merupakan mikroorganisme hidup yang saat ini banyak dikembangkan dan memberi

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

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

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

Penelitian yang dilakukan Manoppo et al terhadap 66 anak usia 5 – 12 tahun yang diberikan probiotik *Lactobacillus reuteri* pada anak dengan anemia

defisiensi besi dengan hasil secara signifikan mengalami kenaikan Ret He pada kelompok yang diberikan probiotik (Manoppo et al, 2019).

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

Penelitian yang dilakukan juga oleh Skyripnik et al pada hewan coba tikus yang diberikan multispecies probiotik dengan hasil terdapat perbedaan signifikan kenaikan kadar hemoglobin antara kelompok yang diberikan probiotik dengan kelompok kontrol (Skyripnik et al, 2019).

Penelitian yang dilakukan oleh Yaghchi et al menjelaskan bahwa terjadi peningkatan kadar serum besi dan *Total Iron Binding Capacity* (TIBC) pada hewan coba yang terpapar toksin aluminium dan mendapatkan terapi probiotik *Saccharomyces boulardii* (Yaghchi et al, 2018).

Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Misjunaling Palayukan tentang khasiat pemberian probiotik *Saccharomyces Boulardii* terhadap indeks eritrosit dan indeks Mentzer pada pengobatan anak dengan defisiensi besi didapatkan hasil bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan baik nilai indeks eritrosit (MCV dan MCH) serta indeks Mentzer pada anak yang menderita defisiensi besi sebelum dan setelah diberikan perlakuan pada kelompok terapi standar bersama *Saccharomyces boulardi* dibandingkan dengan kelompok terapi standar bersama plasebo (Palayukan M, 2021).

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

bersinergi dengan masing-masing *strain* didalamnya dibandingkan dengan *single strain*.

Pada penelitian Sidrah Darma menunjukkan kadar Ret-He yang lebih tinggi pada anak dengan defisiensi besi yang mendapat *Saccharomyces Boulardii* bersama terapi standar selama 7 hari daripada yang mendapatkan plasebo bersama terapi standar (Darma S, 2021). Sedangkan pada penelitian Rini Wulandari didapatkan hasil adanya peningkatan kadar retikulosit dan Ret-He yang lebih tinggi pada anak dengan defisiensi besi yang mendapat probiotik *strain* bakteri dan terapi standar selama 7 hari dibandingkan dengan yang mendapat plasebo dan terapi standar ataupun kombinasi multi *strain* probiotik (bakteri dan ragi) dan terapi standar (Wulandari R, 2021). Ret-He digunakan pada skrining kondisi defisiensi besi pada bayi dan anak-anak dan telah terbukti sebagai prediktor yang paling kuat terhadap kondisi defisiensi besi dengan atau tanpa anemia, Ret-He juga dapat digunakan sebagai prediktor keberhasilan terapi besi (Ucar A et al, 2019).

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

Penelitian tentang khasiat multi *strain* probiotik (bakteri dan ragi) pada pengobatan anak dengan defisiensi besi **belum pernah** diteliti sebelumnya di Makassar.

1.2 Rumusan Masalah

Dengan memperhatikan latar belakang permasalahan, maka dirumuskan masalah penelitian sebagai berikut : Apakah pemberian multi *strain* probiotik

(bakteri dan ragi) dapat mempengaruhi indeks eritrosit dan indeks Mentzer pada pengobatan anak dengan defisiensi besi?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Menilai khasiat pemberian multi *strain* probiotik (bakteri dan ragi) pada pengobatan anak dengan defisiensi besi.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Menentukan anak yang mengalami defisiensi besi setelah dilakukan pemeriksaan hemoglobin, retikulosit dan ferritin.
2. Menghitung nilai indeks eritrosit dan indeks Mentzer pada pengobatan anak dengan defisiensi besi sebelum diberikan terapi standar bersama plasebo, terapi standar bersama probiotik *strain* bakteri serta terapi standar bersama multi *strain* probiotik (bakteri dan ragi).
3. Menghitung nilai indeks eritrosit dan indeks Mentzer pada pengobatan anak dengan defisiensi besi setelah diberikan terapi standar bersama plasebo, terapi standar bersama probiotik *strain* bakteri serta terapi standar bersama multi *strain* probiotik (bakteri dan ragi).
4. Membandingkan nilai indeks eritrosit dan indeks Mentzer pada pengobatan anak dengan defisiensi besi sebelum dan setelah diberikan terapi standar bersama plasebo, terapi standar bersama probiotik *strain* bakteri serta terapi standar bersama multi *strain* probiotik (bakteri dan ragi).
5. Membandingkan nilai indeks eritrosit dan indeks Mentzer pada pengobatan anak dengan defisiensi besi setelah diberikan terapi standar bersama probiotik *strain* bakteri dan terapi standar bersama multi *strain* probiotik (bakteri dan ragi).
6. Membandingkan nilai indeks eritrosit dan indeks Mentzer pada pengobatan anak dengan defisiensi besi setelah diberikan terapi standar bersama plasebo dan terapi standar bersama multi *strain* probiotik (bakteri dan ragi).

7. Membandingkan nilai indeks eritrosit dan indeks Mentzer pada pengobatan anak dengan defisiensi besi setelah diberikan terapi standar bersama plasebo dan terapi standar bersama probiotik *strain* bakteri.
8. Menghitung selisih nilai indeks eritrosit dan indeks Mentzer pada pengobatan anak dengan defisiensi besi sebelum dan setelah diberikan terapi standar bersama plasebo, terapi standar bersama probiotik *strain* bakteri serta terapi standar bersama multi *strain* probiotik (bakteri dan ragi).
9. Membandingkan selisih nilai indeks eritrosit dan indeks Mentzer pada pengobatan anak dengan defisiensi besi sebelum dan setelah diberikan terapi standar bersama plasebo, terapi standar bersama probiotik *strain* bakteri serta terapi standar bersama multi *strain* probiotik (bakteri dan ragi).

1.4 Hipotesis

Hipotesis yang diajukan pada penelitian ini, antara lain:

1. Nilai indeks eritrosit lebih tinggi dan indeks Mentzer lebih rendah pada anak dengan defisiensi besi setelah diberikan terapi standar bersama plasebo, terapi standar bersama probiotik *strain* bakteri serta terapi standar bersama multi *strain* probiotik (bakteri dan ragi).
2. Nilai indeks Eritrosit lebih tinggi dan indeks Mentzer lebih rendah pada anak dengan defisiensi besi yang diberikan terapi standar bersama multi *strain* probiotik (bakteri dan ragi) dibandingkan dengan terapi standar bersama probiotik *strain* bakteri.
3. Nilai indeks eritrosit lebih tinggi dan indeks Mentzer lebih rendah pada anak dengan defisiensi besi yang diberikan terapi standar bersama probiotik *strain* bakteri dibandingkan dengan terapi standar bersama plasebo.
4. Nilai indeks eritrosit lebih tinggi dan indeks Mentzer lebih rendah pada anak dengan defisiensi besi yang diberikan terapi standar bersama multi *strain* probiotik (bakteri dan ragi) dibandingkan dengan terapi standar bersama plasebo.
5. Selisih peningkatan indeks eritrosit dan selisih penurunan indeks Mentzer lebih tinggi pada anak dengan defisiensi besi setelah diberikan terapi

standar bersama multi *strain* probiotik (bakteri dan ragi) lebih tinggi dibandingkan dengan terapi standar bersama probiotik *strain* bakteri.

6. Selisih peningkatan indeks eritrosit dan selisih penurunan indeks Mentzer lebih tinggi pada anak dengan defisiensi besi setelah diberikan terapi standar bersama probiotik *strain* bakteri lebih tinggi dibandingkan dengan terapi standar bersama plasebo.
7. Selisih peningkatan indeks eritrosit dan selisih penurunan indeks Mentzer lebih tinggi pada anak dengan defisiensi besi setelah diberikan terapi standar bersama multi *strain* probiotik (bakteri dan ragi) lebih tinggi dibandingkan dengan terapi standar bersama plasebo.

1.5 Manfaat Penelitian

1.5.1 Pengembangan Ilmu Pengetahuan

1. Hasil Penelitian ini diharapkan dapat menambah informasi ilmiah mengenai khasiat pemberian multi *strain* probiotik (bakteri dan ragi) untuk meningkatkan nilai indeks eritrosit dan menurunkan nilai indeks Mentzer pada pengobatan anak dengan defisiensi besi.
2. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi dan pengembangan yang berarti terhadap penelitian-penelitian tentang khasiat multi *strain* probiotik (bakteri dan ragi) pada pengobatan anak dengan defisiensi besi.

1.5.2 Manfaat untuk Pemecahan Masalah Medis

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

1.5.3 Data Penelitian Selanjutnya

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

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Anemia Defisiensi Besi

2.1.1 Definisi

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

Tabel 1. Batas Normal Kadar Hemoglobin

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

Sumber : The clinical Use of Blood, WHO

Anemia defisiensi besi (ADB) adalah anemia yang terjadi akibat kekurangan cadangan zat besi. Zat besi yang tidak adekuat menyebabkan berkurangnya sintesis hemoglobin sehingga menghambat proses pematangan eritrosit. Zat besi yang tidak adekuat disebabkan oleh rendahnya asupan besi total dalam makanan atau bioavailabilitas besi yang dikonsumsi menurun (makanan banyak serat, Rendah daging, dan rendah vitamin C), kebutuhan akan zat besi yang meningkat (pada bayi prematur, anak dalam pertumbuhan, ibu hamil dan menyusui), perdarahan kronis, diare kronik, malabsorpsi, serta infeksi cacing tambang (Terri D. Johnson, 2011).

Anemia defisiensi besi merupakan hasil akhir keseimbangan negatif besi yang berlangsung lama. Bila kemungkinan keseimbangan besi yang negatif ini menetap akan menyebabkan cadangan besi terus berkurang. Dilihat dari beratnya defisiensi besi dalam tubuh, dapat dibagi menjadi 3 tingkatan, yaitu: (Purnamasari, 2018)

1. Tahap pertama

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

2. Tahap Kedua

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

3. Tahap ketiga

Tahap ini disebut sebagai ADB, keadaan ini terjadi saat besi yang menuju eritroid sumsum tulang tidak mencukupi sehingga menyebabkan penurunan kadar Hb. Dari mikrositosis dan hipokromik yang progresif. Pada tahap ini telah terjadi perubahan epitel pada ADB yang lebih lanjut.

Tabel 2. Tahapan Anemia Defisiensi besi

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

Sumber : Purnamasari, 2018

2.1.2 Epidemiologi

Diperkirakan sekitar 30% populasi dunia mengalami ADB, dan kebanyakan mereka hidup di negara berkembang. Data dari *South East Asia Nutrition Survey* (SEANUTS) tahun 2013 didapatkan 55% anak usia 6-21 bulan menderita anemia. Sedangkan di Amerika Serikat, sekitar 6% anak usia 1-2 tahun diketahui kekurangan besi, 3% menderita anemia. Sekitar 9% remaja Amerika Serikat kekurangan besi dan 2% menderita anemia, sedangkan pada anak lelaki sekitar 50% kekurangan besi saat pubertas. Prevalensi ADB lebih tinggi pada anak kulit hitam dibanding anak kulit putih. Keadaan ini mungkin berhubungan dengan status sosial ekonomi anak kulit hitam yang lebih rendah (Endang W. et.al, 2018).

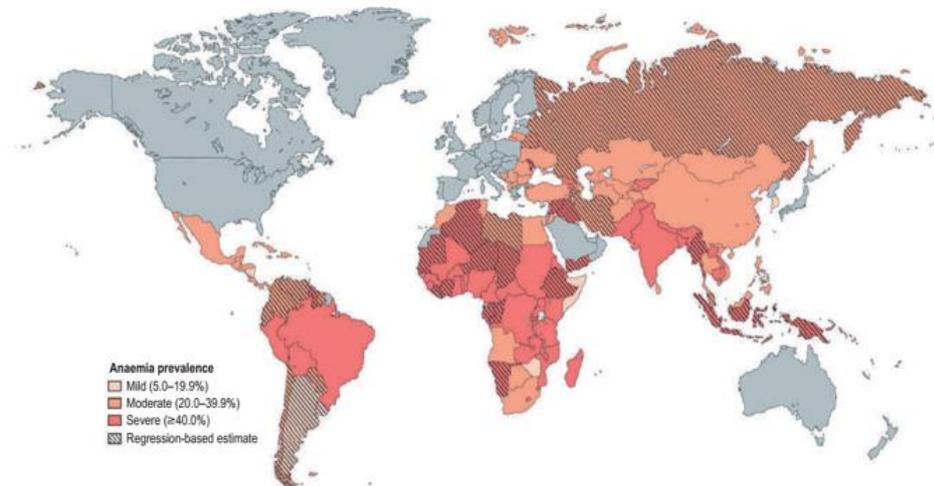
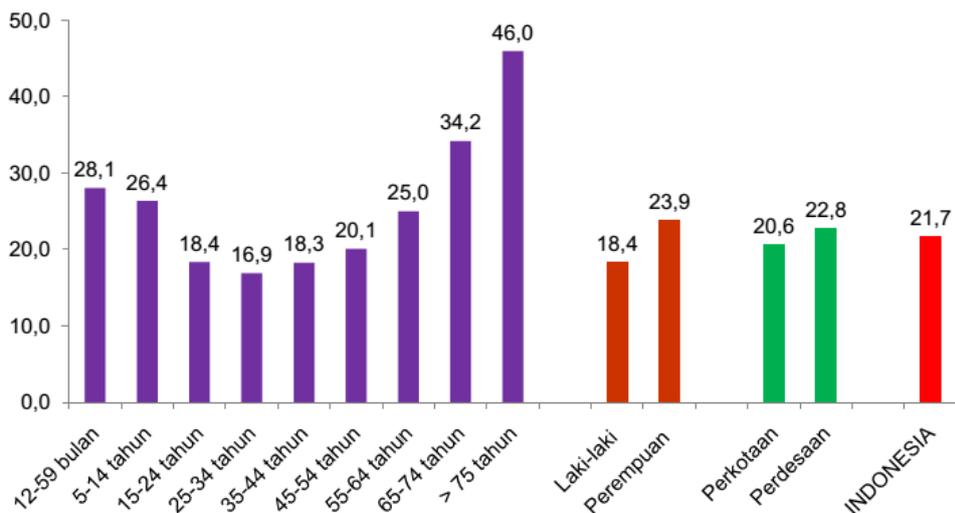


Figure 447-1 Global prevalence of anaemia in children of preschool age (0-5 yr). (Adapted from Worldwide prevalence of anaemia 1993-2005: WHO global database on anaemia. Geneva, Switzerland, 2008, World Health Organization.)

Gambar 1. Insidensi Anemia Defisiensi Besi di seluruh dunia (WHO, 2015)

Di Indonesia ADB juga merupakan salah satu masalah kesehatan utama yang angka kejadiannya cukup tinggi. Berdasarkan laporan Riset Kesehatan Dasar, sebanyak 21,7% penduduk di Indonesia mengalami anemia. Angka kejadian ADB pada anak usia 12 – 59 bulan sebesar 28,1%, 5 – 14 tahun sebesar 26,4%, dan usia 15 – 24 tahun sebesar 18,4% (Riskesdas 2013).



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

2.1.3 Etiologi

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

Kekurangan besi diakibatkan antara lain :

1. Kebutuhan yang meningkat secara fisiologis
 - **Pertumbuhan**

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

Penyebab kurang besi terjadi pada anak perempuan adalah kehilangan darah lewat menstruasi.
2. Kurangnya besi yang diserap
 - **Berhubungan dengan makanan yang tidak adekuat**

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

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

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

3. Perdarahan

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

4. Transfusi *feto-maternal*

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

5. Hemoglobinuria

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

6. *Iatrogenic blood loss*

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

7. *Idiopathic pulmonary hemosiderosis*

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

8. Latihan yang berlebihan

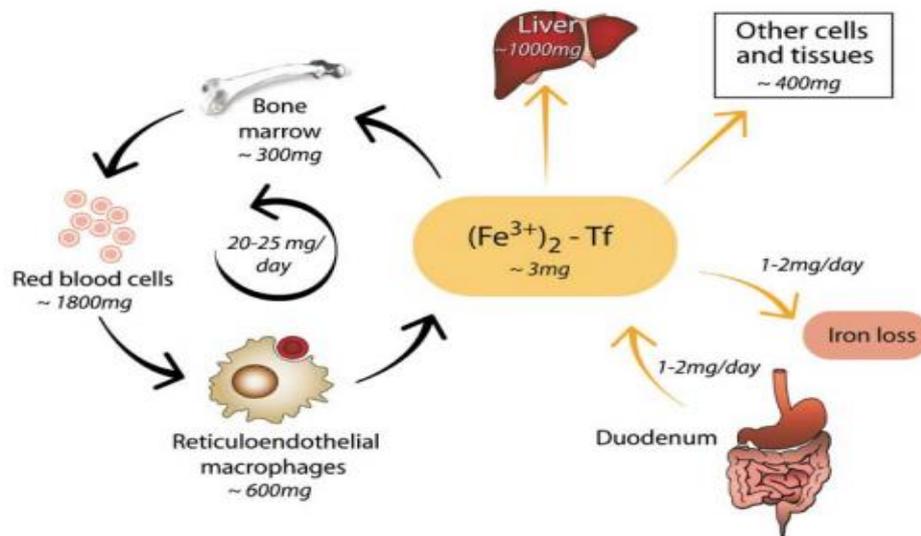
Pada atlet yang latihan berat seperti olahraga lintas alam, sekitar 40% remaja perempuan dan 17% remaja lelaki kadar feritin serumnya <10 ug/dL. Perdarahan saluran cerna yang tidak tampak akibat iskemia yang hilang timbul pada usus selama latihan berat terjadi pada 50% pelari.

2.1.4 Metabolisme dan Absorpsi Besi

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

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

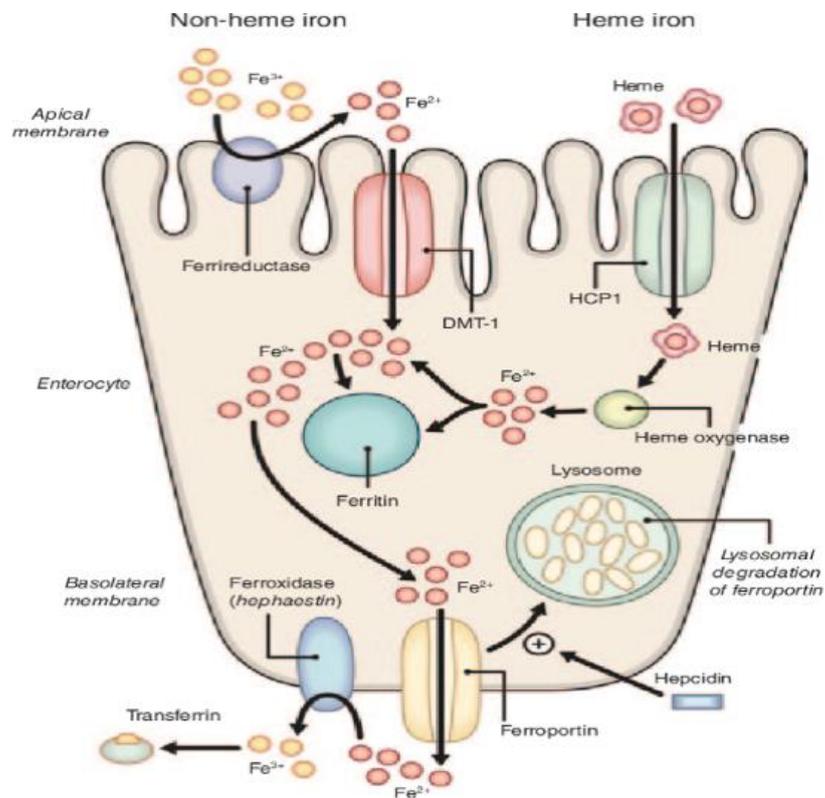
Dalam kondisi normal, masukan besi melalui diet sekitar 15 – 25 mg per hari, namun hanya sekitar 5 – 10% (1 – 2 mg) besi yang dapat melalui traktus gastrointestinal. Kehilangan besi melalui deskuamasi sel epitel traktus gastrointestinal hampir sama dengan yang diserap. Total rata – rata besi dalam tubuh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



Keterangan gambar : Homeostasis besi tubuh. Kadar besi plasma dalam tubuh sekitar 10 – 30 μM . Besi yang bersirkulasi dalam plasma akan berikatan dengan transferrin (Tf). Besi dilepaskan ke sirkulasi melalui enterosit duodenum dan diabsorpsi sekitar 1 – 2 mg per hari.

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

Ada 2 cara absorpsi besi dalam usus, yakni non heme yang merupakan *enhancer* dalam penyerapan besi dan heme yang dapat langsung diserap oleh tubuh tanpa memperhatikan cadangan besi dalam tubuh, asam lambung, ataupun makanan yang dikonsumsi. Proses absorpsi besi non heme lebih mudah dalam bentuk ion ferro (Fe^{2+}), maka ion ferri direduksi oleh enzim ferri reduktase sitokrom yaitu *Doudenal Cytochrome B* (Dcytb) yang terdapat di membran apikal vilus enterosit duodenum menjadi ion ferro dahulu supaya mudah diserap. Selanjutnya ion ferro oleh DMT-1 (*Duodenal Metal Transporter 1*) masuk ke dalam sel melalui brush border membran apikal (Purnamasari, R., 2018).



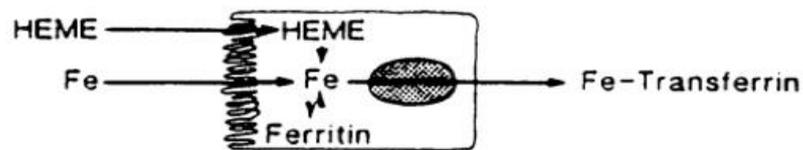
Keterangan gambar : Besi heme (Fe^{2+}) segera diabsorpsi masuk ke enterosit melalui DMT 1 (*Divalent Metallo Transporter-1*) yang terdapat pada apeks enterosit. Besi non heme (Fe^{3+}) direduksi oleh enzim ferrireduktase menjadi Fe^{2+} agar dapat melalui DMT 1. Fe^{2+} keluar dari enterosit menuju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

Gambar 4. Mekanisme absorpsi besi melalui enterosit (Andrews NC, 2008)

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

1. Fase luminal : besi dalam makanan diolah dalam lambung kemudian siap diserap di duodenum. Yang berperan dalam fase luminal ini, antara lain: asupan besi (kuantitas dan bentuk besi heme / non heme), pH usus, factor kelasi dan presipitasi.

2. Fase mukosal : proses penyerapan dalam mukosa usus yang merupakan suatu proses yang aktif. Faktor yang berperan dalam fase ini, antara lain: faktor anatomi (absorpsi besi, sel epitel usus, mucosal life span), motilitas intestinal, besi di mukosa, obat-obatan.
3. Fase korporeal : meliputi proses transportasi besi dalam sirkulasi, utilisasi besi oleh sel-sel yang memerlukan serta penyimpanan besi (storage). Faktor yang berperan, antara lain : banyaknya penyimpanan besi, eritropoiesis, anabolisme / katabolisme besi, eritropoiesis inefektif (thalassemia, anemia sideroblastic, congenital dyserythropoietic anemia), hipoxia.

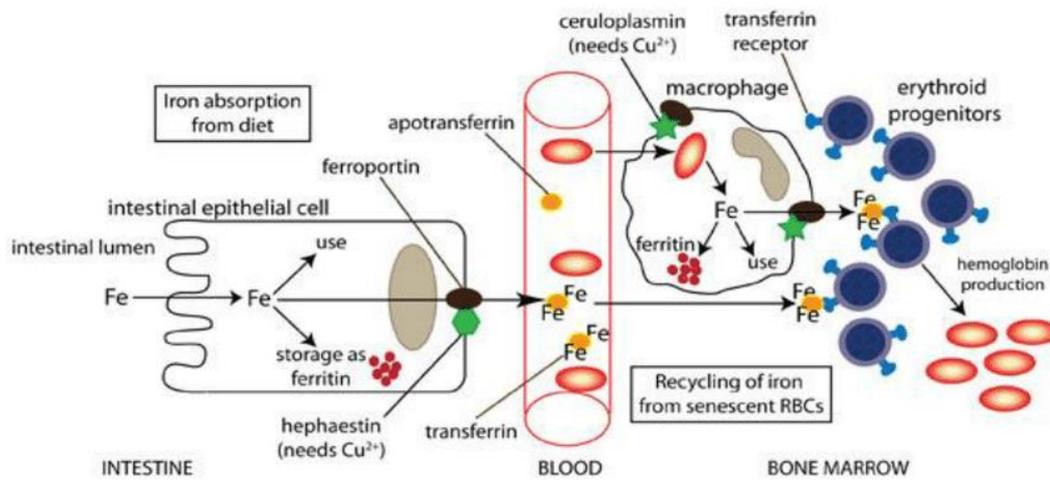


Gambar 5. Fase absorpsi besi di dalam usus (Conrad dan Umbreit, 2002)

Di dalam sel (endosome) terjadi perubahan pH menjadi asam yang mengakibatkan terlepasnya Fe^{2+} yang sebagian akan disimpan di dalam sel dalam bentuk ferritin dan sebagian lagi diikat oleh ferroportin (IREG 1 atau MTP 1) keluar sel melalui duodenum. Ion ferro kemudian dioksidasi oleh ferooksidase Hephaestin (Hp) menjadi ion ferri dan berikatan dengan transferrin (Tf) masuk ke dalam sirkulasi darah. Apotransferin kemudian dilepaskan ke ekstra sel dan berikatan dengan Fe yang lain. Di dalam sirkulasi darah, ikatan Tf- Fe_2 akan mengikat TfR spesifik di permukaan sel (TfR1 atau TfR2) yang membutuhkan besi. Kadar TfR1 mRNA lebih tinggi di hepar dan TfR1 mRNA mengandung IRE (*Iron Responsive Element*). TfR1 mRNA juga ditemukan di sel Kupffe dan sel endotelial. Pada keadaan defisiensi besi maka kadar TfR1 meningkat, sebaliknya pada keadaan kelebihan besi kadar TfR1 berkurang (Purnamasari, R., 2018).

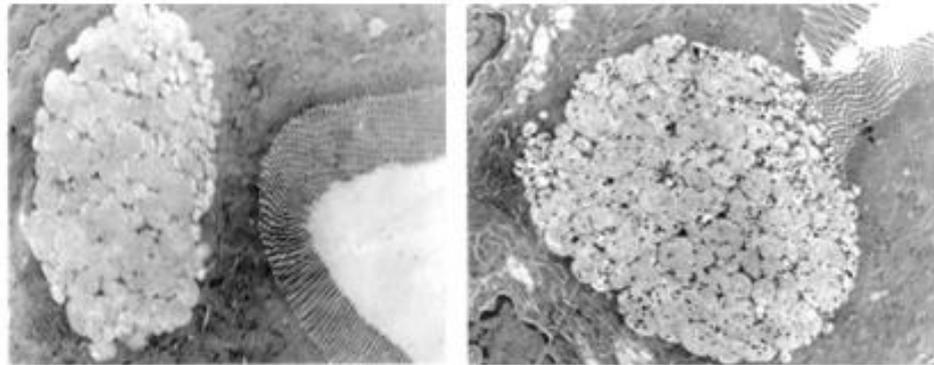
Penyerapan besi dari Tf berlangsung dengan afinitas rendah. Keadaan ini terjadi melalui TfR2 yang umumnya terdapat pada organ tubuh tertentu dan

TfR2 mRNA tidak mengandung IRE. Kadar TfR2 mRNA yang tinggi ditemukan di hepatosit dan kadar yang rendah ditemukan di eritrosit imatur, limpa, paru-paru, otot rangka, dan prostat. Sejumlah kecil TfR2 mRNA juga ditemukan di sel Kupffe dan sel endothelial. TfR2 mRNA terbanyak ditemukan di intraseluler, kadarnya meningkat pada kelebihan besi dan berkurang pada defisiensi besi (Purnamasari, R., 2018).



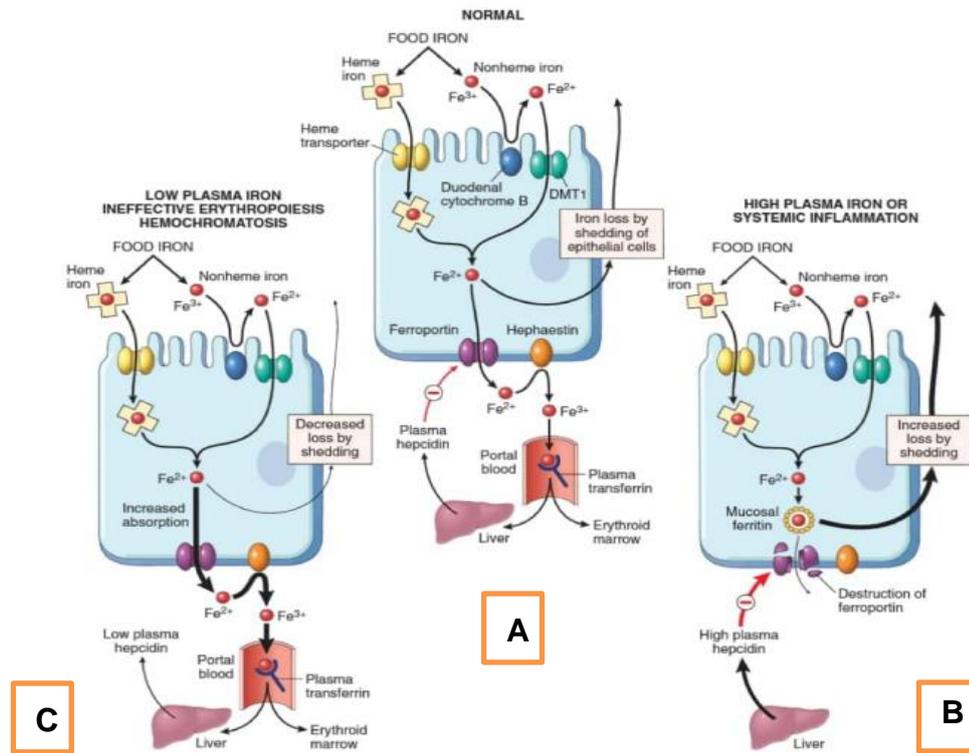
Gambar 6. Pengaturan besi oleh mukosa usus (Purnamasari, R., 2018)

Kompleks Tf-Fe³⁺-TfR1 masuk ke dalam sel hepatosit (sel precursor eritrosit dan sel lainnya), lalu terjadi penurunan pH, sehingga Fe²⁺ dilepas. Sebagian Fe²⁺ akan disimpan dalam bentuk ferritin, sebagian lagi akan dibawa ferroportin keluar sel, dan dioksidasi oleh ferooksidase seruloplasmin (Cp). Ikatan Tf-TfR1 akan dibawa ke permukaan sel dan selanjutnya dieksositosis keluar sel menjadi apotransferin dan TfR1 (Purnamasari, R., 2018).



Gambar 7. Mikrograf elektron dari sel-sel goblet mukosa usus normal (kiri) dan anemia defisiensi besi (kanan). Pada gambar, penelitian dilakukan pada hewan coba tikus yang telah diinkubasi dan menunjukkan peningkatan konsentrasi anti-mobilferrin dan anti-DMT-1 pada musin yang dihasilkan oleh sel goblet dari hewan coba yang mengalami defisiensi besi. Peningkatan anti-mobilferrin dan anti-DMT 1 menghambat masukan besi ke dalam sel, sehingga absorpsi besi akan menurun. (Conrad, M.E. and Jay N.U., 2002)

Beberapa studi terbaru mendapatkan adanya peran suatu hormon peptida yang kecil bernama hepsidin pada homeostasis besi. Hepsidin adalah hormon yang diproduksi oleh hepar yang mengandung 25 asam amino dan berfungsi sebagai hormon utama dalam mengatur homeostasis besi. Hepsidin disekresi masuk ke sirkulasi dan mengatur penyediaan zat besi melalui kerjanya pada ferroportin, yaitu dengan terikat pada ferroportin di permukaan sel yang akan memicu fosforilasi tirosin, internalisasi ferroportin, baik yang ada dipermukaan enterosit maupun yang terletak pada permukaan makrofag dan hepatosit dan kemudian ferroportin didegradasi. Hal ini dapat menyebabkan terhentinya penyediaan zat besi sehingga terjadi penurunan kadar besi serum (Rasyid N, 2012).



Keterangan gambar : A) Pada kondisi metabolisme besi yang normal, keseimbangan hepsidin plasma di atur oleh *down* regulasi ferroportin dan membatasi pengambilan besi dari tempat penyimpanan.

B) Hepsidin akan meningkat pada kondisi inflamasi atau ketika kadar besi tinggi, sehingga hepsidin akan melakukan proses internalisasi dan degradasi ferroportin yang akan mengunci besi dari hepatosit, enterosit, makrofag sehingga besi tidak akan keluar ke sirkulasi

C) Pada kondisi kadar besi rendah, hepsidin tidak akan menempati ferroportin sehingga besi akan keluar ke sirkulasi

Gambar 8. Peranan Hepsidin Pada Homeostasis Besi (Robbins et al, 2019)

Ada 4 jalur yang mempengaruhi produksi hepsidin di hati antara lain: (Rasyid N, 2012)

- a) Regulasi yang dipicu oleh aktivitas eritropoiesis

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

akan menyebabkan *down* regulasi hepsidin melalui mekanisme regulasi yang berkaitan dengan cadangan besi.

b) Regulasi yang berkaitan dengan cadangan besi

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

c) Regulasi yang berkaitan dengan inflamasi

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

d) Jalur signal *mandatory*

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

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

Siderofor adalah ligan spesifik berberat molekul rendah yang berfungsi mengambil besi bagi mikroorganisme. Selain sistem siderofor, mikroorganisme memiliki mekanisme lain dalam pengambilan besi, yaitu pemecahan enzimatik dari iron-binding protein, reduksi Fe^{3+} kompleks menjadi Fe^{2+} kompleks, interaksi antar-respon di permukaan Fe-glikoprotein kompleks. Organisme patogen dapat mengambil besi dari lingkungan yang mempunyai kadar besi rendah dengan cara yang kompleks dan bervariasi. Contohnya *E. coli* memproduksi siderofor yang dapat memediasi pengambilan besi dan dapat berkompetisi dengan *unsaturated*

transferrin, kemudian memindahkan besi ke bakteri patogen (Andrews, Simon C. et al, 2003).

2.1.5 Faktor yang Mempengaruhi Absorpsi Besi

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

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

a. Sumber hewani

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

b. Vitamin C

Vitamin C dapat meningkatkan absorpsi besi dari makanan melalui pembentukan kompleks ferro askorbat. Kombinasi 200 mg asam askorbat dengan garam besi dapat meningkatkan penyerapan besi sekitar 25 – 50%.

c. Asam lambung

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

d. Fosfat

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

e. Fitat dan tannin

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

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

- g. Penyakit infeksi juga menyebabkan penurunan dalam proses absorpsi besi.

Absorpsi besi meningkat dalam keadaan pH rendah, dan duodenum merupakan tempat penyerapan usus yang baik karena memiliki pH yang rendah dibandingkan dengan ileum ataupun colon. Sedangkan colon lebih memungkinkan penyerapan zat besi yang lebih banyak dibandingkan ileum distal karena retensi mukosa yang rendah (D. Bougle', 2002).

2.1.6 Manifestasi Klinis

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

1. Gejala hematologik

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

2. Gejala – gejala non-hematologik:

a. Mata

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



Gambar 9. Konjungtiva anemis

b. Mulut

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



Gambar 10. *Stomatitis angularis*

c. Lidah

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



Gambar 11. Glossitis

d. Kuku

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



Gambar 12. Koilonikia (*Spoon nail*)

e. Perubahan perilaku

Anoreksia, mudah marah, cengeng. Terjadi gangguan metabolisme di pusat kendali emosi dan kognitif, serta menurunkan aktivitas enzim triptofan dan tirosin hidroksilase yang mengakibatkan gangguan produksi serotonin dan dopamin. Hal ini membuat anak tidak mampu mengendalikan diri dan perasaan, tidak mampu memusatkan perhatian, dan terjadi gangguan perilaku.

f. Fungsi kognitif dan perkembangan neurologis

Besi sangat dibutuhkan untuk metabolisme susunan saraf pusat karena peranannya dalam sintesis neurotransmitter, pembentukan

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

g. Pertumbuhan

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

h. Pika

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

i. Daya tahan tubuh terhadap infeksi menurun

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

2.1.7 Pemeriksaan Laboratorium

Evaluasi laboratorium akan mengidentifikasi penyebab anemia. Indeks hemoglobin pada defisiensi besi akan menunjukkan *Mean Corpuskular Hemoglobin* (MCH) dan *Mean Corpuskular Volume* (MCV) hemoglobin yang rendah. Hematoskopi menunjukkan adanya mikrositosis, hipokromia, dan anisositosis, yang tercermin dari *Red Cell Distribution Width* yang lebih tinggi dari rentang normal. Kadar feritin, besi, dan saturasi transferin serum

akan menurun. Serum ferritin adalah ukuran dari total simpanan zat besi tubuh. Kapasitas pengikatan besi total akan meningkat. Feses untuk darah samar dapat mengungkapkan sumber perdarahan gastrointestinal. Indeks MCH / sel darah merah, atau indeks Mentzer, dapat membantu membedakan antara dua penyebab anemia mikrositik hipokromik. Indeks yang lebih besar dari 13 menunjukkan defisiensi zat besi, sedangkan indeks yang kurang dari 13 menunjukkan thalassemia minor (Wallace, 2016).

Rendahnya kadar ferritin merupakan penanda dari defisiensi besi absolut, yang menunjukkan rendahnya cadangan besi. Umumnya kadar <30 mg/L sudah dapat dikatakan kasus ringan; dengan adanya anemia, ferritin biasanya lebih rendah (<10-12 mg/L). Pada kondisi tanpa inflamasi atau infeksi, ferritin serum memberikan korelasi yang paling baik dengan *stainable iron* sumsum tulang (Auerbach & Adamson, 2016).

	Normal	Negative iron balance	Iron-deficient erythropoiesis	Iron-deficiency anemia
Iron stores				
Erythron iron				
Marrow iron stores	1-3+	0-1+	0	0
Serum ferritin (µg/L)	50-200	<20	<15	<15
TIBC (µg/dL)	300-360	>360	>380	>400
SI (µg/dL)	50-150	NL	<50	<30
Saturation (%)	30-50	NL	<20	<10
Marrow sideroblasts (%)	40-60	NL	<10	<10
RBC protoporphyrin (µg/dL)	30-50	NL	>100	>200
RBC morphology	NL	NL	NL	Microcytic/hypochromic

Gambar 13. Hasil pemeriksaan laboratorium pada 3 tahap defisiensi besi.

Pada tahap pertama yakni gangguan keseimbangan besi negatif maka akan terjadi gangguan pada simpanan besi sumsum tulang, serum ferritin dan TIBC, pada tahap kedua yakni eritropoiesis defisiensi besi terjadi gangguan SI, saturasi zat besi, sideroblast sumsum tulang dan protoporphyrin sel darah merah dan tahap terakhir yakni anemia defisiensi besi terjadi perubahan morfologi RBC menjadi mikrositik dan hipokromik. (Girelli et al., 2016)

Pengukuran saturasi transferin (<16%) memiliki nilai diagnostik pada defisiensi fungsional bila ferritin serum tidak ada. Kadar hepsidin, yang rendah/tidak terdeteksi pada defisiensi besi absolut, tidak terlalu dibutuhkan. Pengecualian adalah pada kondisi ADB *iron-refractory*, dimana pasien memberikan gambaran saturasi transferin rendah dengan hepsidin dan ferritin serum yang normal/tinggi menandakan peningkatan besi makrofag. Pemeriksaan hepsidin serum dapat menjadi diagnostik untuk defisiensi besi atipikal ini, mengeksklusikan inflamasi (Girelli et al., 2016).

Transferin serum dan kaitannya dengan ferritin (sTFR/logFt index) merupakan indikator yang baik terhadap eritropoiesis defisiensi besi, namun pemeriksaan keduanya jarang tersedia di klinis. Seluruh jaringan dianggap defisit besi ketika kadar ferritin rendah. Tidak ada pemeriksaan spesifik yang mengevaluasi defisiensi besi pada jaringan saat ferritin tidak *reliable* (misalnya saat terjadi inflamasi) (Girelli et al., 2016).

2.1.8 Diagnosis Banding

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

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

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

Sumber : Buku Ajar Hematologi IDAI, Purnamasari 2018

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

Untuk membedakan ADB dan anemia penyakit kronis dari gambaran morfologi darah tepi pada APK tampak gambaran normositik normokrom walaupun kadang juga didapatkan gambaran mikrositik hipokrom. Terjadinya APK disebabkan karena terganggunya mobilisasi besi dan makrofag oleh transferrin. Kadar Fe serum dan TIBC menurun meskipun cadangan besi normal atau meningkat sehingga nilai reseptor transferrin (TfR) sangat berguna dalam membedakan ADB dengan APK. Pada APK kadar TfR normal karena pada proses inflamasi kadarnya tidak terpengaruh, sedangkan pada ADB kadarnya menurun. Peningkatan rasio TfR/ Ferritin sensitif dalam mendeteksi ADB.

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

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

2.1.9 Penatalaksanaan

Penatalaksanaan defisiensi besi pada anak saat ini masih mengikuti anjuran Ikatan Dokter Anak Indonesia yaitu dengan suplementasi besi dan tambahan asam folat untuk remaja wanita. Untuk anak usia 6 – 12 tahun diberikan suplementasi zat besi 2 kali seminggu selama 3 bulan berturut-turut setiap tahun dengan dosis 1 mg/kgbb/hari, sementara untuk remaja putri (usia 12-18 tahun) 2 kali seminggu selama 3 bulan berturut-turut setiap tahun dengan dosis 1 mg/kgbb/hari. Pemberian suplementasi ini tanpa melihat status defisiensi besi yang dialami anak. Rekomendasi dari WHO menyatakan bahwa pemberian suplementasi zat besi pada anak usia 5 – 12 tahun diberikan di daerah dimana prevalensi anemia lebih tinggi dari 40 %. Untuk suplementasi zat besi dan asam folat diberikan pada semua remaja putri dan wanita yang sedang menstruasi di mana prevalensi anemia lebih tinggi dari 20% (Andriastuti et al., 2020).

Sementara untuk Pengobatan anemia defisiensi besi terdiri atas: (1). Terapi zat besi oral: pada bayi dan anak, terapi besi elemental diberikan dibagi dengan dosis 3-6 mg/kgBB/hari diberikan dalam dua dosis, 30 menit sebelum sarapan pagi dan makan malam. Terapi zat besi diberikan selama 1 sampai 3 bulan dengan lama maksimal 5 bulan. Enam bulan setelah

pengobatan selesai harus dilakukan kembali pemeriksaan kadar Hb untuk memantau keberhasilan terapi. (2). Terapi zat besi *intramuscular* atau intravena dapat dipertimbangkan bila respon pengobatan oral tidak berjalan baik, efek samping dapat berupa demam, mual, urtikaria, hipotensi, nyeri kepala, lemas, artragia, bronkospasme sampai reaksi anafilaktik. (3). Transfusi darah diberikan apabila gejala anemia disertai risiko terjadinya gagal jantung yaitu pada kadar Hb 5-8g/dL. Komponen darah yang diberikan berupa suspensi eritrosit (PRC) diberikan secara serial dengan tetesan lambat (Amalia et al n.d.2016).

Penyebab yang mendasari defisiensi besi seperti perdarahan gastrointestinal, infeksi kronik dan defisiensi mikronutrien pada malnutrisi harus segera diatasi. Suplementasi zat besi harus dikonsumsi tanpa makanan untuk meningkatkan penyerapan. Kadar pH lambung yang rendah memfasilitasi penyerapan zat besi. Secara umum, pasien dengan anemia defisiensi besi harus menunjukkan respons terhadap besi dengan retikulositosis dalam tiga sampai tujuh hari, diikuti dengan peningkatan hemoglobin dalam 2-4 minggu. Peningkatan jumlah retikulosit secara langsung meningkatkan MCV karena rata-rata sel darah merah yang belum matang ini secara signifikan lebih besar. Respon cepat terhadap pengobatan sering terlihat dalam 14 hari. Ini bermanifestasi pada peningkatan kadar hemoglobin. Suplementasi zat besi diperlukan setidaknya selama tiga bulan untuk mengisi kembali simpanan zat besi di jaringan dan harus dilanjutkan setidaknya selama sebulan bahkan setelah kadar hemoglobin kembali ke tingkat normal. Sulfat Ferosus adalah terapi yang murah dan efektif, biasanya diberikan dalam dua sampai tiga dosis terbagi setiap hari. Efek samping zat besi oral termasuk sembelit, mual, nafsu makan berkurang, dan diare. Zat besi intravena mungkin diperlukan jika pasien tidak toleran terhadap zat besi oral, mengalami malabsorpsi seperti penyakit celiac, pasca gastrektomi, achlorhydria, atau kehilangan yang terlalu tinggi untuk terapi oral. Meskipun zat besi intravena lebih tepat dan cepat didistribusikan ke

sistem retikuloendotelial daripada zat besi oral, zat ini tidak memberikan peningkatan yang lebih cepat pada kadar hemoglobin. (Wallace, 2016)

Efek samping paling umum dari zat besi intravena adalah mual. Meskipun jarang, anafilaksis dapat terjadi dengan infus zat besi intravena. Ekstravasasi larutan besi ke dalam jaringan subkutan menyebabkan noda kecoklatan yang dapat menjadi permanen dan secara estetika tidak menyenangkan bagi pasien. Konseling diet biasanya diperlukan untuk manajemen. Gadis remaja yang mengalami kehilangan darah menstruasi yang berlebihan dapat memanfaatkan zat besi dan terapi hormonal (Warner et al, 2020).

Tabel 4. Respon tubuh terhadap pemberian besi di ADB

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

Dikutip dari Schwartz, 2000

2.2 Indeks Eritrosit dan Indeks Mentzer

2.2.1 Indeks Eritrosit

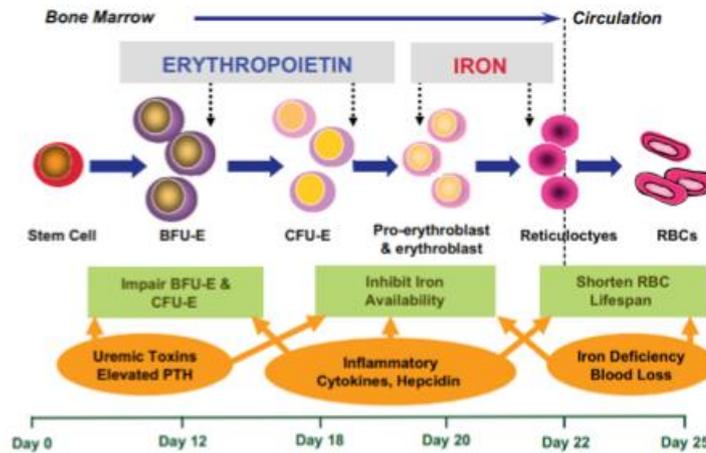
Mean Corpuscular Volume (MCV), *Mean Corpuscular Hemoglobin (MCH)*, dan *Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration (MCHC)* pertama kali diperkenalkan oleh Wintrobe pada tahun 1929 untuk mendefinisikan ukuran (MCV) dan warna hemoglobin (MCH, MCHC) sel darah merah. Ketiga parameter ini menggambarkan indeks eritrosit yang dapat membantu dalam pelacakan etiologi anemia. Indeks eritrosit dapat dihitung jika nilai hemoglobin, hematokrit, dan jumlah sel darah merah diketahui. Dengan mesin hematologi analisis saat ini, indeks sel merah

secara otomatis diukur dalam semua penentuan jumlah darah (Santosa et al., 2020).

Bila tidak ditemukan nilai dari MCV, MCH dan MCHC dapat dihitung manual dengan perhitungan dari nilai hemoglobin, hematokrit dan RBC (*red blood cell*). MCV dihitung dengan rumus : $\text{Hemoglobin/RBC} \times 10$ dalam satuan pg (picogram) yang menyatakan ukuran eritrosit dengan nilai normal 80 - 96 pg . MCH dihitung dengan menggunakan hematokrit/RBC $\times 10$ dalam satuan fL (femtoliter), MCH memperlihatkan warna dari eritrosit, dengan nilai normal 32-36 fl. MCHC dihitung dengan menggunakan $\text{Hemoglobin/Hematokrit} \times 100 \%$ atau $\text{MCV/MCH} \times 100 \%$ dengan satuan persen dengan nilai normal 27 – 32 % . (Santosa et al., 2020)

Anemia mikrositik hipokromik disebabkan oleh berbagai faktor yang mengurangi simpanan besi tubuh. Hemoglobin adalah protein globular yang merupakan komponen utama RBC yang diproduksi di sumsum tulang oleh sel-sel progenitor eritroid. Hemoglobin ini memiliki empat rantai globin, dua rantai globin alpha dan dua rantai globin beta. Keempat rantai ini melekat pada cincin porfirin (heme) pusat yang mengandung zat besi yang mampu mengikat empat molekul oksigen. Berkurangnya simpanan besi menghentikan produksi rantai hemoglobin, dan konsentrasinya mulai berkurang di RBC yang baru menyebabkan warna RBC yang baru terbentuk mulai memudar dengan sehingga disebut hipokromik. Karena RBC yang baru diproduksi mengandung jumlah hemoglobin yang lebih sedikit, mereka relatif berukuran kecil jika dibandingkan dengan RBC normal disebut mikrositik. (Tyagi Varun, 2017)

Indeks eritrosit menunjukkan nilai dari MCV, MCH, MCHC dari eritrosit. Dari nilai tersebut anemia dapat diklasifikasikan berdasarkan indeks eritrositnya, seperti pada anemia defisiensi besi dimasukkan dalam morfologi mikrositik hipokrom, dimana mikrositik menunjukkan MCV/ukuran eritrosit yang kecil dan hipokromik berarti pewarnaan yang berkurang. (IDAI, 2016)



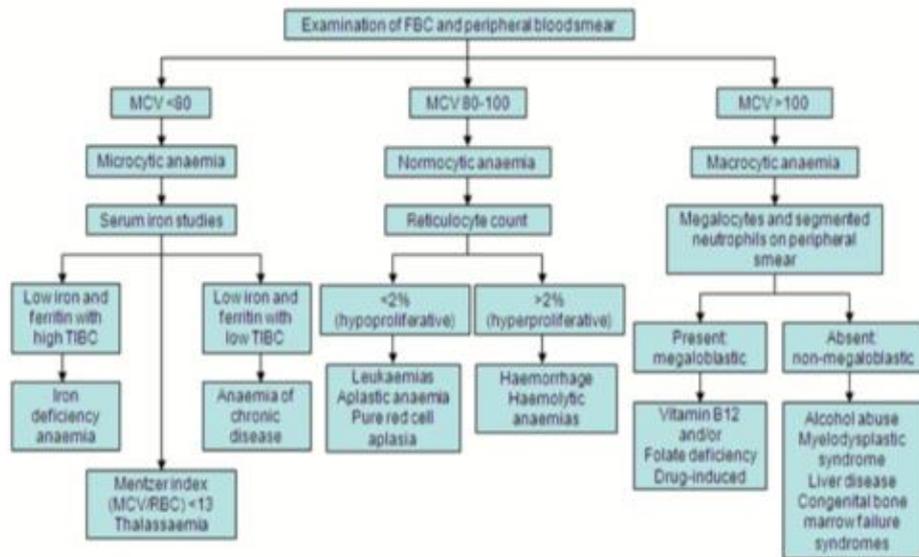
Gambar 14. Produksi Sel Darah Merah yang optimal membutuhkan eritropoietin dan besi. Dalam Maturasi sel darah merah, dibutuhkan waktu sekitar 3 minggu. (Kalantar-Zadeh Kamyar et all, 2009)

Pada gambar dipaparkan tentang waktu yang dibutuhkan dalam produksi sel darah merah, dapat dilihat bahwa sel darah merah memerlukan waktu sekitar 3 minggu untuk memproduksi sel darah merah baru, pada 5 - 8 hari terakhir sebelum sel darah merah matur dilepaskan ke sirkulasi, ukuran dan warna dari eritrosit sangat ditentukan oleh kecukupan dari besi yang ada dalam tubuh sehingga kekurangan besi juga dapat dilihat dari morfologi eritrosit (Kalantar-Zadeh Kamyar et all, 2009).

Indeks eritrosit penting dalam klasifikasi morfologi anemia, karena faktor etiologi yang berbeda menghasilkan morfologi sel merah yang berbeda pula. Anemia diklasifikasikan, sesuai dengan ukuran sel darah merah sebagai normositik (MCV normal), makrositik (peningkatan MCV), atau mikrositik (penurunan MCV). Mikro anemia juga sering digambarkan sebagai hipokromik berdasarkan pemeriksaan noda perifer dan MCHC ketika nilai ini ditentukan secara manual. MCHC sebagaimana diukur oleh mesin elektronik sebagian besar normal dalam anemia, bagaimanapun, dan nilai MCH sejajar erat nilai MCV. Sifat optik dari kecil, tipis microcytes membuat mereka muncul hipokromik pada darah sementara konsentrasi

hemoglobin tetap berada di kisaran normal (anemia mikrosit, normokromik). (IDAI, 2016)

Berdasarkan pendekatan morfologi eritrosit, anemia diklasifikasikan menjadi 3 bagian besar dan tampak pada tabel dibawah ini :



Gambar 15. Pengelompokan anemia berdasarkan morfologi dari eritrosit.

(Tyagi Varun, 2017)

2.2.2 Indeks Mentzer

Indeks Mentzer diungkapkan pertama kali oleh William C Mentzer tahun 1973. Formula ini digunakan untuk membedakan ADB dengan beta thalassemia, dengan formula MCV/RBC. Dari penelitian ini didapatkan bahwa jika didapatkan hasil lebih dari 13 maka akan mengarah ke ADB. Prinsip dari penelitian ini adalah pada ADB, sumsum tulang tidak dapat memproduksi eritrosit yang adekuat dengan MCV yang kecil (mikrositik) sehingga hitung RBC dan MCV keduanya akan rendah sebagai hasilnya indeks akan lebih tinggi dari 13. Berbanding terbalik dengan pada thalasemia yang terjadi akibat gangguan sintesis globin, RBC yang diproduksi jumlahnya normal, namun eritrosit kecil dan rapuh, sehingga

RBC normal dan MCV yang rendah memberikan nilai index yang kurang dari 13 (Josep Mazza, 2010)

Indeks Mentzer (IM) adalah salah satu formula indeks diskriminasi yang dikembangkan sebagai uji tapis trait thalassemia untuk membedakannya dari anemia mikrositik hipokrom lain khususnya ADB dengan menghitung volume rata-rata sel atau MCV dibagi dengan jumlah eritrosit. Nilai yang lebih dari 13 prediktor untuk ADB sedangkan kurang dari 13 prediktor untuk trait thalassemia (Sari, Teny Tjitra dkk, 2019).

Teny Tjitra Sari dalam penelitiannya menyimpulkan bahwa nilai indeks Mentzer dengan titik potong 10,7 dapat digunakan untuk uji tapis ADB di sarana fasilitas terbatas, sedangkan Indeks Mentzer dengan titik potong 13 memiliki nilai diagnostik yang rendah untuk ADB. Nilai MCV/RBC >10,7 dapat mulai diberikan terapi zat besi untuk ADB dengan memantau efek terapi di sarana kesehatan terbatas. (Sari, Teny Tjitra dkk, 2019).

2.3 Probiotik

2.3.1 Definisi

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

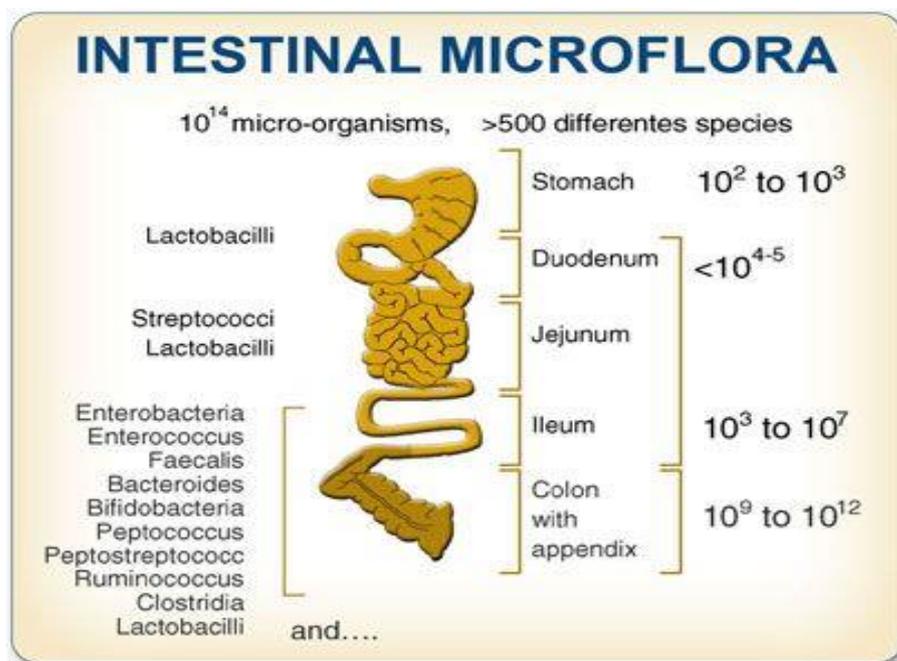
Probiotik adalah mikroorganisme hidup yang diberikan sebagai suplemen makanan yang memberikan pengaruh yang menguntungkan pada *host* dengan memperbaiki keseimbangan flora usus. Mikroflora yang digolongkan dalam probiotik adalah yang memproduksi asam laktat terutama adalah *Lactobacilli* dan *Bifidobacteria*, walaupun jenis lain juga ada (Branski dan Wilschanski, 2007).

Probiotik dapat diperoleh dari makanan, minuman, dan sediaan murni. Produk makanan atau minuman probiotik adalah produk susu fermentasi

(yogurt), keju, jus, dan susu bubuk bayi yang diperkaya probiotik (Sudarmo, 2004).

2.3.2 Kolonisasi usus dan mikroorganisme probiotik

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



Gambar 16. Mikroflora Usus

Proses kolonisasi saluran pencernaan setelah kelahiran menyebabkan serangkaian suksesi ekologi dengan hasil akhir pembentukan mikrobiota stabil ('microflora') yang unik pada setiap individu. Mikrobiota dewasa stabil terdiri dari 400-1000 spesies, dimana 60% tidak di kultur di luar lingkungan saluran cerna. Mikroba prokariotik dan eukariotik dapat ditemukan, pada saluran cerna bayi dengan dominasi oleh spesies bakteri, sebagian besar spesies bakteri anaerob (97%), sedangkan hanya 3% adalah aerobik (fakultatif anaerob). Komposisi mikrobiota tidak hanya berbeda sepanjang saluran pencernaan tetapi juga *cross sectional*, dengan populasi

yang berbeda yang mendiami mukosa saluran cerna dan lumen. Genera anaerobik yang paling umum dalam konsentrasi dalam saluran pencernaan adalah *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Eubacterium*, *Fusobacterium*, *Clostridium* dan *Lactobacillus*. Koloni mikrobiota aerob adalah bakteri Gram-negatif enteric (*Escherichia coli* dan *Salmonella spp.*) dan juga bakteri gram-positif coccus (*Enterococcus*, *Staphylococcus* dan *Streptococcus*). Selain bakteri aerob, spesies jamur aerobik, seperti *Candida albicans*, yang juga termasuk anggota mikrobiota normal (Kusumo, P. Dyah, 2012).

Probiotik adalah istilah yang merujuk pada mikroorganisme hidup yang saat dikonsumsi akan memberikan berbagai macam manfaat yang baik bagi pencernaan. Oleh karena itu, probiotik tidak hanya bakteri saja, tetapi dapat juga berupa jamur dan ragi. Berikut pada tabel 5 memperlihatkan beberapa mikroorganisme probiotik.

Tabel 5. Mikroorganisme Probiotik (Toma M, 2006)

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

*Main application for animal

2.3.3 Fungsi Probiotik

Manfaat probiotik bagi kesehatan tubuh dapat melalui 3 (tiga) mekanisme fungsi: (1) fungsi protektif, yaitu kemampuannya untuk menghambat patogen dalam saluran pencernaan. Terbentuknya kolonisasi probiotik dalam saluran pencernaan, mengakibatkan kompetisi nutrisi dan lokasi adhesi (penempelan) antara probiotik dan bakteri lain, khususnya patogen. Pertumbuhan probiotik juga akan menghasilkan berbagai

komponen anti bakteri (asam organik, hidrogen peroksida dan bakteriosin yang mampu menekan pertumbuhan patogen); (2) fungsi sistem imun tubuh, yaitu dengan peningkatan sistem imun tubuh melalui kemampuan probiotik untuk menginduksi pembentukan IgA, aktivasi makrofag, modulasi profil sitokin, serta menginduksi *hyporesponsiveness* terhadap antigen yang berasal dari pangan; (3) fungsi metabolit yaitu metabolit yang dihasilkan oleh probiotik, termasuk kemampuan probiotik mendegradasi laktosa didalam produk susu terfermentasi sehingga dapat dimanfaatkan oleh penderita intoleransi laktosa (Yuniastuti, 2014).

Secara garis besar, probiotik memiliki peran penting diantaranya: (Hemarajata et al, 2013).

1. Penguatan barier epitel

Epitel usus selalu kontak dengan isi lumen dan mikrobiota saluran cerna. Barrier usus (*intestinal barrier*) memiliki mekanisme pertahanan dalam meningkatkan integritas dan melindungi flora normal usus dari lingkungan. Barrier saluran cerna terdiri dari lapisan mukosa, peptida antimikroba, sekretorik Ig, dan *tight junction* epitel. Strain Probiotik *Lactobacillus* meningkatkan integritas barrier usus, yang dapat menyebabkan pemeliharaan toleransi kekebalan, penurunan translokasi bakteri di seluruh mukosa usus, dan fenotipe penyakit seperti infeksi saluran cerna.

Musin merupakan unsur makromolekul mukus epitel usus. Probiotik membantu sekresi mukus sebagai suatu mekanisme untuk memperbaiki fungsi barrier usus dan mengeksklusi patogen. Perbaikan fungsi barrier mukosa usus dapat dimediasi oleh peningkatan ekspresi dan redistribusi protein *tigh junction* pada *zonula ocludens* (ZO-2) dan protein kinase C (PKC) yang akan menghasilkan rekonstruksi kompleks *tight junction* (Sudarmo, S.M., 2018).

2. Peningkatan adhesi ke mukosa usus

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

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

Bakteri asam laktat (LAB, *Lactic Acid Bacteria*) menunjukkan berbagai molekul di permukaan yang diperlukan untuk interaksi dengan sel-sel epitel usus (IECs, *Intestinal Epithelial Cells*) dan lendir. IECs mensekresi musin dan mencegah adhesi bakteri patogen.

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

3. Kompetisi dengan mikroorganisme patogen

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

Untuk mendapatkan keuntungan kompetitif, bakteri juga dapat memodifikasi lingkungan mikrobiota untuk membuatnya kurang cocok untuk pesaing mereka. Probiotik membuat suasana lingkungan sekitar epitel usus berubah dengan cara membentuk substansi antimikroba, seperti asam laktat dan asam asetat. Beberapa *Lactobacillus* dan berbagai *Bifidobacteriu* mempunyai *carbohydrate specific binding side* beberapa enteropatogen yang memungkinkan strain tertentu untuk bersaing dengan patogen tertentu melalui reseptor pada sel *host*. Secara umum, strain probiotik dapat menghambat perlekatan bakteri patogen dengan cara menghalangi perlekatan pada reseptor.

4. Produksi zat antimikroba

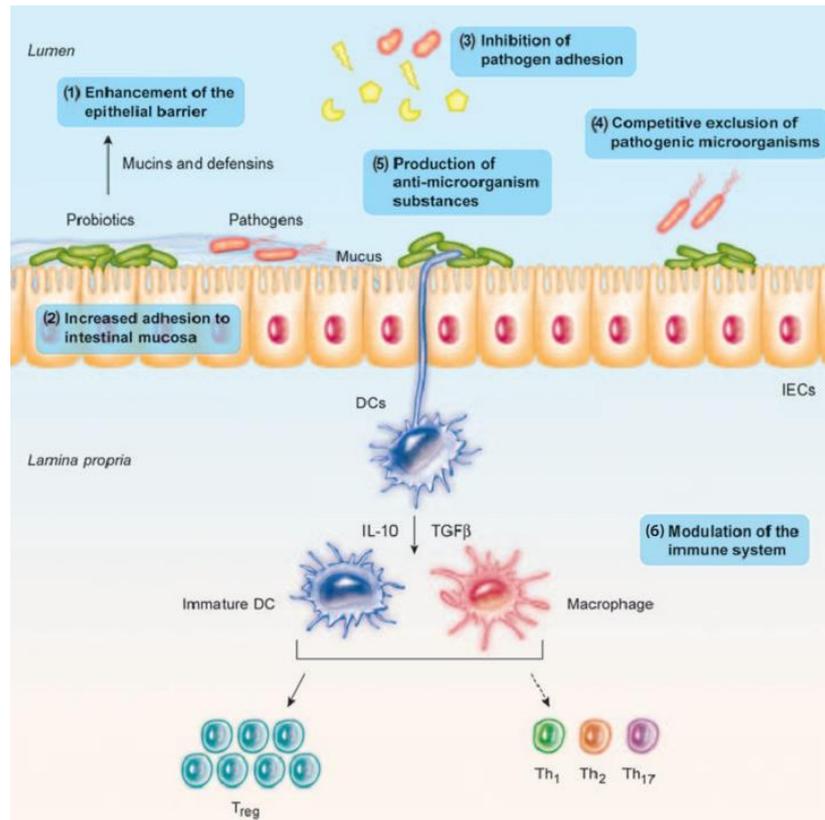
Salah satu mekanisme yang diketahui bermanfaat untuk kesehatan dari probiotik adalah senyawa *Low Molecular Weight* (LMW < 1000 Da), seperti asam organik, dan produksi zat antibakteri yang disebut bakteriosin (11.000 Da). Asam organik, seperti asam laktat dan asam asetat, merupakan inhibitor kuat dalam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

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

5. Modulasi sistem imun

Probiotik membentuk interaksi antara epitel dan sel dendritik (DCs, *Dendritic Cells*) dan monosit/makrofag dan limfosit. Sistem kekebalan tubuh dapat dibagi antara sistem kekebalan bawaan dan kekebalan adaptif. Respons imun adaptif tergantung pada sel B dan limfosit T, yang spesifik untuk antigen tertentu. Sebaliknya, kekebalan bawaan dapat merespon struktur umum bakteri yang disebut *Pathogen Associated Molecular Pattern* (PAMPs) yang dimiliki oleh sebagian besar bakteri patogen. Respons utama terhadap patogen dikenali oleh *Pattern Recognition Receptor* (PRR), yang mengikat PAMPs. PRRs sebenarnya adalah *Toll Like Receptor* (TLRs). Selain itu, reseptor ekstraseluler Jenis C-lectin (CLRS) dan *Intracellular Nucleotide Binding Oligomerization Domain-Containing Protein* (NOD)-Like *Receptors* (NLRs) yang penting untuk mengirim sinyal pada waktu

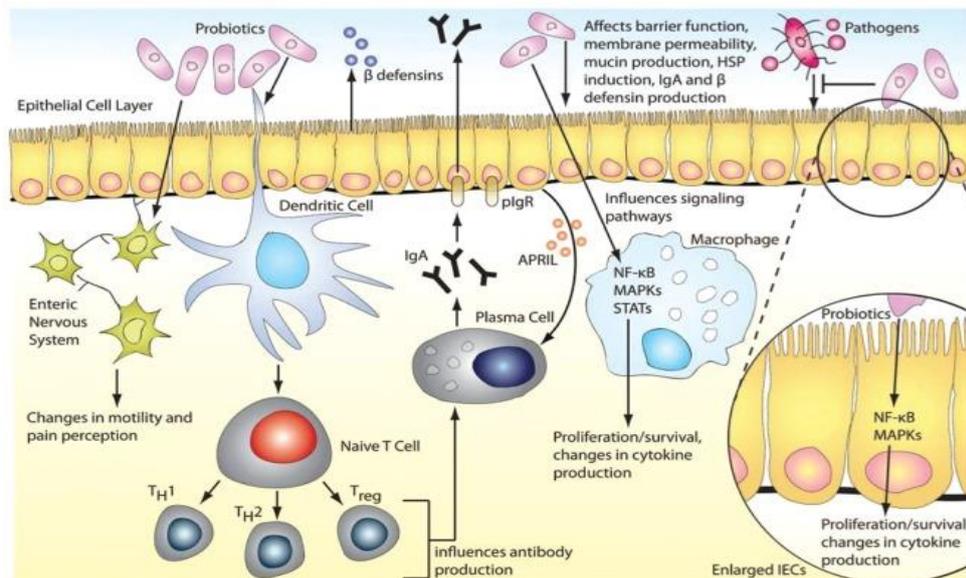
interaksi dengan bakteri. Sel host yang berinteraksi paling luas dengan probiotik adalah IECs. Selain itu, probiotik dapat berkomunikasi dengan DCs, yang memiliki peran penting dalam imunitas bawaan dan adaptif. Baik IECs dan DCs dapat berinteraksi dan merespons terhadap mikroorganisme saluran cerna melalui PRR.



Gambar 17. Mekanisme kerja probiotik. (Brito, M.B, et al, 2012)

Banyak penelitian telah menunjukkan kemampuan *L. reuteri* untuk mengatur produksi sitokin oleh sel kekebalan manusia. *L. reuteri* yang terbunuh karena panas menginduksi produksi antiinflamasi sitokin interleukin (IL) -10 oleh sel dendritik. Ketika sel-sel ini diobati dengan *L. reuteri* dan diinkubasi dengan sel T limpa dari tikus, produksi IL-2 berkurang dan produksi *Transforming Growth Factor-β* (TGF-β) meningkat. Hasil ini menunjukkan bahwa selain memunculkan respon imun usus, *L. reuteri* juga mengatur perkembangan dan perekrutan sel T regulator ke epitel gastrointestinal. *L. reuteri* dapat memodulasi inflamasi saluran

pencernaan dengan mengatur perekrutan sel imun yang berbeda. Pada anak bayi yang diprakolonisasi dengan *L. reuteri* dan *L. acidophyllus*, perekrutan monosit dan makrofag ke usus dan limpa berkurang secara signifikan, dibandingkan dengan hewan kontrol. Hasil ini menunjukkan bahwa kolonisasi oleh bakteri tertentu dapat memperbaiki perekrutan sel kekebalan pro-inflamasi akibat infeksi rotaviral ke jaringan limfoid usus dan sistemik (Hemarajata et al, 2013).



Gambar 18. Mekanisme probiotik di saluran pencernaan manusia.

Probiotik dapat memanipulasi komunitas mikroba usus dan menekan pertumbuhan patogen dengan menginduksi produksi β -defensin dan IgA inang. Probiotik mungkin dapat memperkuat barrier usus dengan mempertahankan sambungan yang rapat dan mendorong produksi musin. Imunomodulasi yang dimediasi probiotik dapat terjadi melalui mediasi sekresi sitokin melalui jalur pensinyalan seperti NF κ B dan MAPK, yang juga dapat mempengaruhi proliferasi dan diferensiasi sel kekebalan (seperti sel T) atau sel epitel. Motilitas usus dan nosisepsi dapat dimodulasi melalui regulasi ekspresi reseptor nyeri dan sekresi neurotransmitter. APRIL, *A Proliferation-Inducing Ligand*; hsp, heat shock protein; IEC, *Intestinal Epithelial Cell*; Ig, *Immunoglobulin*; MAPK, *Mitogen-Activated Protein Kinase*; NF κ B, *Nuclear Factor-Kappa-B*; pIgR, *Polymeric Immunoglobulin Receptor*; STAT, *Signal Transducer And Activator Of Transcription*; Treg, *T Regulatory Cell*. (Hemarajata & Versalovic, 2013)

Probiotik pada anak sehat berfungsi sebagai pertahanan mukosa seperti proteksi dan pertahanan imunitas saluran cerna seperti lapisan epitel, lapisan

mukus, deskuamasi epitel serta sekresi IgA, sangat berpengaruh terhadap perlekatan dari kuman patogen (Drisko, Jeanne A, et al, 2003). Probiotik selain mempunyai efek modulasi flora normal saluran cerna, probiotik juga mampu berperan sebagai modulator sistem imun. Probiotik mempunyai efek positif untuk *innate* dan *acquired immunity*. Di klinik, probiotik telah dibuktikan dapat mengontrol inflamasi karena alergi dan menurunkan gejala yang berhubungan dengan dermatitis atopi dan alergi makanan (Walker, W.A., 2000).

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

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

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

Beberapa cara eliminasi kuman patogen antara lain meningkatnya status imun mukosa usus, proses inhibisi, mengeluarkan hasil akhir metabolik

seperti misalnya asam yang akan menurunkan pH lingkungan saluran cerna, dalam suasana asam dapat hidup dengan sedangkan bakteri patogen tidak dapat hidup. Probiotik juga mampu menurunkan konsentrasi endotoksin bakteri secara signifikan. Hal ini dimungkinkan oleh karena kemampuan probiotik meningkatkan pertahanan mukosa untuk mencegah translokasi kuman (Collins, M.D. and Glenn R.G., 1999).

2.3.4 Metabolisme Probiotik

Terdapat dua jenis probiotik yaitu *live probiotic* dan *heat killed probiotic*. *Live* dan *heat killed probiotic* dibedakan dari proses pembuatannya, namun mempunyai mekanisme kerja yang sama terhadap diare, di antaranya yaitu kompetisi dengan enteropatogen, modifikasi toksin bakteri, serta modulasi respon imun dari pejamu (Kimoto dkk., 2004).

Diperlukan perlakuan khusus dalam penyimpanan *live probiotic*, misalnya suhu lingkungan harus dipertahankan lebih rendah daripada suhu ruangan. Cara penyimpanan yang tidak sesuai dapat menyebabkan terjadinya penurunan kualitas hidup probiotik yang kemudian menghasilkan hilangnya dosis dan aktivitas yang tidak dapat diprediksi. Dengan proses tindalisasi, diharapkan *heat-killed probiotic* dapat menjadi sediaan lebih stabil dan tahan terhadap panas. Meskipun telah dimatikan, *heat-killed probiotic* masih tetap mengandung beberapa zat yang penting seperti bakteriosin, peptidoglikan, yang dihasilkan selama fermentasi probiotik. Dengan kandungan seperti ini memberi dampak yang lebih cepat karena mengandung komponen yang siap pakai (Supriatmo, 2006).

Efektivitas pemberian heat-killed *L. acidophyllus* yaitu mempunyai kemampuan melekat pada sel absorpsi dan sekretorik intestinal manusia, kemudian membentuk suatu biofilm protektif. Pada model seluler, adanya heat-killed *L. acidophyllus* akan menghambat adhesi dan invasi mikroorganisme penyebab diare ke dalam enterosit. Kemampuan lain dari *L. acidophyllus* akan memproduksi agen antimikroba yang diduga mengandung *nonconventional acidic amino acid*. Zat ini efektif menyerang

bakteri enterovirulen gram positif dan negatif namun tidak menunjukkan suatu aktivitas penghambatan terhadap bakteri mikroflora seperti *Bifidobacterium* atau *Lactobacillus*. Mekanisme ini tidak berubah meskipun sudah mengalami pemanasan. Selain itu *heat-killed probiotic* juga menghindari kemungkinan terjadinya translokasi yang terjadi karena mutasi gen mikroba, yang mungkin terjadi pada pemberian *live probiotic* (Nipat dkk., 2000).

2.3.5 Dosis Probiotik

Probiotik alami seperti *Lactobacillus acidophyllus*, *Bifidobacterium longum* dan *Streptococcus faecium* mengandung 1×10^9 cfu dalam setiap gram. Dalam jumlah tertentu ($10^7 - 10^{11}$) koloni, probiotik dapat melekatkan diri pada mukosa usus (enterosit/kolonosit). Enterosit yang telah jenuh dengan probiotik tidak dapat lagi mengadakan adhesi dengan bakteri patogen. Dalam jumlah tersebut probiotik tidak terbawa oleh arus peristaltik, tidak dipengaruhi asam lambung dan asam empedu. Kolonisasi probiotik menetap selama masukan oral, berkurang atau menghilang dalam waktu satu minggu setelah pemberian dihentikan. Dalam jumlah tersebut probiotik melakukan fermentasi *oligosaccharides* membentuk *short chain fatty acids* (SCFA) (Abbas, 2003).

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

Oleh karena probiotik tidak secara permanen mengkoloni usus, maka dianjurkan lebih dari satu kali pemberian dengan dosis sebesar $10^6 - 10^{10}$

cfu bakteri hidup, untuk menjaga jumlah tetap di dalam kolon dengan melekatkan diri pada mukosa usus. (Sudarmo, 2004)

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

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

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

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

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

Penelitian yang dilakukan oleh Korcok et al tentang pemberian probiotik *Lactobacillus plantarum* terhadap pasien dengan ADB menunjukkan bahwa

pemberian probiotik strain *L. plantarum* dengan dosis 50 mg, 80 mg, dan 100 mg dapat memperbaiki keadaan ADB. (Korcok, 2018) Penelitian lain terkait pemberian *L. plantarum* pada 24 wanita dengan status besi rendah dengan dosis 10^9 cfu/gram memberikan efek positif terhadap absorpsi besi di usus (Sunberg, Maria, 2011).

2.3.6 Toksisitas Probiotik

Keamanan pemakaian probiotik dapat dievaluasi dengan mempertanyakan apakah invasi bakteri tersebut pada *host* dapat menimbulkan infeksi dan apakah infeksi tersebut dapat berakibat buruk. Pada uji toksisitas bakteri probiotik didapatkan bahwa (Berg, 1992, Salminen dan Marteau, 1997) :

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

Ada kondisi medis tertentu dimana probiotik bukan merupakan pilihan yang tepat. Probiotik mengandung mikroorganisme hidup sehingga ada peluang terjadi infeksi patologis, terutama pada penderita yang kritis atau penderita dengan *immunocompromised* yang berat. Probiotik strains *Lactobacillus* dilaporkan menyebabkan bakteremia pada pasien dengan *short-bowel syndrome*. Preparat *Lactobacillus* dikontraindikasikan pada pasien dengan hipersensitivitas terhadap laktosa atau susu. *S. boulardii* dikontraindikasikan pada pasien dengan alergi ragi. Pada *Bifidobacteria*, tidak ada kontraindikasi karena sebagian besar spesies ini non patogenik dan non toksigenik. (Haryo, 2016)

Dalam keadaan tertentu probiotik juga menyebabkan penyakit fatal yaitu *Lactobacillus septicaemia* yang disebabkan oleh konsumsi probiotik oleh orang-orang khususnya dengan sistem kekebalan yang menurun. Pemberian probiotik pada pasien autoimun lebih beresiko mengalami

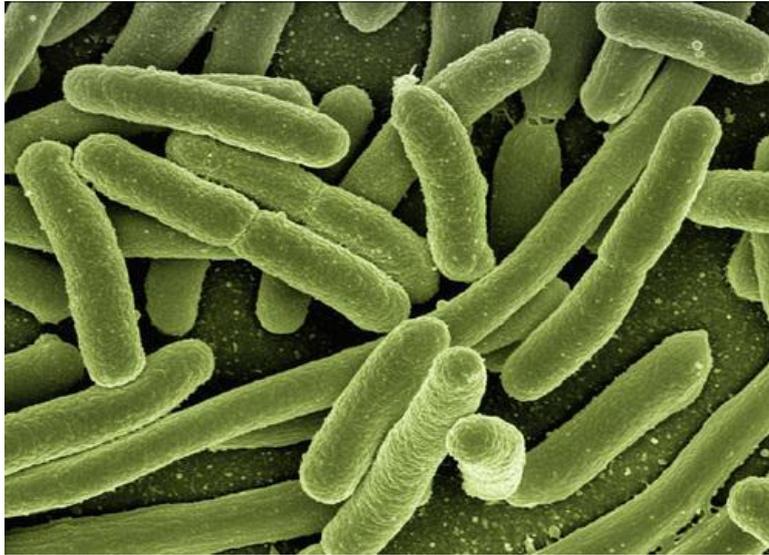
komplikasi karena sistem kekebalan tubuh bisa saja mengira probiotik sebagai agen asing sehingga mengakibatkan respon yang sama seperti infeksi. Hal ini dapat menyebabkan peningkatan produksi sel darah putih, kelelahan, dan bahkan demam. (Haryo, 2016)

2.3.7 *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacterium*

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

Lactobacillus acidophilus dapat tumbuh baik dengan oksigen ataupun tanpa oksigen, dan bakteri ini dapat hidup pada lingkungan yang sangat asam sekalipun, seperti pada pH 4 - 5 atau dibawahnya dan bakteri ini merupakan bakteri homofermentatif yaitu bakteri yang memproduksi asam laktat sebagai satu-satunya produk akhir. (Anugroho, 2014)

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



Gambar 19. *Lactobacillus acidophilus*

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

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

2.3.8 *Saccharomyces boulardii*

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

Saccharomyces boulardii dapat tumbuh pada suhu optimal 37 °C. *Saccharomyces boulardii* merupakan probiotik yang unik karena dapat tahan pada asam lambung dan tidak mempengaruhi kerja antibiotik, serta

tidak mengganggu mikrobiota normal di dalam usus (Tomicic, Zorica M et al, 2016).

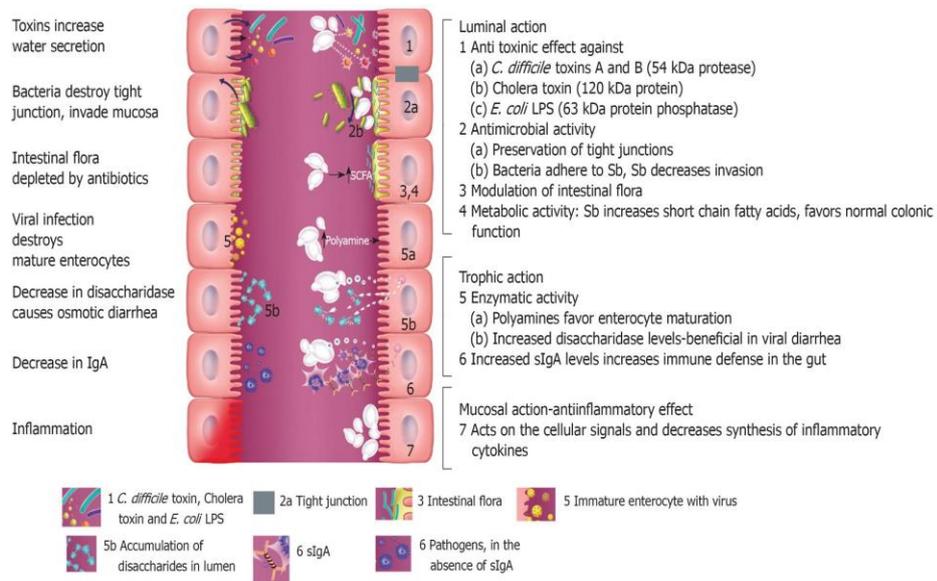


Gambar 20. Mikrografi electron *S. Boulardii*

2.3.9 Mekanisme Kerja Probiotik *Saccharomyces Boulardii*

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

Respon imun sistemik diinduksi oleh mikroba probiotik setelah berinteraksi dengan sel imun pada plak peyer. Pada plak payer, probiotik atau fragmennya diinternalisasi oleh sel M atau jalur paraseluler melalui *follicle associated epithelial cell* pada plak Payer. Setelah itu bakteri tersebut atau partikelnya berinteraksi dengan makrofag dan sel dendritik, yang diaktifkan untuk menghasilkan sitokin sebagai akibat dari stimulasi bakteri tersebut terhadap sel imun pada sisi induktor dari respon imun ini, sehingga produksi sitokin meningkat dan juga terjadi perubahan dan sel B IgM ke IgA. (Gadeano, 2007)



Gambar 21. Mekanisme kerja *S. Boulardii*

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

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

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

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

Bila dibandingkan dengan probiotik dari golongan bakteri, *S. boulardii* memiliki ukuran yang lebih besar sekitar 10 kali dari ukuran bakteri, menjadi media bakteri komensal untuk menempel dan *S. boulardii* menetralkan efek toksiknya. Efek dari probiotik ini tidak dipengaruhi oleh pemberian antibiotik sehingga mengurangi efek resistensi antibiotik, disamping itu *S. boulardii* memiliki efek tropik yang lebih baik dibandingkan probiotik bakteri, dengan melepaskan spermin dan spermidin, atau enzim lainnya yang membantu dalam pematangan enterosit. (Ohland and MacNaughton, 2010)

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

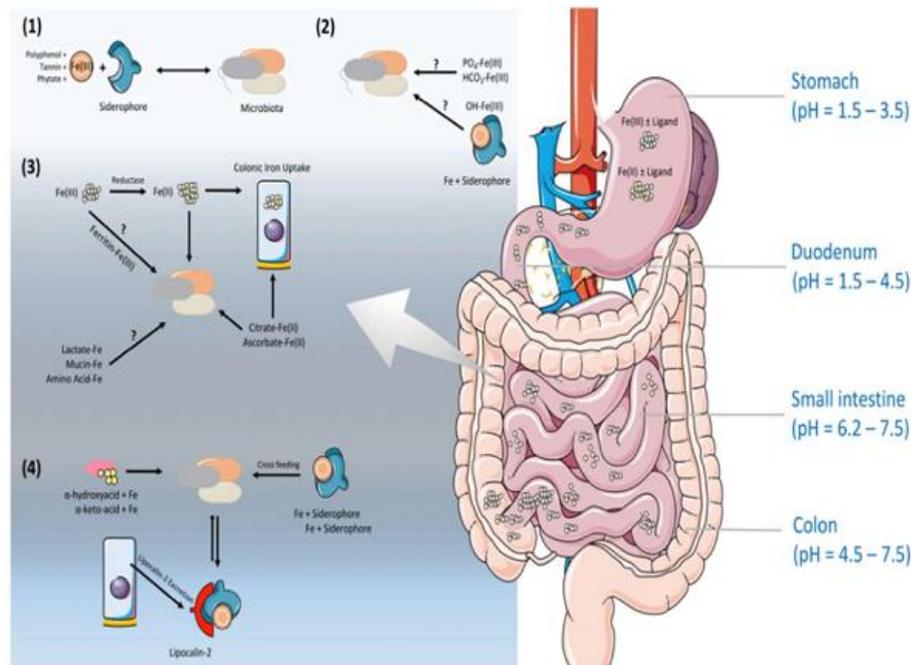
Pada awal tahun 1986, Caetano dkk menemukan peran *S. boulardii* dalam menginduksi sistem imun seluler dan humoral yang terlibat selama fase akut melawan patogen. Mereka mengobservasi peningkatan jumlah eritrosit dan leukosit terhadap peningkatan jumlah komponen serum terhadap paparan yang diberi *S.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

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

2.4 Peranan Probiotik Terhadap Anemia Defisiensi Besi

Di sepanjang saluran gastrointestinal, pH usus bervariasi. Asupan makanan pun dapat mempengaruhi pH usus di saluran gastrointestinal. Lambung memiliki pH rendah ($\text{pH} = 1.5 - 3.5$) yang dapat mempengaruhi solubilitas besi ferro dan ferri, baik dengan *ligand* maupun tanpa *ligand*. Kadar pH di duodenum juga rendah ($\text{pH} = 1.5 - 4.5$). Kondisi asam di sekitar duodenum dapat meningkat setelah berinteraksi dengan makanan. Peningkatan pH di usus halus ($\text{pH} = 6.2 - 7.5$) dapat menurunkan solubilitas besi ferri. Sedangkan pH colon turun akibat produksi laktat dan *Short Chain Fatty Acid* (SCFA; asetat, butirat, dan propinat) oleh mikrobiota usus.

Pada lumen colon (1) Besi berikatan dengan polifenol, termasuk tannin dan fitat, yang membuat besi dapat diakses melalui degradasi enzimatik atau kehilangan besi oleh siderofor; (2) Zat besi yang tidak bisa larut dengan fosfat, karbonat atau oksidasi dapat larut lagi dengan mekanisme yang tidak diketahui, yang mendorong reduksi bakteri dan kelasi siderofor; (3) Sel *host* dan atau mikrobiota usus dapat mengurangi utilisasi besi terkonjugasi dengan sitrat atau askorbat, ikatan besi dengan laktat, musin, atau asam amino, mungkin lebih mudah diakses dibandingkan dengan kompleks besi-ferritin oleh mikrobiota melalui mekanisme yang belum diketahui; (4) Siderofor dengan afinitas yang rendah, *alpha-hydroxyacids*, dan *alpha-keto-acids*, secara teori dapat membantu dengan akses yang lebih mudah dari besi, dan dapat membantu *cross-feeding* besi oleh siderofor dan mikrobiota colon (Yilmaz, Bahtiyar; Li, Hai, 2018).

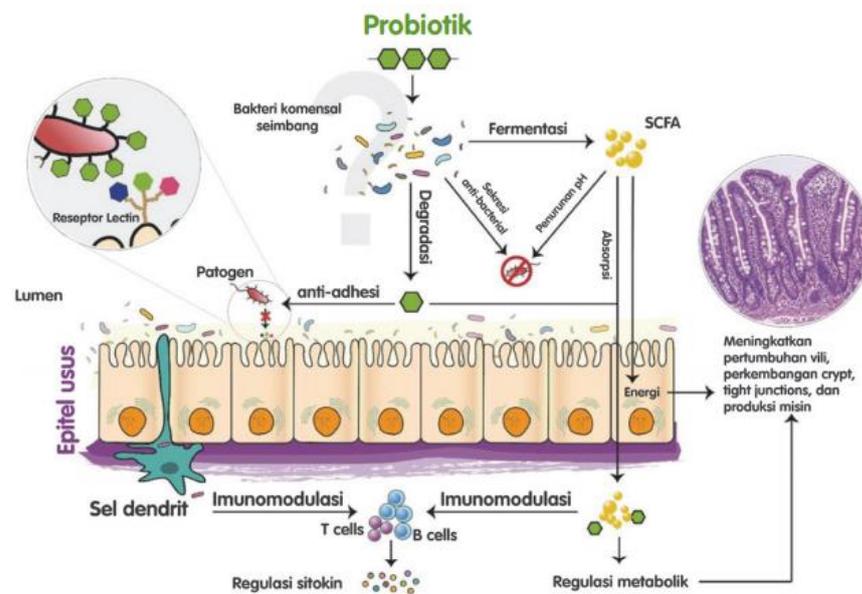


Gambar 22. Mekanisme Regulasi Besi di Lumen Usus Besar

Penelitian terhadap pengaruh probiotik dan anemia masih sangat sedikit. Dari penelitian yang dilakukan, kemungkinan mekanisme yang terjadi pada peningkatan absorpsi besi oleh probiotik, yakni : (Yeung, Chi Kong, 2005) dan (Matur, Eraslan, 2014)

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

villi dan kripta usus sehingga akan meningkatkan absorpsi zat besi. *Saccharomyces boulardii* membantu dalam membangun kembali level SCFA, yang tertekan selama terjadi penyakit.



Gambar 23. Probiotik dimetabolisme oleh mikrobiota komensal usus (Pourabedin & Zhao 2015)

5. Dapat menurunkan sitokin proinflamasi (interleukin 6, interleukin 12, interleukin 17 dan $\text{TNF-}\alpha$) dan meningkatkan sitokin anti inflamasi (interleukin 10 dan $\text{TGF-}\beta$) sehingga produksi hepsidin akan menurun dan proses absorpsi besi akan meningkat. Beberapa bakteri, termasuk *Bifidobacterium longum* dan *Lactobacillus acidophilus*, mencegah inflamasi usus.
6. Menurunkan proses apoptosis pada enterosit sehingga meningkatkan absorpsi besi
7. Bersama vitamin c akan membuat kompleks asam askorbat yang akan mereduksi ion ferro menjadi ion ferri sehingga mudah diabsorpsi.

Absorpsi besi meningkat pada sampel ADB yang diterapi dengan *L. plantarum 299v* dengan suplementasi besi dan vitamin C. Penigkatan penyerapan besi diteliti dengan cara menambahkan *strain* tersebut pada

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

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

Penelitian *L. plantarum* 299v lainnya yang ditambahkan dengan makanan tinggi fitat menunjukkan hasil yang positif pada penyerapan besi. Asam laktat yang dihasilkan *L. plantarum* 299v dari fermentasi sayuran dan sereal meningkatkan penyerapan besi. Kemungkinan mekanisme yang terjadi adalah efek pH rendah dan asam organik. Kadar pH yang rendah dapat mencegah pembentukan kompleks besi berkelarutan rendah. Asam organik dapat mengelasi besi dan menjaga besi agar tetap terlarut, sehingga dapat terserap dengan lebih baik. Asam organik juga dapat menunda pengosongan lambung, sehingga dapat meningkatkan penyerapan besi di intestinum proksimal (Lestari, L.A, 2018).

Probiotik lain yang telah diteliti hubungannya dengan status besi adalah *Lactobacillus acidophilus*. Penelitian yang dilakukan Silva et al pada 190 anak usia 2 – 5 tahun yang diberikan suplementasi besi dan *Lactobacillus acidophilus* dengan hasil tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol

dan dan grup yang diberi intervensi dalam kadar Hb dan kadar ferritin, hanya terdapat perbedaan signifikan pada MCHC diantara kedua kelompok.

Penelitian lain yang serupa telah dilakukan pada 624 anak. Penelitian ini menunjukkan penurunan risiko terjadinya ADB sebesar 45% pada kelompok intervensi yang diberikan *Bifidobacterium lactis* HN019 dan prebiotik dibandingkan dengan kelompok kontrol. Namun, penelitian ini tidak menghasilkan perbedaan yang signifikan pada status besi individu antara kelompok intervensi dan kelompok kontrol (Arsanti L, 2018).

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

Penelitian yang dilakukan oleh Yaghchi dkk menjelaskan bahwa terjadi peningkatan kadar serum besi dan *Total Iron Binding Capacity* (TIBC) pada hewan coba yang terpapar toksin aluminium dan mendapatkan terapi probiotik *Saccharomyces boulardii* (Yaghchi, S. Sadat, dkk, 2018).

Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Misjunaling Palayukan tentang khasiat pemberian probiotik *Saccharomyces Boulardii* terhadap indeks eritrosit dan indeks Mentzer pada pengobatan anak dengan defisiensi besi didapatkan hasil bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan baik nilai indeks eritrosit (MCV dan MCH) serta indeks Mentzer pada anak yang menderita defisiensi besi sebelum dan setelah diberikan perlakuan pada kelompok terapi standar bersama *Saccharomyces boulardi* dibandingkan dengan kelompok terapi standar bersama plasebo (Palayukan M, 2021).

Namun pada penelitian Sidrah Darma menunjukkan kadar Ret-He yang lebih tinggi pada anak dengan defisiensi besi yang mendapat *Saccharomyces Boulardii* bersama terapi standar selama 7 hari daripada yang mendapatkan plasebo bersama terapi standar (Darma S, 2021). Sedangkan pada penelitian Rini Wulandari didapatkan hasil adanya peningkatan kadar retikulosit dan Ret-He yang lebih tinggi pada anak dengan defisiensi besi yang mendapat probiotik *strain* bakteri dan terapi standar selama 7 hari dibandingkan dengan yang

mendapat plasebo dan terapi standar ataupun kombinasi multi *strain* probiotik (bakteri dan ragi) dan terapi standar (Wulandari R, 2021).

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

Tabel 8. Metaanalisis beberapa penelitian efek probiotik

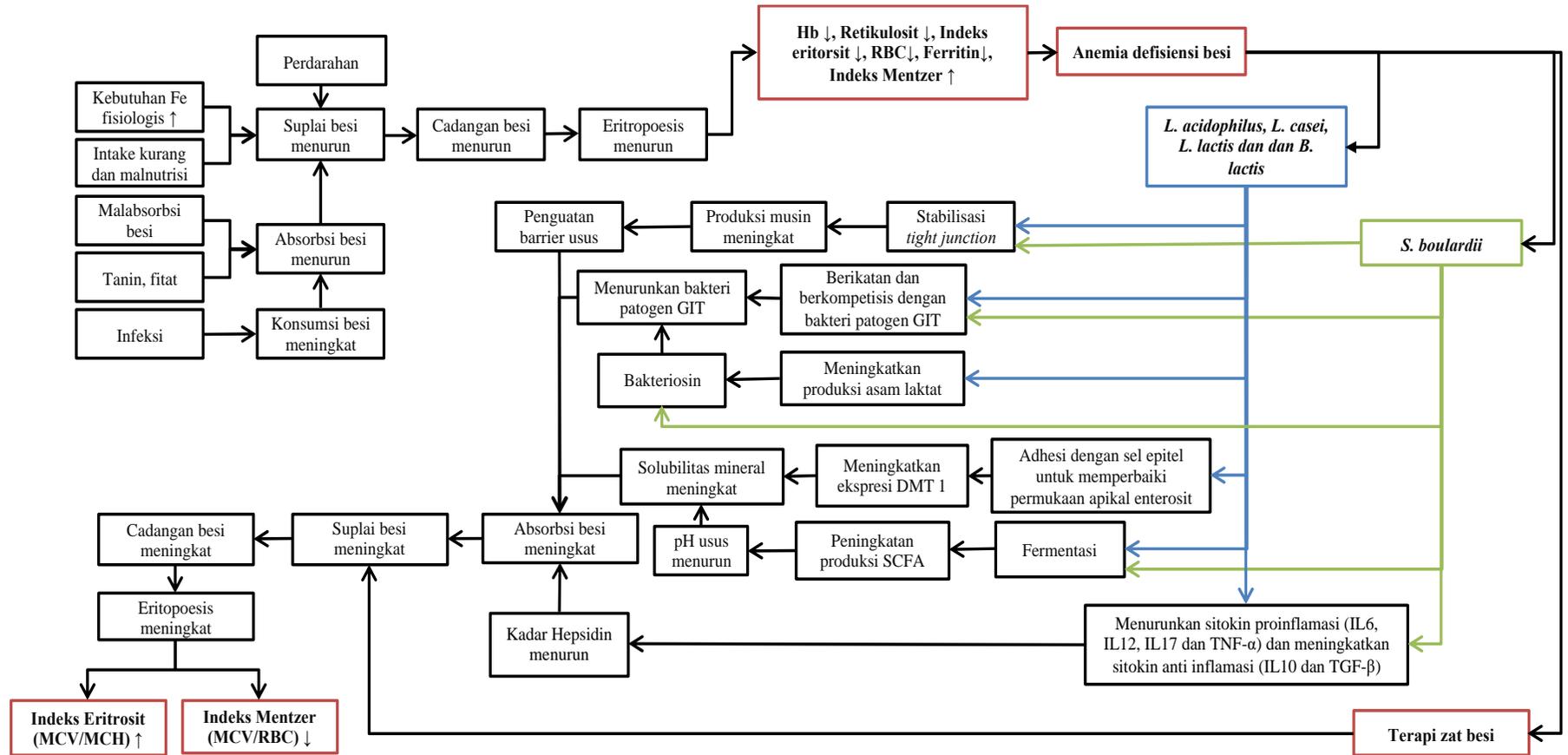
Study/Year	Subjects	Baseline Iron Status	Design/Blinding	Study Groups or Product	Iron Compound	Intervention Delivery Method, Frequency and Duration	Effect on Iron Status or Iron Absorption	Included in Meta-Analysis
RCTs and Nonrandomized Clinical Trials								
Agustina et al., 2013 [21]	Indonesia N = 494 Children Age: 1-6 Healthy Non-breastfed	IDA n (%) Group 1: 12 (10) Group 2: 17 (14) Group 3: 13 (11) Group 4: 14 (11)	RCT double-blinded	Group 1: Placebo-Low calcium, ~50 mg/d Group 2: Placebo-Regular calcium, ~440 mg/d Group 3: <i>L. casei</i> 431 1: 5 × 10 ⁸ CFU/d plus regular calcium Group 4: <i>L. reuteri</i> 17,938 5 × 10 ⁸ CFU/d plus regular calcium	Not reported	180 mL low-lactose milk and coated straws Twice daily across 6 months	↔ Hb ↔ Hct ↔ serum ferritin ↔ sTfR	No
Asemi et al., 2013 [11]	Iran N = 70 Pregnant, third trimester Age: 18-30	Iron (mg/dL) Group 1: 124 ± 88.3 Group 2: 118 ± 61.8	RCT single-blinded	Group 1: Placebo Group 2: <i>L. acidophilus</i> 1 × 10 ⁹ CFU, <i>B. lactis</i> 1 × 10 ⁷ CFU	Not reported	200 g yogurt Daily across 9 weeks	↔ serum iron	No
Asemi et al., 2015 [25]	Iran N = 58 Diabetic patients, not pregnant Age: 52.1 ± 6.9 (Group 1) 49.6 ± 9.9 (Group 2) Female % not reported	Iron (mg/dL) Group 1: 66.1 ± 33 Group 2: 69.5 ± 62.9	RCT double-blinded	Group 1: Placebo Group 2: <i>L. acidophilus</i> 2 × 10 ⁹ CFU, <i>L. casei</i> 7 × 10 ⁹ CFU, <i>L. bulgaricus</i> 2 × 10 ⁸ CFU, <i>B. breve</i> 2 × 10 ⁸ CFU, <i>B. longum</i> 7 × 10 ⁹ CFU, <i>S. thermophilus</i> 1.5 × 10 ⁹ CFU	Not reported	Capsule Daily across 8 weeks	↔ serum iron	No
Endo et al., 2011 [22]	Japan N = 25 Female 28% Age: 70.3 ± 6.2 (Group 1) 73.9 ± 8.5 (Group 2) Unexplained IDA on chronic low-dose aspirin	Hb (g/dl) Group 1: 10.9 ± 1.7 Group 2: 10.2 ± 2	RCT single-blinded	Group 1: No placebo Group 2: <i>L. casei</i> 45 × 10 ⁸ -63 × 10 ⁸ CFU	Not reported	Powder Daily for 3 months	↔ Hb (between groups) ↑ Hb (within <i>L. casei</i> group)	No
RCTs and Nonrandomized Clinical Trials								
Korcok et al., 2018 [23]	Serbia N = 20 Female 100% Healthy	Not reported	Two group comparison	Group 1: Placebo Group 2: <i>L. plantarum</i> 299o 1.1 × 10 ⁹ CFU	Sucrosomal iron 10 mg	Capsule plus supplemental iron and 15 mg vitamin C 7 consecutive mornings Empty stomach	↑ serum iron ↔ serum ferritin ↔ TIBC ↔ Hb	No
Rosen et al., 2019 [29]	United States N = 52 Children with mild iron deficiency (ferritin < 50 ng/mL), and insomnia or restless sleep, 58% had psychiatric and/or mental health diagnosis Age: 5-18	Not reported	RCT Double-blinded	Group 1: placebo Group 2: <i>L. plantarum</i> 299o 1.7 × 10 ¹⁰ CFU	Ferrous sulphate 325 mg or ferrous sulphate 15 mg elemental iron/mL (if children < 20 kg, dose of 3 mg/kg/d up to maximum dose 65 mg; in children > 20 kg range 0.4-3 mg/kg/d)	Capsule plus supplemental iron and vitamin C (125 mg < 5 years of age and 250 mg > 5 years of age) 6-8 weeks No milk or food within 2 h of medication	↔ serum ferritin	No
Silva et al., 2008 [24]	Brazil N = 109 Children Age: 20-62 months	Iron (µg/dL) Group 1: 48.9 ± 9.8 Group 2: 49 ± 10.5 Hb (g/dL) Group 1: 12.2 ± 0.7 G 2: 12.1 ± 0.7 Ferritin (ng/mL) Group 1: 41.2 ± 21.4 Group 2: 38.5 ± 19	Two group comparison	Group 1: Placebo Group 2: <i>L. acidophilus</i> 10 ⁸ CFU	Not reported	80 mL whole milk beverage with 3 mg iron 1.2 g culture of <i>L. acidophilus</i> Daily between lunch and afternoon snack Monday to Friday during 101 class days	Between groups ↔ Hb Within <i>L. acidophilus</i> group ↓ Hb ↓ Hct ↓ serum iron ↓ serum ferritin Within Placebo group ↓ Hb ↓ Hct ↔ serum iron ↑ serum ferritin	No

Study/Year	Subjects	Baseline Iron Status	Design/Blinding	Study Groups or Product	Iron Compound	Intervention Delivery Method, Frequency and Duration	Effect on Iron Status or Iron Absorption	Included in Meta-Analysis
Cross-over Studies								
Bering et al., 2006 [12]	Denmark N = 24 Female 100% Age: 25 ± 4 low iron stores not anemic, not pregnant, not lactating	Hb (g/L) Range: 111–137 Ferritin (µg/L) Range 12–40	Cross-over double-blinded	Product A: <i>L. plantarum</i> 299 ^o 1.1 × 10 ⁹ CFU, fermented gruel Product B: pasteurized Product A Product C: non-fermented gruel (pH adjusted with lactic acid) Product D: control meal non-fermented gruel with added organic acids (lactic acid and acetic acid)	Not reported	100 g oat gruel Product A, B & D: non-heme Fe 2.8 mg Product C: non-heme Fe 2.5 mg Twice on four consecutive mornings 12 h of fasting	↑ non-heme iron absorption	Yes
Bering et al., 2007 [19]	Denmark N = 18 Female 100% Age: 22 ± 3 low iron stores not anemic, not pregnant, not lactating	Hb (g/L) Range: 116–135 Ferritin (µg/L) Range 13–29	Cross-over double-blinded	Product A: heat-inactivated lactic acid gruel Product B: viable lyophilized <i>L. plantarum</i> 299 ^o 1.1 × 10 ⁹ CFU, heat-inactivated lactic acid gruel	Not reported	100 g fermented, pasteurized oat gruel plus 140 g whole-wheat roll Product A & B: non-heme Fe 1.9 mg Twice on two consecutive mornings 12 h of fasting	↔ non-heme iron absorption	Yes
Hoppe et al., 2015 [18]	Sweden N = 10 (Study 1) N = 11 (Study 2) Female 100% Healthy Age: 24.3, range 20–40 (Total sample)	Iron (µmol/L) Study 1: 15 ± 6 Study 2: 18 ± 7 Hb (g/L) Study 1: 138 ± 8 Study 2: 135 ± 9 Ferritin (µg/L) Study 1: 33 ± 13 Study 2: 33 ± 14	Cross-over single-blinded	Product A: Placebo Product B: <i>L. plantarum</i> 299 ^o 1.3 × 10 ⁹ CFU (Study 1) <i>L. plantarum</i> 299 ^o 1.7 × 10 ¹⁰ CFU (Study 2)	Ferrous lactate dehydrate 4.2 mg	200 mL fruit drink with fermented oat base plus iron (2.1 mg/100 mL) Product A: non-heme Fe 5.2 mg (Study 1) non-heme Fe 5.4 mg (Study 2) Product B: non-heme Fe 4.6 mg (Study 1) non-heme Fe 5.2 mg (Study 2) 4 consecutive days Empty stomach	↑ non-heme iron absorption (Study 1) ↔ non-heme iron absorption (Study 2)	Yes

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

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

2.5 Kerangka Teori



BAB III KERANGKA KONSEP

Kerangka konsep ini menjelaskan tentang pengaruh pemberian multi *strain* probiotik (bakteri dan ragi) terhadap anak yang mengalami defisiensi besi.

