

EFEK SUPLEMENTASI LAKTOFERIN PADA SUSU FORMULA TERHADAP AVAILABILITAS ZAT BESI, OKSIDASI LEMAK DAN PERTUMBUHAN *Escherichia coli* PADA SALURAN PENCERNAAN TIKUS

[The Effects of Lactoferrin Supplementation to Infant Formula on Iron Availability, Lipid Oxidation and *Escherichia coli* Growth in Rats Intestine]

Eddy Purwati Nurlaili¹, Mary Astuti², dan Y. Marsono²

¹ Staf Pengajar Fakultas Teknologi Pertanian UNTAG Semarang

² Staf Pengajar Fakultas Teknologi Pertanian Univ. Gadjah Mada Yogyakarta

ABSTRACT

A research on lactoferrin supplementation to infant formula has been conducted. The objectives of this research were to study the effects of consumption of the supplemented formula on iron availability, lipid oxidation and growth of *Escherichia coli* in the intestine. Fifty newly born rats and their mother (10 rats) were used. They were divided into 5 groups of 10 newly born and 2 mother rats, and were given five different infant formula respectively i.e. FEAN (inorganic Fe supplementation), FEOR (lactoferrin supplementation), FECAMP (inorganic and lactoferrin supplementation), Control (no Fe supplementation) and Placebo. FeSO₄ · 7 H₂O and lactoferrin were used as the source of inorganic and organic Fe respectively. During the experiment the rat baby also got regular milk from their mothers which were fed by AIN 93 diet. After 30 days of intervention, blood were withdrawn from the retro orbital plexus for Hb, Fe and TBARS determination. The rats were executed and liver was taken for Fe and TBARS analysis and large intestine were withdrawn for *Escherichia coli* determination. It was found that Fe supplementation of the formula have no effects on the serum total Fe, increase the total hemoglobin of the baby but was not significantly different between the sources of the Fe. Total Fe of the liver was highest in FECAMP and FEOR rats (101.3 ppm and 83.38 ppm, respectively) and lowest in the Placebo groups (58.1 ppm). Inorganic Fe supplementation increase TBARS of the serum and liver of the rats. Number of total *Escherichia coli* was lowest in FEOR groups ($1.7 \cdot 10^7$ cfu) and was highest in FEAN rats ($7.5 \cdot 10^7$ cfu).

Key words : Lactoferrin Supplementation, Iron Availability, Lipid Oxidation, and *E. coli* growth.

PENDAHULUAN

Anemi gizi merupakan salah satu masalah gizi utama di Indonesia dan sangat umum dijumpai, terutama di kalangan bayi, balita, serta ibu hamil dan menyusui. Anemi gizi paling banyak disebabkan karena kekurangan zat besi disebut anemi gizi besi (AGB) (Husaini dan Karyadi, 1982).

Berdasarkan hasil Survei Kesehatan Rumah Tangga tahun 1992 (Anonim, 1995), prevalensi anemi gizi besi pada balita di Indonesia masih tinggi yaitu sebesar 55,5 %, ibu hamil sebesar 63,5 %. Prevalensi yang tinggi tersebut mempunyai implikasi sosial, ekonomi dan kesehatan masyarakat yang luas (Sutaryo, 1987).

Anemi gizi besi pada bayi, balita serta ibu hamil dan menyusui dapat diketahui dari kadar hemoglobinnya di bawah normal yaitu kurang dari 12 g/100 ml. Keadaan tersebut disebabkan karena ketidakcukupan zat besi yang tersimpan pada saat lahir, konsentrasi zat besi yang rendah pada susu maternal, konsumsi zat besi yang tidak cukup dan kekurangan zat besi pada bayi yang disebabkan oleh persediaan zat besi pada bayi terbatas. ASI sebagai makanan bayi bukan merupakan sumber zat besi, oleh karena itu bayi berumur lebih dari 6 bulan perlu tambahan

makanan yang mengandung zat besi. Kekurangan zat besi dapat pula disebabkan oleh availabilitas zat besi makanan yang rendah. Availabilitas zat besi meliputi jumlah zat besi yang dapat diserap dan dipergunakan oleh tubuh untuk berbagai keperluan seperti komponen hemoglobin, enzim ataupun aktivitas enzim dan katalisator suatu reaksi. Oleh karena ASI hanya dapat menyediakan zat besi yang cukup selama 6 bulan pertama kehidupan bayi maka diperlukan tambahan zat besi dari makanan seperti misalnya ekstrak daging ataupun bayam yang ditambahkan pada makanan setengah padat, zat besi yang ditambahkan pada susu formula dan lain sebagainya (Hallberg, 1988). Upaya untuk mengatasi masalah anemi gizi besi tersebut dilakukan pula melalui peningkatan jumlah dan kualitas zat besi misalnya dengan memberikan pil besi yang mengandung ferro fumarat, ferro glukonat ataupun ferro sulfat pada ibu hamil maupun tenaga kerja wanita dan juga dengan penambahan makanan yang mengandung vitamin C, untuk meningkatkan absorpsi zat besi serta fortifikasi zat besi pada susu formula bayi, tetapi hal ini dirasakan masih terlalu mahal dan agak sulit terjangkau oleh sebagian besar masyarakat.

Availabilitas zat besi dipengaruhi pula oleh mudah tidaknya zat besi larut dalam cairan pencernaan makanan. Zat besi yang bersifat larut akan mudah diserap dibandingkan yang kurang larut. Dengan demikian sumber zat besi menentukan availabilitas zat besi tersebut. Susu formula bayi merupakan salah satu alternatif untuk memenuhi kebutuhan zat besi. Penambahan zat besi pada susu formula selain mempengaruhi sifat organoleptiknya juga dapat meningkatkan status zat besi pada bayi. Berbagai sumber zat besi baik dalam bentuk organik maupun anorganik dapat digunakan, tetapi perlu diketahui pula bagaimana availabilitas zat besi tersebut.

Laktoferrin merupakan zat besi yang berikatan dengan glikoprotein dari famili transferin yang secara jelas ditemukan pada kolustrum dan ASI mamalia (Teraguchi et al.,1994). Fungsi laktoferrin antara lain sebagai penghambat bakteri patogen antara lain *Escherichia coli* yang hidupnya tergantung pada zat besi yang ada dalam saluran pencernaan dan sebagai pensuplai zat besi organik (Nagasako et al.,1993). Laktoferrin meskipun harganya sangat mahal digunakan pula sebagai sumber zat besi pada susu formula, dengan maksud agar dapat menghambat perkembangan bakteri patogen sehingga bayi yang mengkonsumsi susu formula tersebut tidak mengalami diare.

Zat besi yang merupakan logam transisi berperan sebagai katalisator pada reaksi oksidasi. Oksidasi terjadi di dalam tubuh. Salah satu hasil oksidasi adalah terbentuknya radikal bebas superoksida. Dengan adanya zat besi bebas, akan mendorong pembentukan radikal bebas hidroksil yang bersifat reaktif dan mengakibatkan kerusakan pada asam lemak, protein ataupun DNA. Oksidasi pada asam lemak tidak jenuh akan menghasilkan senyawa beracun antara lain malondialdehide (MDA).

Sampai saat ini penelitian-penelitian mengenai potensi laktoferrin sebagai sumber zat besi organik yang

dapat mencegah perkembangan bakteri patogen maupun availabilitas serta perannya dalam proses oksidasi belum banyak dilakukan. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian bagaimana efek laktoferrin yang ditambahkan pada susu formula terhadap availabilitas zat besi dan pertumbuhan bakteri patogen terutama *Escherichia coli* sangat penting dilakukan sehingga konsumen tidak hanya membeli susu formula yang mahal tetapi juga bermanfaat.

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi availabilitas zat besi laktoferrin, mengkaji peran laktoferrin terhadap oksidasi lemak dalam tubuh dan mempelajari pengaruh laktoferrin terhadap peningkatan *Escherichia coli*.

METODOLOGI

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan untuk penelitian antara lain laktoferrin, susu formula untuk induk tikus (ibu hamil dan menyusui) dan anak tikus (codex alimentarius) yang dibuat di PT Sari Husada Yogyakarta, komposisinya dapat dilihat pada Tabel 1 dan 2. Bahan kimia untuk analisis dengan kualitas pro analysis (Sigma, E-Merck) diperoleh dari toko bahan kimia di Yogyakarta, pakan yang mengacu pada AIN 1993 (AIN-93 G), komposisinya terdiri dari tepung jagung, kasein, dekstrin tepung jagung, sukrosa, minyak kedele, serat, campuran mineral (AIN-93 G-MX), campuran vitamin (AIN-93-VX), L-sistin, kolin bitartrat, tert-butilhidroquinon. Sedangkan tikus percobaan yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jenis Wistar yang diperoleh dari Laboratorium Unit Pengembangan Hewan Percobaan (UPHP) UGM,

Alat yang digunakan untuk penelitian antara lain spektrofotometer (DR/2000 Hach), AAS (Parkin Elmer tipe A-200S), muffle fumace (Heraeus D-6450 Hanau tipe M-r(110), sentrifuse (Heraeus Sepatech biofuge 15).

Tabel 1 . Komposisi Susu Formula Untuk Induk Tikus (per 100 g susu bubuk)

Komposisi	Jumlah	Komposisi	Jumlah
Protein	15 g	Niasin amida	12 mg
Lemak	13 g	Asam folat	833 mig
Karbohidrat	64 g	Kholine	130 mg
Air	3 g	Inositol	-
Energi	520 kkal	Ca	670 mg
Vitamin A	3000 IU	P	407 mg
Vitamin B1	1100 mig	Na	232 mg
Vitamin B2	1400 mig	K	613 mg
Vitamin B6	1600 mig	Mg	108 mg
Vitamin B12	2,7 mig	Cl	625 mg
Vitamin C	250 mg	Fe	25 mg
Vitamin D3	600 IU	Zn	37 mg
Vitamin E	10 IU	I	117 mig

Sumber : PT. Sari Husada

Tabel 2 . Komposisi Susu Formula Untuk Anak Tikus (per 100 g susu bubuk)

Komposisi	Jumlah	Komposisi	Jumlah
Protein	12 g	Asam folat	40 mig
Lemak	28 g	Kholine	26 mg
Karbohidrat	55 g	Inositol	30 mg
Ash	2 g	Ca	350 mg
Air	3 g	P	200 mg
Energi	520 kkal	Na	150 mg
Vitamin A	2000 IU	K	450 mg
Vitamin B1	500 mig	Mg	60 mg
Vitamin B2	800 mig	Cl	300 mg
Vitamin B6	350 mig	Zn	3 mg
Vitamin B12	1 mig	I	50 mig
Vitamin C	50 mg	Cu	300 mig
Vitamin D3	3,0 IU	Mn	100 mig
Vitamin E	7,0 IU	Taurin	38 mg
Vitamin H	10 mig	Laktulosa	510 mg
Vitamin K1	40 mig	Laktoferin	45 mg
Niasin amida	7 mg	Fe	6 mg
Ca pantotenat	2 mg	(FeSO ₄ 7H ₂ O)	

Sumber : PT. Sari Husada

Keterangan :

Secara umum komposisi susu formula untuk semua perlakuan sama, hanya berbeda pada sumber zat besi.

Cara Penelitian dan Analisis

Penelitian ini diawali dengan adaptasi pakan tikus (AIN-93 G) selama seminggu pada 10 ekor calon induk tikus, kemudian dikawinkan dan apabila sudah dinyatakan hamil diberi susu formula untuk induk hamil secara paksa (*force feeding*) sebanyak 4 ml perhari diberikan 2 kali, selama 20-22 hari. Setelah anak tikus lahir, dilakukan penimbangan berat badan tiap hari, pada hari ke 6 dipilih secara acak 5 anak tikus dengan berat 9-10 g dan dibagi kelompok tiap perlakuan terdiri dari 2 ekor induk tikus dan 10 ekor anak tikus. Setiap kelompok diberi susu yang berbeda berturut-turut adalah kelompok FEAN diberi ASI induk tikus secara tak terbatas/*ad libitum* dan susu formula dengan FeSO₄ 7H₂O sebagai sumber zat besi anorganik, kelompok FEOR diberi ASI induk tikus secara tak terbatas/*ad libitum* dan susu formula dengan laktoferin sebagai sumber zat besi organik, kelompok FECAMP diberi ASI induk tikus secara tak terbatas/*ad libitum* dan susu formula dengan campuran FeSO₄ 7H₂O dan laktoferin sebagai sumber zat besi anorganik dan organik, kelompok KONTROL diberi ASI induk tikus secara tak terbatas/*ad libitum* dan susu formula tanpa penambahan zat besi, dan kelompok PLACEBO diberi ASI induk tikus secara tak terbatas/*ad libitum* dan tambahan air.

Pemberian susu formula dilakukan sampai umur 21 hari (usia sapih) tetapi karena adanya alasan teknis maka usia sapih dianggap 30 hari, pemberian susu secara paksa

(*force feeding*) sebanyak 0,1-0,4 ml, 2 kali perhari. Pada akhir perlakuan semua anak tikus diambil darahnya melalui mata (*retroorbital plexus*) dengan tabung mikro hematokrit, selanjutnya dilakukan pembedahan anak tikus untuk diambil hati dan ususnya.

Analisis

Penentuan kadar hemoglobin dalam darah anak tikus menggunakan kit tes fotometrik (3317 Merckotest No.kit 1. 03317.0001), absorbansi dibaca pada λ 525 nm. Dan penghitungan konsentrasi Hb = absorbansi x 36,6 g Hb/dl. Penentuan total zat besi serum dan hati menggunakan metode Astuti (1992), supematn serta homogenat dibaca pada AAS λ 525 nm. Penentuan MDA (Malonaldehyde)/TBARS (Thiobarbituric Acid Reactive Substance) serum dan hati menggunakan metode Raharjo (1992) absorbansi dibaca pada λ 525 nm, sedangkan untuk identifikasi *Escherichia coli* dalam usus tikus menggunakan media EMB (Eosin Methylene Blue) sebagai medium selektif *E. coli* (Wibowo dan Ristanto, 1987/1988).

Rancangan Percobaan :

Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan (FEAN, FEOR, FECAMP, KONTROL dan PLACEBO) dan 10 ulangan. Kemudian data yang diperoleh dianalisis dengan ANOVA satu arah dan uji lanjut BNT

(Beda Nyata Terkecil) pada tingkat kepercayaan 95 % (Gasperez, 1991).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kadar Hemoglobin Dalam Darah Anak Tikus

Hasil analisis kadar hemoglobin dalam darah (Tabel 3) menunjukkan bahwa kadar hemoglobin pada perlakuan dengan pemberian susu formula dengan penambahan zat besi anorganik dan organik (FECAMP) tertinggi dibandingkan dengan perlakuan yang lain dan berbeda sangat nyata dengan plasebo ($p > 0,05$) dan pemberian susu formula tanpa zat besi/kontrol ($p > 0,05$). Untuk perlakuan pemberian susu formula dengan penambahan zat besi anorganik (FEAN), zat besi organik (FEOR) dan kontrol tidak berbeda nyata ($p < 0,05$).

Jika dilihat pada hasil tersebut kadar hemoglobin pada perlakuan dengan penambahan zat besi organik (FEOR) cenderung meningkat. Hal ini diperkuat dengan hasil penelitian pada anak sapi oleh Kume dan Tanabe (1994) yang menyatakan bahwa penambahan $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ dengan laktoferin mungkin lebih efektif dalam meningkatkan kadar hemoglobin pada anak sapi.

Tabel 3. Kadar Hemoglobin Dalam Darah Anak Tikus

Perlakuan	Kadar Hemoglobin* (g/dl)
FEAN	9,96 ab
FEOR	10,11 ab
FECAMP	10,30 a
Kontrol	9,77 b
Plasebo	8,84 c

Keterangan :

* Rata-rata dari sepuluh kali ulangan

** Huruf yang sama menunjukkan hasil tidak berbeda nyata ($p > 0,05$, uji BNT)

Jika dilihat pada hasil tersebut di atas bahwa kecenderungan kadar hemoglobin pada perlakuan dengan penambahan zat besi anorganik dan organik (FECAMP) mempunyai kadar hemoglobin yang tertinggi, kemudian diikuti oleh penambahan zat besi organik (FEOR) dan baru yang anorganik (FEAN). Hal ini menunjukkan bahwa suplementasi zat besi organik ternyata berpengaruh dalam peningkatan kadar hemoglobin dalam darah anak tikus. Hal ini didukung dengan hasil penelitian oleh Nagasako et al., (1993) yang menyatakan bahwa laktoferin merupakan regulator dalam absorpsi zat besi dan mempunyai bioavailabilitas yang tinggi. Tetapi hasilnya berbeda dengan hasil penelitian pada anak sapi oleh Kume dan Tanabe (1994) yang menyatakan bahwa dengan penambahan

laktoferin yang dijenuhi zat besi tidak menaikkan kadar hemoglobin dalam darah anak sapi, tetapi penambahan $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ dengan laktoferin mungkin lebih efektif dalam meningkatkan hemoglobin pada anak sapi (Kume dan Tanabe, 1996). Fenomena tersebut mungkin disebabkan oleh laktoferin yang mengikat zat besi pada sisi yang satu sedangkan sisi yang lain bertindak sebagai pengikat (chelate), sehingga mengakibatkan meningkatnya absorpsi zat besi dari usus ke hemoglobin darah (Nagasako, et al. 1993).

Hemoglobin induk tikus pada akhir penelitian rata-rata adalah 10,12 g/dl, hal ini menunjukkan bahwa hemoglobin induk tikus lebih rendah daripada hemoglobin normal yaitu 14,8 g/dl (Anonim, 1990,1991) atau antara 15,6 g/dl (Farris dan Griffith. 1962). Dan hal ini akan menyebabkan hemoglobin anak tikus menjadi lebih rendah (anemi) dari hemoglobin normal.

Tabel 4. Kadar Total Zat Besi Pada Serum dan Hati Anak Tikus

Perlakuan	Total Zat Besi Serum* (ppm)	Total Zat Besi Hati* (ppm)
FEAN	5,87 a	60,19 b
FEOR	6,21 a	83,38 a
FECAMP	6,35 a	101,30 a
Kontrol	5,84 a	59,92 b
Plasebo	5,94 a	58,10 b

Keterangan :

* Rata-rata dari sepuluh kali ulangan

** Huruf yang sama menunjukkan hasil tidak berbeda nyata ($p > 0,05$, uji BNT)

Artinya bahwa suplementasi laktoferin berfungsi untuk menstabilkan kandungan zat besi anorganik yang terdapat dalam serum, pendapat ini dikemukakan oleh Nagasako et al., (1993) yang juga mengatakan bahwa zat besi fero mudah diubah bentuk feri yang tak terlarut, tetapi kelarutan zat besi fero dapat distabilkan oleh laktoferin, dan aktivitas mengikat zat besi laktoferin yang sangat besar mungkin berhubungan dengan peranan laktoferin dalam absorpsi zat besi. Hal yang senada juga diungkapkan oleh Kawakami et al., (1993).

Menurut Farris dan Griffith (1962), anak tikus mempunyai hemoglobin 75 % dari hemoglobin tikus dewasa, berarti bahwa rata-rata hemoglobin pada anak tikus yang terdapat pada Tabel 2 tersebut yang seharusnya mempunyai nilai hemoglobin rata-rata 11,1 - 11,7 g/dl.

Kadar Total Zat Besi Pada Serum dan Hati Anak Tikus

Hasil perhitungan kadar total zat besi pada serum anak tikus menunjukkan bahwa semua perlakuan tidak beda nyata. Namun demikian apabila dilihat kecenderungannya pada perlakuan dengan pemberian susu formula dengan penambahan zat besi anorganik dan organik (FECAMP) menunjukkan nilai tertinggi dari perlakuan yang lain yaitu sebesar 6,35 ppm.

Mekanisme laktoferin untuk meningkatkan absorpsi zat besi yang bertanggung jawab terhadap peningkatan absorpsi zat besi pada anak sapi belum diketahui dengan jelas, kecuali laktoferin yang dijenjuri zat besi kemungkinan akan mengikat zat besi pada sisi yang satu sedangkan sisi yang lain bertindak sebagai pengikat (*chelate*) dan meningkatkan absorpsi zat besi dari usus ke hemoglobin darah daripada yang disimpan dalam jaringan (Nagasako et al., 1993).

Penentuan kadar total zat besi pada hati anak tikus dilakukan untuk mengetahui seberapa besar zat besi yang tersimpan di dalam hati. Hasil analisis kadar total zat besi pada hati yang disajikan pada Tabel 4 menunjukkan bahwa perlakuan dengan pemberian susu formula dengan penambahan zat besi anorganik dan organik (FECAMP) dan penambahan zat besi organik (FEOR) menunjukkan berbeda sangat nyata dengan perlakuan yang lain ($p>0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan dengan penambahan laktoferin ternyata akan mempengaruhi zat besi yang tersimpan dalam hati.

Hasil TBARS Pada Serum dan Hati Anak Tikus

Penentuan TBARS dimaksudkan untuk mengetahui sejauh mana suplementasi laktoferin dapat menghambat terjadinya oksidasi lemak. Tabel 5 menyajikan hasil analisis TBARS pada serum dan hati anak tikus.

Tabel 5. Hasil TBARS Pada Serum dan Hati Anak Tikus

Perlakuan	TBARS Serum * ($\mu\text{mol/l}$)	TBARS Hati * ($\mu\text{mol/l}$)
FEAN	318,76 a	2952,34 a
FEOR	274,51 b	2748,79 b
FECAMP	284,66 b	2815,28 ab
Kontrol	259,62 c	2729,31 b
Plasebo	265,01 bc	2639,76 b

Keterangan :

* Rata-rata dari sepuluh kali ulangan

** Huruf yang sama menunjukkan hasil tidak berbeda nyata ($p>0,05$, uji BNT)

Dari Tabel 5 dapat dikemukakan bahwa perlakuan dengan pemberian susu formula penambahan zat besi

anorganik (FEAN) mempunyai nilai yang tertinggi dibandingkan dengan semua perlakuan dan berbeda sangat nyata ($p>0,05$). Sedangkan perlakuan dengan penambahan zat besi organik (FEOR) dan campuran zat besi anorganik dan organik (FECAMP) serta plasebo tidak berbeda nyata, untuk plasebo dan tanpa penambahan zat besi/kontrol juga tidak berbeda nyata ($p<0,05$).

Zat besi anorganik berfungsi sebagai katalisator dalam proses oksidasi lemak. Dalam penelitian ini penambahan zat besi anorganik ternyata menyebabkan meningkatnya nilai TBARS dalam serum. Fungsi zat besi sebagai katalisator oksidasi lemak dapat dihambat dengan cara melepaskan katalis logam dari lemak selama tahap permulaan proses oksidasi dan menambahkan zat penghambat yang kuat (*strong free radical inhibitor*) ke dalam sistem autooksidasi yang akan dapat menekan tahap reaksi propagasi dan mencegah oksidasi lebih lanjut (Ketaren, 1986). Pengaruh suplementasi laktoferin dalam penelitian ini ternyata dapat menghambat terjadinya proses oksidasi lemak. Dimana zat besi organik bertindak sebagai antioksidan dan diperkuat dengan pendapat Nagasako et al., (1993), yang mengatakan bahwa sifat-sifat fungsional laktoferin dihubungkan dengan aktivitas mengikat zat besi. Penggunaan laktoferin memungkinkan untuk mencegah proses yang dikatalisir oleh zat besi seperti pembentukan radikal bebas (hidroksil) dan peroksidasi lemak. Laktoferin dapat mengikat zat besi pada satu sisi, sedangkan yang lain dapat mengikat (*chelate*) kemungkinan pada permukaan molekul laktoferin. Aktivitas pengikatan zat besi yang sangat tinggi dari laktoferin secara fisiologis sangat berperan dalam absorpsi zat besi. Bioavailabilitas zat besi anorganik sangat tinggi tetapi bersifat sangat mudah dioksidasi dan diubah ke bentuk yang tidak larut (Nagasako et al., 1993).

Dari Tabel 5 dapat dilihat hasil analisis TBARS pada hati yang menunjukkan bahwa perlakuan dengan penambahan zat besi anorganik (FEAN) tidak berbeda nyata dengan penambahan zat besi anorganik dan organik/FECAMP ($p<0,05$) tetapi berbeda nyata dengan perlakuan yang lain. Perlakuan dengan penambahan zat besi anorganik dan organik (FECAMP) juga tidak berbeda nyata dengan perlakuan kontrol dan plasebo ($p<0,05$).

Total *Escherichia coli* Pada Usus Anak Tikus

E. coli merupakan bakteri patogen yang sangat membahayakan, biasanya terdapat pada saluran pencernaan. Dengan penelitian suplementasi laktoferin ini diharapkan *E. coli* yang terdapat pada usus tikus dapat ditekan. Untuk mengetahui seberapa besar *E. coli* dapat ditekan, dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Total *Escherichia coli* Pada Usus Anak Tikus

Perlakuan	Total <i>E. coli</i> * (10 ⁷ cfu)
FEAN	7,5 a
FEOR	1,7 d
FECAMP	6,9 ab
Kontrol	1,9 c
Plasebo	2,9 b

Keterangan :

* Rata-rata dari sepuluh kali ulangan

** Huruf yang sama menunjukkan hasil tidak berbeda nyata (p>0.05, uji BNT)

Tabel 6 menunjukkan bahwa perlakuan dengan penambahan zat besi anorganik (FEAN) mempunyai rata-rata *E. coli* yang tertinggi dibandingkan dengan semua perlakuan. Perlakuan dengan penambahan zat besi anorganik (FEAN) tidak berbeda nyata dengan perlakuan dengan penambahan zat besi anorganik dan organik (FECAMP), tetapi berbeda nyata dengan perlakuan dengan penambahan zat besi organik (FEOR), perlakuan tanpa zat besi (kontrol) dan plasebo (p>0,05).

Penggunaan laktoferin dalam penelitian ini ternyata mampu menekan pertumbuhan *E. coli* dalam usus. Menurut Teraguchi et al., (1994) mengatakan bahwa apolaktoferin dapat menghambat pertumbuhan *E. coli* secara *in vitro* dengan mekanisme pengasingan zat besi dengan kemampuan mengikat zat besi yang kuat, sehingga membuat lingkungan yang defisien zat besi untuk semua bakteri yang memerlukan zat besi untuk pertumbuhannya. Sedangkan menurut Arnold et al., (1980) mengatakan bahwa hubungan secara langsung antara laktoferin dan permukaan bakteri, mengindikasikan bahwa laktoferin dapat merusakkan membran bagian luar dari bakteri Gram Negatif sehingga menyebabkan terlepasnya lipopolisakarida dari sel bakteri, dengan cara demikian sensitifitas sel berfungsi sebagai antibiotik (Dionysius et al., 1993).

KESIMPULAN

Hasil penelitian secara *in vivo*, menunjukkan bahwa suplementasi laktoferin pada susu formula bayi dalam bentuk FECAMP paling efektif dalam meningkatkan kadar hemoglobin (10,3 g/dl), serta total zat besi pada serum (6,35 ppm) dan hati (101,3 ppm). Suplementasi laktoferin pada susu formula dalam bentuk FEOR yang lebih efektif untuk menurunkan oksidasi lemak pada serum dan hati serta total *Escherichia coli* dengan nilai masing-masing 274,51 µmol/l, 2748,79 µmol/l dan 1,7 x 10⁷ cfu.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada PT. Sari Husada Yogyakarta atas bantuan bahan laktoferin dan susu formulanya.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 1995.** Survei Kesehatan Rumah Tangga 1992. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Jakarta.
- _____ . **1990 - 1991.** Animal Research Diets. ICN Biomedicals, Inc.
- Arnold, R.R., Brewer, M., Gauthier, J. 1980.** Bactericidal activity of human lactoferrin : Sensitivity of a variety of microorganism. *Infect. Immun.* 28 : 893 - 898.
- Astuti, M. 1992.** Iron Bioavailability in Traditional Indonesia Soybean Tempeh. Disertasi. Tokyo University of Agriculture.
- Codex Alimentarius Commission. 1976.** Recommended International Standard for Foods for Infants and Children. CAC/RS 72/74. Food and Agriculture Organization. Rome.
- Dionysius, A.D., Grieve, P.A., dan Milne, J.M. 1993.** Forms of lactoferrin : Their antibacterial effect on enterotoxigenic *E. coli*. *J. Dairy Sci.* 76 : 2597-2606.
- Farris, E.J. dan Griffith, J.Q. 1962.** The Rat in the Laboratory Investigation (2nd. ed.). Hafner Publishing Company. New York.
- Gaspersz, V. 1991.** Metoda Perancangan Percobaan. Amico. Bandung.
- Hallberg, L. 1984.** Iron dalam Present Knowledge in Nutrition. 5 th ed. The Nutrition Foundation c.
- Husaini dan Karyadi, D. 1982.** Anemi Gizi. Dep. Kes. RI. Jakarta.
- Kawakami, H., Shinmoto, H., Dosoko, S., dan Sogo, Y. 1987.** One step isolation of lactoferrin using immobilized monoklonal antibodies. *J. Dairy sci.* 70: 752-759.
- Kendrick, M.J., May, M.T., Plishka, M.J., Robinson, K.D. 1992.** Metals in Biological Systems. Ellis Harwood Limited. England.
- Kume, S.I. dan Tanabe, S. 1994.** Effects of twinning and supplemental iron- saturated lactoferrin on iron status of Newborn Calves. *J. Dairy Sci.* 77 : 3118 - 3123.

- _____.1996. Effects of Supplemental lactoferrin with ferrous iron on iron status of newborn calves. *J.Dairy Sci.* 79 : 459 – 464.
- Nagasako,Y., Saito,H., Tamura,Y., Shimamura,S., dan Tomita,M.** 1993. iron binding properties of bovine lactoferrin in Iron rich solution. *J.Dairy Sci.* 76: 1876-1881.
- Raharjo,S., Safos,J.N. dan Scmidt,G.R.** 1992. A Modified Thiobarbituric Acid C18 (TBA-C18) Method for measuring lipid peroxidation in meat. 38 th International Congress of Meat Science and Technologi. Proceeding Vol.3.p 571-574.
- Sutaryo.** 1987. Anemi Gizi. Hand Out : Kursus Singkat Penyakit Kronik Tertentu Akibat Kesalahan (kekurangan) Gizi. PAU Pangan dan Gizi UGM Yogyakarta
- Teraguchi,S., Ozawa,K., Yasuda,S., Shin,K., Fukuwatari,Y., dan Shimamura,S.** 1994. The bacteriostatic effects of orally administered bovine lactoferrin on intestinal interobacteriaceae of SPF mice fed bovine Milk. *Biosci. Bioth. Biochem.* 58: (3) 482 –487.