

ARTIKEL BULAN INI

Deteksi Antigenemia pada Penderita Kifuria

Majalah Kedokteran Indonesia

(The Journal of the Indonesian Medical Association)



ISSN 0377 - 1121

PRANGKO BERLANGGANAN
KP JAKARTA PUSAT 10000
No. 9/PRKB/JKP/WIL POS IV/2003

Volum : 53, Nomor :
Juli 2003
www.mkionline.net

7

Kandungan Radikal Bebas dalam Feses Ibu Hamil Penderita Anemia yang Disuplementasi Formula Kombinasi Ferro Sulfat, Asam Folat, Vitamin B6 dan Vitamin B12 secara Oral[#]

Rini* Rimbawan,** Ali Khomsan,** M Saidin***

*Program Studi Ilmu Biomedis S3, Program Pascasarjana Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta

**Jurusan Gizi Masyarakat dan Sumberdaya Keluarga, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Darmaga, Bogor

***Pusat Penelitian dan Pengembangan Gizi dan Makanan, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Bogor

Abstrak: Anemia zat besi pada perempuan hamil masih menjadi masalah penting di Indonesia dan Pemerintah Indonesia telah mengadopsi program suplementasi sesuai rekomendasi WHO. Akan tetapi sebagian besar zat besi suplemen tidak dapat diserap dan bahkan berperan membangkitkan radikal bebas. Suplementasi zat besi yang dikombinasikan dengan asam folat, vitamin B6 dan vitamin B12 akan meningkatkan eritropoiesis yang menjadi tujuan suplementasi dan sekaligus menurunkan kandungan zat besi di dalam feses. Penelitian ini bertujuan mengukur besi dan radikal bebas di dalam feses. Keberadaan zat besi dipresentasikan dalam bentuk Fe total, FeEDTA, Fe larut air, dan Fe heme. Desain penelitian bersifat kuasi eksperimen, suplementasi secara **double blind** yang berlangsung selama 45 hari. Sampel terdiri dari perempuan hamil trimester ke-dua dengan anemi ($n=36$) yang dikelompokkan secara random menjadi kelompok kontrol ($n=18$) dan kelompok perlakuan ($n=18$). Kelompok kontrol disuplementasi dengan zat besi yang dikombinasikan dengan asam folat, sedangkan kelompok perlakuan disuplementasi dengan zat besi dengan asam folat, vitamin B6, dan vitamin B12. Pada akhir penelitian ukuran sampel kelompok kontrol 13 dan kelompok perlakuan 12. Total feses yang diekskresikan satu hari diambil sehari sebelum suplementasi dimulai dan sehari setelah suplementasi berakhir, demikian juga pencatatan zat-zat gizi yang dikonsumsi dengan metode **semi quantitative food-frequency questionnaire**. Hidroksil radikal diukur secara **in-vitro** yang ditunjukkan dalam bentuk kandungan **dimethyl sulfoxide**. Besi total, besi terikat dengan EDTA dan besi larut air diukur dengan metoda AAS. Besi heme diukur dengan **heme quant assay**. Tingkat kecukupan zat-zat gizi yang diperlukan untuk eritropoiesis sebelum suplementasi rendah, yaitu zat besi 39,67%; asam folat 51,84%; vitamin B6 44,96%, dan vitamin B12 16,9%. Selama suplementasi tidak ada perbedaan yang signifikan tingkat konsumsi zat-zat gizi yang diperlukan untuk eritropoiesis. Kandungan hidroksil radikal sebelum suplementasi adalah 4,475 $\mu\text{mol/kg}$ -berat basah feses yang setara dengan 9,33 $\mu\text{mol/g}$ berat kering feses. Setelah suplementasi terjadi penurunan yang signifikan ($p<0,05$) pada kelompok perlakuan, yaitu 23% lebih rendah daripada kelompok kontrol yang sejalan dengan penurunan semua jenis besi yang diukur. Sementara itu, berdasarkan nilai selisih rata-rata, kandungan hidroksil radikal pada kelompok perlakuan 58% lebih rendah daripada kelompok kontrol.

Kata kunci: radikal bebas, feses, anemia, perempuan hamil, ferro sulfat.

Makalah ini sebagian Tesis Penulis pada Program Studi Gizi Masyarakat dan Sumberdaya Keluarga Program Pascasarjana IPB. Disampaikan pada Seminar PPS IPB tanggal 23 Agustus 2001.

The Free Radical Content in the Faeces of Anaemic Pregnant Women Receiving Oral Supplementation of Ferrous Sulfate, Folic Acid, Vitamin B6, and Vitamin B12

Rini,* Rimbawan,** Ali Khomsan,** M Saidin***

*Doctoral Programm Student in Medical Science, Fakultas of Medicine University of Indonesia, Jakarta

**Department of Community Nutrition and Family Resources, Faculty of Agriculture, Bogor Agriculture Institute, Darmaga, Bogor

***Centre for Research in Nutrition, Health Research Institute, Bogor

Abstract: Iron deficiency anaemia in pregnant women is a major public health problem in Indonesia. Indonesia has adapted a supplementation programme. However, there is an indication that most of the iron in the supplement remains unabsorbed and hence may be available to participate in free radical generation. The increasing erythropoiesis due to consumption of supplement of ferro sulfate, folic acid, vitamin B6 and vitamin B12 will increase iron absorption and is therefore desirable. The objective of this research is to measure iron and free radical in faeces. The iron content was measured by total iron, EDTA-chelatable iron, water-soluble iron and heme iron. The quasi experimental design was conducted over 45 days in double blind supplementation. The samples consisted of 36 anaemia pregnant women in the second trimester who were randomly placed in the control group of 18 samples and the treatment group of 18 samples. The control group received supplement of ferro sulfate and folic acid, while the treatment group received supplement of ferro sulfate, folic acid, vitamin B6 and vitamin B12. At the end of the research, the number of samples for the control group was 13 and 12 for the treatment group. Their intake was recorded by semi quantitative food-frequency questionnaire method while total faeces excreted in one day was collected a day before supplementation began and a day after supplementation ended. Hydroxyl radical was determined by an *in-vitro* assay using dimethyl sulfoxide. Total iron, EDTA-chelatable iron and water soluble iron were measured by AAS method. Heme iron was measured by heme quant assay. The sufficiency level of nutrients needed for erythropoiesis before supplementation was low. They were 39.67% for iron; 51.84% for folic acid; 44.96%, for vitamin B6 and 16.9% for vitamin B12. During supplementation period, there was not any significant differences between the control and the treatment group in the case of those nutrients sufficiency levels. Before supplementation, hydroxyl radical content was 4.475 $\mu\text{mol/kg-wet faeces}$ which is equal to 9.33 $\mu\text{mol/g-dry faeces}$ and after supplementation there was significant decrease ($p < 0.05$) between the control group and the treatment group. The content for treatment group was 23% lower than the control group and it as assumed to be associated with the decrease of all kinds of fecal iron. The content of hydroxyl radical for treatment group was 58% lower than the control group.

Key words: free radical, faeces, anaemia, pregnant women, ferro sulfate.

Pendahuluan

Anemia zat besi adalah masalah penting di seluruh dunia. Di negara Asia Tenggara, termasuk Indonesia, hampir 79,6% perempuan hamil menderita anemia zat besi dan satu dari 3 perempuan di Indonesia menderita anemia zat besi.^{1,2} Oleh karena itu sesuai rekomendasi WHO, di Indonesia telah dilakukan penanggulangan anemia pada perempuan hamil sejak sebelum tahun 1990 hingga sekarang dengan program suplementasi pil besi ferro sulfat 200 mg yang mengandung 60 mg besi elemental (Fe) dan 250 μg asam folat setiap hari selama minimal 100 hari. Selain berperan penting dalam penanggulangan masalah anemia, suplementasi zat besi dapat meningkatkan

keberadaan zat besi pada feses sebagai akibat dari tidak terserapnya zat besi pada proses pencernaan. Zat besi yang tidak terserap ini ternyata dapat meningkatkan jumlah radikal bebas dalam feses.

Penelitian suplementasi zat besi dengan 100 mg ferro sulfat yang mengandung 19 mg besi elemental (Fe) setiap hari dalam waktu yang relatif singkat (14 hari) pada perempuan sehat terbukti dapat meningkatkan kandungan zat besi dalam feses sebanyak 64,23% yang berpotensi meningkatkan radikal bebas.³ Radikal bebas tersebut dapat mengakibatkan terjadinya stres oksidatif.⁴ Dengan demikian jumlah zat besi yang berasal dari suplementasi yang tidak terabsorpsi penting untuk diwaspadai.

Peningkatan absorpsi zat besi merupakan salah satu cara yang dapat menurunkan kandungan zat besi dalam feses. Terkait dengan tujuan suplementasi, yaitu untuk memenuhi kebutuhan zat besi tubuh, telah diketahui bahwa lebih dari 65% zat besi tubuh ditemukan dalam hemoglobin untuk eritropoiesis (pembentukan sel-sel darah merah).⁵ Oleh karena itu peningkatan absorpsi zat besi melalui peningkatan eritropoiesis merupakan alternatif penting, karena pilihan ini memiliki pengaruh ganda yaitu memenuhi tujuan suplementasi sekaligus meminimalkan peningkatan radikal bebas dalam feses.⁶

Peningkatan eritropoiesis pada masa kehamilan sejalan dengan peningkatan hormon yang menstimulasi eritropoiesis, yaitu hormon laktogen dan prolaktin.⁷ Peningkatan tersebut selanjutnya menyebabkan peningkatan kebutuhan zat-zat yang diperlukan untuk eritropoiesis yaitu zat besi, asam folat, vitamin B₆, dan vitamin B₁₂.^{8,9} Oleh karena itu perlu diteliti kandungan radikal bebas dalam feses ibu hamil penderita anemia yang disuplementasi dengan formula kombinasi *ferro sulfat*, asam folat, vitamin B₆, dan vitamin B₁₂ secara oral.

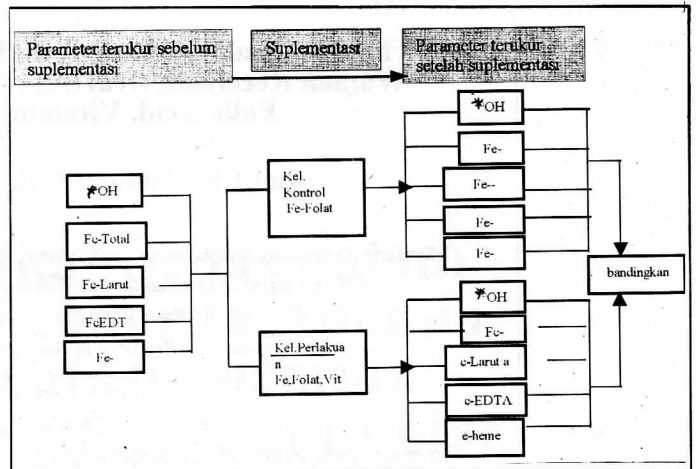
Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh suplementasi zat besi (*ferro sulfate*) yang dikombinasikan dengan asam folat, vitamin B₆, dan vitamin B₁₂ secara oral dibandingkan dengan kombinasi zat besi (*ferro sulfate*) dengan asam folat terhadap keberadaan zat besi dan potensi pembentukan radikal bebas dalam feses ibu hamil penderita anemia. Keberadaan zat besi dipresentasikan dalam bentuk Fe total, Fe-EDTA, Fe larut air dan Fe heme, sedangkan potensi pembentukan radikal bebas ditunjukkan dalam bentuk kandungan MSA (*methanesulfinic acid*).

Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan kontribusi bagi perkembangan ilmu gizi, khususnya yang berkaitan dengan anemia zat besi dan resiko terjadinya stres oksidatif pada ibu hamil. Selain itu, diharapkan dapat dijadikan dasar pertimbangan bagi penentu kebijakan untuk perbaikan program penanggulangan anemia zat besi dan pencegahan stres oksidatif.

Metode Penelitian

Disain Penelitian

Penelitian ini merupakan rangkaian penelitian yang dilakukan oleh Pusat Penelitian dan Pengembangan Gizi Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan-Bogor, dengan disain kuasi eksperimen yaitu kelompok kontrol diintervensi sesuai program yang berlangsung.¹⁰ Kelompok kontrol dan perlakuan dialokasikan secara *random assignment* kemudian disuplementasi selama 45 hari secara *double blind* yang dimulai ketika umur kehamilan ibu memasuki akhir trimester ke-dua. Kelompok kontrol mendapat satu butir kapsul formula kombinasi ferros sulfat (60 mg zat besi elemental) dan 250 µg asam folat per hari. Kelompok perlakuan mendapat satu butir kapsul formula kombinasi ferros sulfat (60 mg zat besi elemental), 500 µg asam folat, 5 mg vitamin B₆, dan 250 µg vitamin B₁₂, per hari. Diagram disain penelitian sebagai berikut:



Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian berlangsung dari bulan Juni hingga September 2000. Pengambilan sampel diambil dari tiga wilayah kerja Puskesmas Kabupaten Bogor, yaitu Cankurawok, Ciherang, dan Kampung Manggis.

Pemeriksaan umur kehamilan, pengukuran tinggi dan berat badan, serta pencatatan usia sampel dilakukan di masing-masing puskesmas dengan bantuan bidan. Pencatatan konsumsi zat gizi dilakukan di rumah ibu peserta penelitian, pencatatan konsumsi suplemen dan pengambilan feses dilakukan oleh kader posyandu di puskesmas setempat atau di rumah ibu peserta penelitian. Analisis darah dilakukan di Laboratorium Biokimia, Pusat Penelitian dan Pengembangan Gizi, Bogor. Analisis radikal bebas serta fraksi-fraksi besi dilakukan di Laboratorium Biokimia, Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan, Bogor.

Cara Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel diawali dengan penapisan ibu-ibu hamil berdasarkan kadar Hb, Ht, dan hapusan darah tepi dengan morfologi normositter dan mikrositter hipokrom sebagai indikator awal anemia zat-besi.⁹ Ibu-ibu hamil yang ditapis 52 orang dengan umur kehamilan 4-6 bulan. Penentuan jumlah sampel disain penelitian kuasi eksperimen menggunakan rumus:

$$n = 2[Z\alpha + Z\beta]S / (X_e - X_c)]^2, 11, 12$$

Keterangan:

- n : jumlah sampel.
- zα : 1.645.
- zβ : 0.846.
- s : 44.6, yaitu standar deviasi kandungan besi dalam feses selama suplementasi.¹³
- (x_e - x_c) = δ : ketepatan, yaitu selisih nilai peubah respon kelompok perlakuan (x_e) dengan nilai peubah respon kelompok kontrol (x_c), (x_e - x_c) = 45, yaitu kandungan radikal bebas dalam feses tikus.¹³

Berdasarkan nilai-nilai: $z\alpha$, $z\beta$, s , dan (x_0-x_c) , diperoleh ukuran sampel untuk masing-masing kelompok 12 ($n = 2[(1,645+0,846) 44,6/45]^2$, $n=12$) dan dibulatkan hingga berjumlah 18 orang ibu hamil anemia untukantisipasi *drop out* 50%.

Cara Pengumpulan Data

Penelitian ini menggunakan data primer yang meliputi: morfologi darah yaitu hapusan darah tepi dengan indikator normositter hipokrom dan mikrositter hipokrom;⁷ konsumsi zat gizi menggunakan satuan sesuai macam zat gizi/hari dengan metode semi *quantitative food frequency questionnaire*;¹⁴ Hb (g/dl) menggunakan metode *cyamethemoglobin*;¹⁴ Ht (%) menggunakan metode *capillary blood*;¹⁴ konsumsi suplemen menggunakan satuan sesuai macam zat gizi/hari (rata-rata 45 hari) dengan metode pencatatan;¹⁵ umur kehamilan (bulan) dengan wawancara dan palpasi;¹⁵ umur (tahun, bulan) dengan wawancara;¹⁵ tinggi badan (cm) menggunakan *microtoice*;¹⁵ berat badan (kg) menggunakan *electric scale*;¹⁵ Fe total (μ mol/g berat kering) diukur menggunakan AAS;³ Fe larut air (μ mol berat kering) dengan cara Simpson yang diukur oleh AAS;¹⁶ FE EDTA (μ mol/g berat kering) dengan cara Simpson yang diukur oleh AAS;¹⁶ Fe Heme (μ mol/g berat kering) menggunakan metode *hemo quant assay* yang diukur dengan *fluometry*;¹⁷ OH (μ mol/g berat kering) secara *in-vitro assay* yang diukur dengan *spektrophotometry*.¹³

Pengambilan feses dan pencatatan konsumsi makanan dilakukan dua kali yaitu sehari sebelum suplementasi dimulai dan sehari setelah suplementasi berakhir. Feses yang dikumpulkan adalah feses total satu hari. Paket suplemen diberikan seminggu sekali dengan bantuan bidan dan kader posyandu. Suplemen yang tidak dikonsumsi diambil kembali untuk selanjutnya dihitung. Antisipasi masalah yang berkaitan dengan pemberian suplemen dilakukan dengan mengevaluasi jumlah suplemen yang dikonsumsi setiap dua minggu sekali.

Konsentrasi *OH ditentukan dengan mengukur kandungan *methane sulfonic acid*, yaitu senyawa utama yang dihasilkan dari reaksi dimetil sulfoksida dengan (*OH). Persamaan reaksinya sebagai berikut:



Analisis Data

Data konsumsi zat gizi makanan dianalisis dengan *The food processor II version 3.14 plus*. Konsumsi asam folat, vitamin B₆ dan vitamin B₁₂ dari makanan dihitung dengan program Excell dan bantuan tabel komposisi zat gizi¹⁸ untuk selanjutnya dianalisis dengan *The food processor II version 3.14 plus*. Konsumsi Fe dari makanan dihitung sebagai berikut:

Konsumsi besi heme (H) = $0,4 \times$ Total konsumsi Fe makanan hewani

Konsumsi Fe non heme (NH) =
Total konsumsi Fe makanan nabati + $(0,6 \times$ Total konsumsi Fe makanan hewani)

Absorpsi konsumsi besi heme = $0,23 \times H$

Absorpsi konsumsi besi nonheme:

a. *A high-availability meal* = $0,08 \times NH$

b. *A medium-availability meal* = $0,05 \times NH$

c. *A low availability meal* = $0,03 \times NH$ ⁵

Tingkat kecukupan zat gizi dihitung dengan mempertimbangkan contoh dalam kategori kegiatan sedang. Kandungan fraksi Fe dan *OH dihitung dalam μ g/g total feses kering. Analisis statistik menggunakan uji beta (*t-test*, $p < 0,05$) dengan program Minitab.

Hasil dan Pembahasan

Keadaan Umum Sampel

Sampel diupayakan homogen, oleh karena itu calon sampel yang sakit, dalam terapi pengobatan, dan konsumsi suplemen kurang 89% dikeluarkan. Penapisan terhadap 36 calon sampel akhirnya terpilih 25 sampel, yaitu 13 sampel untuk kelompok kontrol dan 12 sampel untuk kelompok perlakuan.

Dari pemeriksaan klinis sebelum suplementasi (Tabel 1) terlihat nilai Hb dan Ht masih dalam kategori normal.⁷

Tabel 1. Karakteristik Sampel Berdasarkan Pemeriksaan Klinis

Karakteristik	%
Darah (Sebelum suplementasi)	
Normositter hipokrom	76
Mikrositter hipokrom	24
Hb (g/dl): $11,4 \pm 0,7$	100
Ht (%) $34,7 \pm 1,0$	100
Hamil 4-6 bulan	100

Namun dilihat pemeriksaan morfologi darah yang normositter hipokrom dan mikrositter hipokrom terindikasi bahwa sampel berada dalam tahap awal anemia defisiensi besi.⁷

Tabel 2. Karakteristik Sampel Berdasarkan Tingkat Kecukupan Zat Gizi Rata-rata yang Berasal dari Makanan (%)

Zat Gizi	Sebelum Suplementasi Rata-rata	Tingkat Kecukupan Zat Gizi Sampel		
		Kontrol Rata-rata	Sesudah Suplementasi Perlakuan Rata-rata	t-test (p)
Energi	92,4	97,0	97,6	-0,2 (0,55)
Karbohidrat	103,7	108,6	110,5	-0,26 (0,80)
Protein	103,6	101,7	102,9	-0,12 (0,90)
Lemak Total	102,4	97,4	110,3	-2,1 (0,051)
Serat Makanan	12,2	10,5	13,3	-1,01 (0,33)
Vitamin C	88,1	115,2	108,2	0,23 (0,82)
Vitamin A	294,6	328,0	325,0	0,02 (0,98)
Folat	51,8	51,5	57,3	-0,85 (0,4)
Vitamin B ₆	44,9	39,8	31,8	1,37 (0,19)
Vitamin B ₁₂	16,9	19,6	14,3	1,29 (0,21)
Fe	39,7	35,2	43,1	-1,65 (0,12)

Anemia defisiensi besi dapat disebabkan oleh tingkat kecukupan zat gizi yang penting untuk eritropoesis masih rendah yaitu untuk Fe, folat, vitamin B₆, dan vitamin B12 (Tabel 2). Hampir semua sampel mengkonsumsi Fe nonheme dengan tingkat penyerapan tinggi (Tabel 3).

Tabel 3. Karakteristik Sampel Berdasarkan Tingkat Penyerapan Hipotetik Fe Nonheme dari Makanan

Tingkat Penyerapan(*)	Jumlah Sampel Dinyatakan dalam Persen		
	Sebelum Suplementasi	Sesudah Suplementasi Kontrol	Sesudah Suplementasi Perlakuan
Tinggi (8%)	88.89	84.6	100
Sedang (5%)	11.11	15.4	0.0

Catatan. (*) Dengan asumsi simpanan Fe tubuh sebesar 500 mg⁷

Setelah suplementasi tingkat kecukupan zat gizi dari makanan yang dibutuhkan untuk eritropoesis tidak berbeda secara signifikan antara kelompok kontrol dan perlakuan (Tabel 2). Dengan demikian tingkat kecukupan zat gizi dari makanan yang diperlukan untuk eritropoesis dapat diduga berpengaruh sama terhadap kecepatan eritropoesis pada kelompok kontrol dan perlakuan selama suplementasi, sehingga kemungkinan adanya perbedaan parameter terukur antara kelompok kontrol dan perlakuan diduga sebagai akibat dari perbedaan kombinasi formula suplemen.

Usia kehamilan mencerminkan perkembangan fetus yang berkaitan dengan kebutuhan zat gizi sampel.¹⁹ Pada Tabel 1 terlihat semua sampel berada pada selang usia kehamilan 4-6 bulan, usia kehamilan dengan selang waktu relatif kecil menjadikan kebutuhan sampel terhadap zat gizi yang diperlukan untuk eritropoesis relatif homogen.

Konsumsi antioksidan dan oksidan menentukan kandungan radikal bebas dalam tubuh.⁴ Di antara zat gizi yang terkait erat dengan hal tersebut adalah lemak, serat kasar, vitamin C, vitamin A, asam folat, dan Fe.²⁰ Pada sampel ini tidak terlihat perbedaan yang signifikan konsumsi lemak, serat kasar, vitamin C, vitamin A, dan asam folat pada kelompok kontrol dan perlakuan sesudah suplementasi (Tabel 2). Dengan demikian maka dapat diduga kuat perbedaan kandungan radikal bebas antara

kelompok kontrol dan perlakuan disebabkan perbedaan kombinasi formula suplemen.

Kandungan Radikal Bebas dalam Feses Sebelum Suplementasi

Kandungan *OH pada feses sampel sebelum suplementasi ditemukan relatif tinggi, yaitu lebih kurang 4.475 mol/kg-berat basah. Penelitian Lund *et al.*³ hanya menemukan kandungan *OH sebesar 1 sampai dengan 1,75 µmol/kg. Kandungan *OH yang tinggi ini disebabkan oleh sifat katalitik Fe, sebab kandungan *OH yang tinggi sejalan dengan kandungan Fe larut air dan Fe terikat EDTA yang juga tinggi yaitu masing-masing 232,3 µmol/kg berat basah dan 173,02 µmol/kg berat basah. Kandungan Fe larut air dan Fe-EDTA pada feses sampel Lund *et al.*³ masing-masing hanya berkisar 30-40 µmol/kg-berat basah dan 20-25 µmol/kg-berat basah.

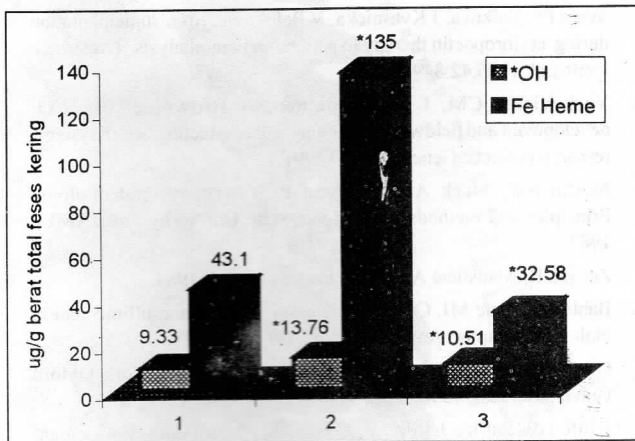
Penyebab Fe larut air dan Fe terikat EDTA feses sampel relatif tinggi mungkin karena konsumsi Fe nonheme yang tinggi yaitu sekitar 90% dari Fe yang dikonsumsi atau sekitar 195 µmol, sedangkan jumlah maksimum yang dapat diabsorpsi dari Fe nonheme hanya sekitar 8%.⁵ Selain akibat konsumsi Fe nonheme yang tinggi, kandungan Fe larut air dan Fe terikat EDTA feses sampel relatif tinggi juga dapat diakibatkan rendahnya kemampuan eritropoesis, sebagai akibat rendahnya tingkat kecukupan zat gizi yang penting untuk eritropoesis (Tabel 2).

Kandungan Radikal Bebas dalam Feses Setelah Suplementasi

Kandungan *OH sesudah suplementasi berbeda signifikan (p < 0,05) antara kelompok kontrol dan perlakuan yaitu kelompok perlakuan 23,6% lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol (Gambar 1). Penurunan kandungan *OH pada kelompok perlakuan dapat disebabkan oleh penurunan peran katalitik Fe, karena penurunan kandungan *OH seiring dengan penurunan Fe larut air, Fe-EDTA dan Fe heme yang juga signifikan (p < 0,05) yaitu masing-masing berturut-turut 45,9%, 28,17% dan 75,9% (Gambar 1 dan Gambar 3). Berdasarkan nilai selisih rata-rata, kandungan *OH sesudah suplementasi menurun 58% pada kelompok perlakuan (Gambar 2)

Tabel 4. Selisih Rata-rata (X(SD) Kandungan *OH dan fraksi-fraksi Fe sesudah-sebelum Suplementasi (µg/g Berat Total Feses Kering)

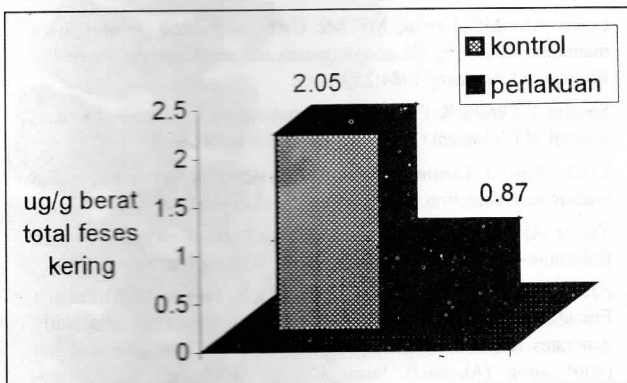
Variabel	Sampel						t-test (p) a,b
	Kontrol			Perlakuan			
	Sebelum Suplementasi (1)	Sesudah Suplementasi (2)	Selisih (2)-(1):a (3)	Sebelum Suplementasi (4)	Sesudah Suplementasi	Selisih (4)-(3):b	
*OH	11.38±3.57	13.76±0.88	2.05±4.11	9.24±0.82	10.51±11.78	0.87±1.43	0.95 (0.36)
Fe Total	2177±541	2073±259	-2155±540	1835±86	1982±182	120±160	-14.52 (0.00)
Fe-EDTA	299.9±82.5	335.1±46.9	29.5±88.2	232.7±25.8	240.7±94	-4.1±78.8	0.98 (0.34)
Fe Larut Air	434.1±185.8	664.9±119.4	244.8±91.9	308.6±95.5	360.1±158.6	51±143	3.89 (0.001)
Fe Heme	41.65±13.2	135±16.6	85.1±31.9	44.4±17.3	32.58±4.9	-7.5±18.6	8.42 (0.000)



Gambar 1. Kandungan Rata-rata *OH dan Fe Heme Sebelum Suplementasi (1), Sesudah Suplementasi pada Kontrol (2) dan Perlakuan (3), tanda *Menunjukkan Adanya Perbedaan yang Signifikan ($p < 0,05$) antara (2) dan (3).

dengan perbedaan yang tidak signifikan, dan kandungan Fe total kelompok perlakuan meningkat 106% (Tabel 4).

Berdasarkan persentase kenaikan rata-rata kandungan Fe total dan *OH pada kelompok kontrol dan perlakuan (Tabel 5), terlihat bahwa pada kelompok kontrol kenaikan kandungan Fe total sebesar 11,09% berakibat pada kenaikan *OH sebesar 32,175%, sedangkan pada kelompok perlakuan kenaikan kandungan Fe total sebesar 7,01%, hanya berakibat kenaikan *OH sebesar 11,23%.



Gambar 2. Selisih Rata-rata Kandungan *OH Sesudah dan Sebelum Suplementasi.

Tabel 5. Kenaikan Rata-rata Kandungan Fe Total dan *OH (%)

Variabel	Sampel		
	Kontrol	Perlakuan	Selisih
Fe Total	11,09	7,01	36,79
*OH	32,17	511,23	65,097

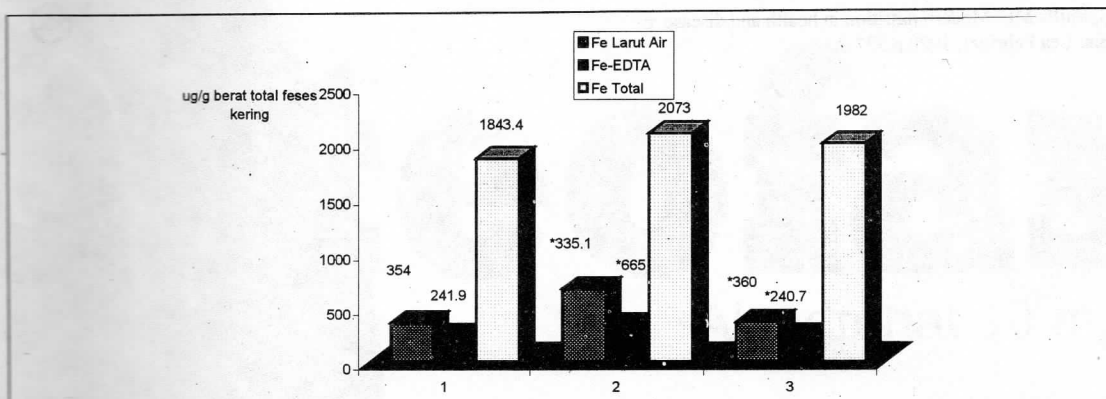
Hal ini berarti bahwa kandungan *OH yang lebih rendah pada kelompok perlakuan sesudah suplementasi tidak hanya disebabkan oleh penurunan aktivitas katalitik Fe, tetapi juga oleh konsentrasi reaktan dan konsentrasi inhibitor.²¹ Dengan demikian sangat mungkin penurunan kandungan *OH pada kelompok perlakuan disebabkan oleh penurunan konsentrasi H₂O₂ dan O₂* dan sistem yang diperlukan untuk berlangsungnya reaksi tersebut.

Tabel 6. Sumbangan Zat Gizi Rata-rata dari Suplemen Dihitung Berdasarkan Tingkat Kecukupan Zat Gizi (%)

Zat Gizi	Kontrol	Perlakuan
Fe	199,0	180,7
Folat	62,0	123,3
Vitamin B ₆	-	224,1
Vitamin B ₁₂	-	1130,3

Kenaikan tingkat kecukupan asam folat karena adanya suplementasi (Tabel 6) diduga ikut berperan, karena diketahui asam folat akan menurunkan aktivitas *xanthin oxidase* sebagai sistem utama pembangkit O₂*.^{22,23} Sehingga diduga O₂* akan menjadi faktor pembatas dalam pembentukan *OH. Selanjutnya penurunan konsentrasi O₂* dapat berakibat pada penurunan konsentrasi H₂O₂ yang berdismutasi secara spontan dari O₂* dengan bantuan SOD. Penurunan konsentrasi H₂O₂ dapat juga terjadi karena penurunan aktivitas SOD sebagai akibat konsumsi asam folat yang tinggi yang akan menghambat penyerapan Zn dan Zn penting dalam pembentukan SOD.^{24,25}

Penurunan kandungan *OH diperkirakan dapat juga terjadi melalui sistem NADPH karena adanya produk fotolitik asam folat yaitu 6-formilpterin²⁶ yang mungkin



Gambar 3. Kandungan Rata-rata Fe Larut Air, Fe-EDTA & Fe Total Sebelum Suplementasi (1), Sesudah Suplementasi pada Kontrol (2) dan Perlakuan (3). Tanda * Menunjukkan Adanya Perbedaan yang Signifikan ($p < 0,05$) Antara (2) & (3).

terbentuk selama pembuatan preparat formula suplemen sebagai akibat sifat asam folat yang sensitif terhadap cahaya dan udara.⁸

Kesimpulan

Kandungan radikal bebas, Fe larut air, Fe-EDTA dan Fe heme menurun secara signifikan ($p < 0,05$) dengan suplementasi formula kombinasi ferro sulfat (60 mg Fe elemental), asam folat 500 µg, vitamin B₆ 5 mg, dan vitamin B₁₂ 250 µg dibandingkan dengan formula suplemen yang umum digunakan.

Dengan melakukan uji beda terhadap selisih rata-rata, kandungan radikal bebas pada suplementasi formula kombinasi ferro sulfat (60 mg Fe elemental), asam folat 500 µg, vitamin B₆ 5 mg, dan vitamin B₁₂ 250 µg menurun, akan tetapi kandungan Fe total meningkat secara signifikan dibandingkan dengan formula suplemen yang umum digunakan.

Saran

Perlu dilakukan penelitian dengan pengendalian konsumsi zat gizi yang berpengaruh terhadap eritropoiesis dan zat gizi yang berfungsi sebagai prooksidan dan antioksidan dengan ukuran sampel yang lebih besar.

Daftar Pustaka

1. ACC/SCN. The Third Report on The World Nutrition Situation. Switzerland. WHO 1997: 35.
2. Indonesia Sehat 2010. [http://www. Gizi. Net](http://www.Gizi.Net).
3. Lund EK, Wharf SG, Tait SJF, Johnson IT. Oral ferrous sulfate supplements increase the free radical generating capacity of feces from healthy volunteers. *Am J Clin Nutr* 1999;69:250-5.
4. Nabet P. Deteksi senyawa radikal dan turunannya dalam sistem biologis. Prosiding Seminar Senyawa Radikal dan Sistem Pangan: Reaksi Biomolekuler, Dampak Terhadap Kesehatan dan Penangkalan. Kerjasama Pusat Studi Pangan dan Gizi IPB dengan Kedutaan Besar Perancis, Jakarta, 1996.p.II-6.
5. Groff JL, Gropper SS, Hunt SM. Advanced nutrition and human metabolism. New York: West Publishing Co; 1995.p.353-66.
6. Beard JL, Dawson H, Pinero DJ. Iron metabolism: A comprehensive review. *Am J Clin Nutr* 1996;54:295-317.
7. Kresno SB. Pengantar hematologi dan imunohematologi. Jakarta: FKUI; 1988,4:40.
8. Goodhart RS, Shills ME. Modern nutrition in health and disease. 6th ed. Philadelphia: Lea Febriger; 1980.p.327-8.
9. Svava FS, Sulkova, J Kvasnicka, V Polokovic. Iron supplementation during erythropoietin therapy in patients on hemodialysis. (Abstract). *Vnitř-Lek* 1996;42:849-52.
10. Varkevisser CM, I Pathmanathan, A Brownlee. Proposal development and fieldwork, designing and conducting health systems research projects. Geneva, WHO 1991.
11. Martin SW, Meek AH, Willberg P. Veterinary epidemiology. Principles and methods. Iowa: Iowa State University Press/AMES 1987.
12. Zar JH. Biostatistical Analysis. Washington DC 1984.
13. Babbs CF, Gale MJ. Colorimetric assay for methanesulfinic acid in biological samples. *Anal Biochem* 1987;163:67-73.
14. Gibson RS. Principles of nutritional assessment. New York: Oxford University Press; 1990;37:42-3.
15. Jelliffe DB, Patrice Jelliffe EF. Community Nutritional Assessment with special reference to less technically developed countries. New York: Oxford University Press; 1989.
16. Simpson RJ, Sidhar S, Peters TJ. Application of selective extraction to the study of iron species present in diet and rat gastrointestinal tract contents. *British Journal of Nutrition* 1991;67:437-44.
17. Schwartz S, Dahl J, Ellefson M, Ahlquist A. The "Hemoquant" Test: A Specific and quantitative determination of heme (Hemoglobin) in feces and other materials. *Clin Chem* 1983; 29(12):2061-7.
18. Shils ME, James A, Olson, Mosh Shike. Modern nutrition in health and disease. Vol 2. 8th London: Lea and Febiger; 1994.
19. Herbert V. Recommended dietary intakes (RDI) of folate in humans. *Am J Clin Nutr* 1987;45:661-70.
20. Cranton EM. Anti-free radical, pro-longevity diet. Virginia: Mount Rogers Clinic 2001;6.
21. Sykes P. Penuntun mekanisme reaksi kimia organik. Jakarta: Gramedia; 1989.
22. Lewis AS, MC Lenita, MF Mc Calla, S Purcell. Inhibition of mammalian oxidase by folate compounds and amethopterin. *Journal of Biological Chemistry* 1984;259:12-5.
23. Spector T, Ferone R. Folic acid does not inactivate xanthine oxidase. *Journal of Biological Chemistry* 1984;259:10784-6.
24. Kricka, Larry J. Luminescent detection systems for immuno assay and nucleic acid detection. *Journal of clinical Ligand Assay* 1999:22.
25. Taylor AE, Matalon S, Ward P. Physiology of oxygen radicals. Baltimore-Maryland: The Williams and Wilkins Company; 1986.
26. Arai T, Endo N, Yamashita K, Masataka S, Hiroko M, Hisanari I Fukuda. 6-formylpterin, a xanthine oxidase inhibitor, intracellularly generates reactive oxygen species involved in apoptosis and cell proliferation. (Abstract). Japan: College of Medical Technology-Kyoto University; 2000.

