

# EVALUASI POTENSI KECAP MANIS SEBAGAI PEMBAWA FORTIFIKAN NaFeEDTA: TINJAUAN PENGARUH ASUPAN KECAP KEDELAI MANIS HASIL FORTIFIKASI TERHADAP PENINGKATAN BIOAVAILABILITAS ZAT BESI FORTIFIKAN

Potency of Sweet Soy Sauce as Vehicle for NaFeEDTA Fortificant: Effect of Fortified Sweet Soy Sauce Intake on Iron Bioavailability of Fortificant

Sri Naruki, Mary Astuti, Yustinus Marsono, Sri Raharjo

Jurusan Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian,  
Universitas Gadjah Mada, Jl. Flora, Bulaksumur, Yogyakarta 55281  
Email: srinaruki@yahoo.com

## ABSTRAK

Pengaruh kecap manis sebagai makanan pembawa terhadap peningkatan bioavailabilitas zat besi fortifikan NaFeEDTA, dievaluasi secara *in vivo*, untuk mengetahui potensi kecap manis sebagai pembawa fortifikan tersebut. Bioavailabilitas ditentukan pada tikus Sprague-Dawley, menggunakan metoda deplesi-repleksi hemoglobin. Selama periode repleksi, tikus yang sebelumnya dibuat anemia, diberi asupan NaFeEDTA (0,35 mg Fe/ekor/hari) sebagai sumber zat besi tunggal selama 14 hari, dengan kecap sebagai pembawa fortifikan. Volume asupan kecap bervariasi, dari 0,0 sampai dengan 0,7 mL kecap/ekor/hari. Sebagai pembanding, digunakan sumber zat besi berupa fortifikan standar  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (0,35 mg Fe/hari) dengan  $\text{H}_2\text{O}$  sebagai pembawa. Bioavailabilitas zat besi dinyatakan sebagai nilai hemoglobin regeneration efficiency (HRE). Volume asupan kecap yang menghasilkan bioavailabilitas yang sama dengan standar  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , digunakan dalam percobaan selanjutnya. Percobaan selanjutnya dilakukan untuk mengevaluasi bioavailabilitas zat besi NaFeEDTA dengan dosis asupan yang bervariasi (dari 0,175 sampai dengan 1,40 mg Fe/ekor/hari), namun dengan volume pembawa yang tetap (0,2 mL/ekor/hari). Pembawa berupa kecap manis atau  $\text{H}_2\text{O}$ , sebagai kontrol. Sebagai standar, dipakai  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (0,35 mg Fe/ekor/hari), dengan  $\text{H}_2\text{O}$  sebagai pembawa. Bioavailabilitas zat besi ditentukan dengan metoda deplesi-repleksi hemoglobin dan dinyatakan sebagai nilai HRE, absorpsi, dan retensi zat besi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kecap kedelai manis terbukti potensial sebagai pembawa fortifikan NaFeEDTA. Asupan 0,2 mL kecap manis/ekor/hari dapat menghasilkan HRE zat besi fortifikan NaFeEDTA yang sama besar dengan HRE fortifikan standar. Dibanding dengan kontrol ( $\text{H}_2\text{O}$ ), kecap sebagai makanan pembawa mampu menghasilkan HRE, absorpsi, dan retensi zat besi yang lebih besar. Sementara itu, asupan NaFeEDTA yang makin meningkat dapat menurunkan HRE, A/I, dan R/I yang diperoleh.

**Kata kunci:** Bioavailabilitas, NaFeEDTA, hemoglobin regeneration efficiency, absorpsi, asupan, retensi

## ABSTRACT

In order to investigate potency of sweet soy sauce as vehicle for NaFeEDTA fortificant, the effect of sweet soy sauce intake on iron bioavailability of NaFeEDTA, was *in vivo* evaluated. The bioavailability was determined in Spague-Dawley rats using hemoglobin depletion-repletion method. Rats were iron depleted by feeding them iron-free diet. During the repletion period, iron-depleted rats were fed NaFeEDTA (0.35 mg Fe/day) for their iron source of diet, with sweet soy sauce as fortification vehicle. Volume of soy sauce intake was varied from 0.0 to 0.7 mL/day.  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (0.35 mg Fe/day, with  $\text{H}_2\text{O}$  as vehicle) was used as reference standard. The bioavailability of iron was expressed as hemoglobin regeneration efficiency (HRE). The volume of soy sauce intake which resulted in good bioavailability was used for further study. The further study was done to evaluate the iron bioavailability of NaFeEDTA (dosage was varied from 0.175 to 1.4 mg Fe/day) with fixed volume of the fortification vehicle intake (0.2 mL/day). Sweet soy sauce and  $\text{H}_2\text{O}$  were used as fortification vehicle, while  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (0.35 mg Fe/day, with  $\text{H}_2\text{O}$  as vehicle) was used as reference standard of fortificant. The data showed that sweet soy sauce has a good potency as fortification vehicle

for NaFeEDTA. Intake of 0.2 mL of sweet soy sauce/day resulted in HRE of NaFeEDTA as high as HRE of standard  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ . Furthermore, in compare with  $\text{H}_2\text{O}$  vehicle, the soy sauce resulted for higher HRE, higher iron absorption, and higher iron retention, as well. It was found that increased intake of NaFeEDTA made HRE of NaFeEDTA, % A/I, and % R/I decreased.

**Keywords:** Bioavailability, NaFeEDTA, hemoglobin regeneration efficiency, absorption, intake, retention

## PENDAHULUAN

Defisiensi zat besi merupakan masalah defisiensi gizi yang banyak dijumpai di dunia, termasuk Indonesia (Hernandez dkk., 2003; Anonim, 2004). Kelompok yang rentan terhadap defisiensi zat besi antara lain adalah anak-anak, wanita hamil, dan wanita usia subur (berumur antara 15 sampai 44 tahun). Dalam skala dunia, Wieringa dkk. (2007) menyatakan bahwa lebih dari 3 juta penduduk dunia menderita defisiensi zat besi. Sementara itu, data dari World Health Organization (WHO) menunjukkan bahwa di negara berkembang, anemia gizi besi (AGB) dijumpai pada lebih dari 50 % wanita hamil (Anonim, 2007). Di Indonesia, 13,4 % anak usia 3-5 bulan yang belum disapih, menderita AGB; sedangkan pada anak usia kurang dari 24 bulan, dijumpai 55 % penderita AGB (Pee dkk, 2002; Untoro dkk., 2005; dan Atmarita, 2005). Pada wanita hamil dan wanita usia subur, penderita AGB mencapai berturut-turut 40 dan 27,9 % (Atmarita, 2005).

Salah satu tindakan yang dapat dilakukan untuk menanggulangi masalah tersebut adalah fortifikasi zat besi. Dalam fortifikasi selalu diperlukan makanan pembawa fortifikan (*fortification vehicle*). Kecap kedelai manis kemungkinan besar dapat berperan sebagai makanan pembawa yang potensial karena beberapa alasan, antara lain: (1) dikonsumsi secara meluas, (2) mengandung asam amino, yang beberapa di antaranya dapat meningkatkan absorpsi zat besi, (3) warna, citarasa, dan bentuknya yang cair dapat lebih memudahkan proses fortifikasi, dan (4) gula reduksi dan *Maillard Reaction Products* (MRP) yang kemungkinan terdapat dalam kecap dapat menciptakan suasana reduktif, yang dapat meningkatkan kelarutan zat besi (Yoshimura dkk., 1997).

Diet masyarakat Indonesia diketahui kaya akan bahan nabati (Latief dkk., 1998). Dalam bahan nabati banyak dijumpai senyawa penghambat absorpsi zat besi, antara lain senyawa fitat. Dengan zat besi, senyawa fitat dapat membentuk suatu kompleks yang stabil dan tidak larut sehingga mengakibatkan zat besi tidak dapat diabsorpsi. Untuk diet kaya bahan nabati tersebut, *ferric-sodium salt of ethylenetetraacetic acid* (NaFeEDTA) merupakan fortifikan yang tepat. EDTA diketahui dapat mencegah terjadinya ikatan zat besi dengan fitat dan inhibitor lainnya, untuk selanjutnya melepaskan zat besi ke transporter DMT1. Oleh karena itu, meskipun berada bersama-sama dengan senyawa inhibitor, NaFeEDTA tetap memiliki bioavailabilitas zat besi yang tinggi (Heimbach dkk., 2000; Lynch, 2002).

Bioavailabilitas zat besi adalah persentase zat besi dalam diet yang dapat diabsorpsi dan dimanfaatkan oleh tubuh untuk keperluan fisiologis. Secara *in vivo*, bioavailabilitas zat besi dapat diketahui melalui penentuan *hemoglobin regeneration efficiency* (HRE) dan neraca zat besi (Navarro dkk., 2000; Hernandez dkk., 2003).

Guna mengungkap potensi kecap manis sebagai makanan pembawa bagi fortifikan NaFeEDTA, dilakukan penelitian tentang pengaruh penggunaan kecap sebagai makanan pembawa terhadap peningkatan bioavailabilitas zat besi dari NaFeEDTA; baik dengan dosis asupan NaFeEDTA yang tetap dan volume asupan kecap yang bervariasi, maupun dengan dosis asupan NaFeEDTA yang bervariasi dan volume asupan kecap manis yang tetap.

## METODE PENELITIAN

### Bahan

Kecap manis komersial, yang dibuat dengan bahan dasar kedelai hitam (*Glicine max* L.) dan gula kelapa, diperoleh dari toko swalayan di Yogyakarta. NaFeEDTA yang digunakan diperoleh dari Akzo Nobel CNF, Jakarta, sedangkan  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  dan larutan standar hemoglobin syanida diperoleh dari MERCK. Bahan kimiawi untuk analisis kadar hemoglobin darah, yaitu larutan potassium hexasyanoferrat (III) dan larutan potassium syanida, diperoleh dari Merkotest. Hewan percobaan, yaitu tikus *Sprague Dawley* jantan berumur sekitar 21 hari, diperoleh dari Unit Pemeliharaan Hewan Percobaan (UPHP) Fakultas Kedokteran Hewan UGM (untuk penelitian awal) dan Balai POM Jakarta (untuk penelitian lanjutan).

### Metoda Depleksi-Repleksi Hemoglobin

Metoda depleksi-repleksi hemoglobin digunakan dalam penentuan bioavailabilitas zat besi. Pada percobaan awal, 54 ekor tikus *Sprague-Dawley* jantan (berumur sekitar 21 hari) diberi diet standar AIN-93G (Reeves dkk., 1993) selama 3 hari, untuk adaptasi. Selanjutnya, tikus dengan sengaja dibuat anemia melalui pemberian diet AIN-93G bebas zat besi, sampai dicapai kadar hemoglobin  $\leq 6$  g/dL (periode depleksi). Tikus anemia tersebut kemudian dibagi menjadi 9 kelompok @ 6 ekor dan dipelihara dalam kandang individual. Selama 14 hari periode repleksi, tikus diberi diet bebas zat besi ditambah

Fe dari fortifikan NaFeEDTA (0,35 mg Fe/ekor/hari), yang diberikan secara paksa (*force feeding*). Sebagai makanan pembawa, digunakan kecap manis, dengan variasi asupan berturut-turut 0,0; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; dan 0,7 mL kecap/ekor/hari. Sebagai standar, digunakan fortifikan FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O (0,35 mg Fe/ekor/hari) dengan H<sub>2</sub>O sebagai pembawa. Pada awal dan akhir periode replasi, dilakukan penentuan berat badan dan kadar hemoglobin darah. Volume asupan kecap yang menghasilkan bioavailabilitas sebaik FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, digunakan sebagai volume asupan kecap untuk percobaan selanjutnya.

Pada percobaan lanjutan, digunakan 81 ekor tikus *Sprague-Dawley* jantan, berumur sekitar 21 hari. Seperti pada percobaan sebelumnya, tikus juga menjalani masa adaptasi selama 3 hari. Tikus kemudian dibuat anemia (periode deplesi), dengan cara seperti pada percobaan sebelumnya. Tikus anemia tersebut selanjutnya dibagi menjadi 9 kelompok @ 9 ekor dan dipelihara dalam kandang individual. Selama 14 hari periode replasi, semua kelompok tikus diberi diet AIN-93G bebas zat besi (15 g/ekor/hari). Sebagai sumber zat besi, tikus kelompok 1 diberi asupan FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O (0,35 mg Fe/ekor/hari), dengan H<sub>2</sub>O sebagai pembawa (0,2 mL/ekor/hari). Kelompok 2, 3, 4, dan 5 masing-masing diberi asupan NaFeEDTA, dengan kecap manis (0,2 mL/ekor/hari) sebagai makanan pembawa. Dosis asupan zat besi bagi kelompok 2, 3, 4, dan 5 berturut-turut adalah 0,175; 0,35; 0,70; dan 1,40 mg Fe/ekor/hari. Sebagai kontrol, tikus kelompok 6, 7, 8, dan 9 masing-masing diberi asupan NaFeEDTA, dengan H<sub>2</sub>O (0,2 mL/ekor/hari) sebagai pembawa. Dosis asupan zat besi bagi kelompok 6, 7, 8, dan 9 berturut-turut adalah 0,175; 0,35; 0,70; dan 1,40 mg Fe/ekor/hari. Pemberian fortifikan dalam makanan pembawa dilakukan secara paksa. Pada 3 hari pertama periode replasi, dilakukan pengumpulan sisa pakan, feses, dan urin tikus untuk penentuan neraca zat besi. Pada awal dan akhir periode replasi, dilakukan penentuan berat badan dan kadar hemoglobin darah, untuk perhitungan HRE.

**Penentuan Bioavailabilitas Zat Besi**

Bioavailabilitas zat besi secara *in vivo* dinyatakan sebagai *hemoglobin regeneration efficiency* (HRE), sesuai dengan penelitian Hernandez dkk. (2003). Rumus yang digunakan untuk penentuan HRE adalah sebagai berikut:

$$\% \text{ HRE} = [\text{mg Fe Hb (akhir)} - \text{mg Fe Hb (awal)}] \times 100 / \text{mg konsumsi Fe}$$

Dalam hal ini, mg Fe Hb merupakan berat Fe yang terdapat dalam hemoglobin (disingkat Hb). Besarnya mg Fe Hb

di awal dan akhir periode replasi masing-masing ditampilkan dengan simbol mg Fe Hb (awal) dan mg Fe Hb (akhir).

Dalam menghitung berat Fe yang terdapat dalam hemoglobin (mg Fe Hb), terdapat dua asumsi yang diberlakukan, yaitu: (1) volume total darah adalah 6,7 % dari berat badan tikus dan (2) kadar rata-rata Fe hemoglobin adalah 0,335 %. Dengan demikian, mg Fe Hb dapat dihitung sebagai berikut:

$$\text{mg Fe Hb} = [\text{berat badan (g)} \times \text{Hb (g/L)} \times 6,7 \times 0,335] / 10.000 \text{ atau}$$

$$\text{mg Fe Hb} = [\text{berat badan (g)} \times \{0,1 \times \text{Hb (g/dL)}\} \times 6,7 \times 0,335] / 10.000$$

Selain HRE, bioavailabilitas zat besi juga ditentukan secara *in vivo* memakai neraca zat besi (“iron balance”), sesuai dengan penelitian Navarro dkk. (2000):

$$\text{Fe yang diabsorpsi (mg Fe)} = A = [\text{mg asupan Fe} - \text{mg Fe feses}]$$

$$\text{Absorpsi Fe (\% terhadap asupan Fe)} = A/I = [\text{mg absorpsi Fe} : \text{mg asupan Fe}] \times 100$$

$$\text{Retensi (mg Fe)} = R = \text{mg absorpsi Fe} - \text{mg ekskresi Fe melalui urin}$$

$$\text{Retensi (\% terhadap asupan Fe)} = R/I = [\text{retensi Fe} : \text{asupan Fe}] \times 100$$

Fe feses ditentukan berdasarkan berat feses selama 3 hari periode replasi x kadar Fe feses. Fe urin ditentukan dari volume urin selama 3 hari periode replasi x kadar Fe urin. Kadar Fe feses dan urin ditentukan dengan menggunakan *atomic absorption spectrophotometer* (AAS), masing-masing terhadap larutan abu feses dan larutan urin.

**Analisa Komposisi Asam Amino**

Komposisi asam amino kecap manis dianalisa dengan HPLC khusus deteksi *ninhidrin postcolumn reaction* menggunakan *high speed amino analyzer*.

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

Tabel 1 menunjukkan data berat badan dan kadar Hb tikus yang mendapat asupan NaFeEDTA (0,35 mg Fe/ekor/hari) dalam kecap manis, dengan volume kecap yang bervariasi. Sedangkan Tabel 2 menampilkan nilai HRE tikus tersebut. Dari data HRE dapat dikatakan bahwa asupan kecap manis sebesar ≥ 0,2 mL/ekor/hari sudah menghasilkan HRE NaFeEDTA yang sama dengan HRE standar FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O. Hal ini menunjukkan bahwa kecap manis mempunyai potensi sebagai pembawa bagi NaFeEDTA.

Tabel 1. Berat badan, kadar hemoglobin (Hb), dan kadar Fe hemoglobin tikus yang mengkonsumsi fortifikan NaFeEDTA dalam kecap, dengan volume kecap yang bervariasi

Fortifikan	Volume asupan kecap (mL/ekor/hari)	Berat badan (g)		Kadar Hb (g/dL)		Fe dalam Hb (mg)	
		Awal	Akhir	Awal	Akhir	Awal	Akhir
NaFeEDTA	0,0	57,5	71,8	5,82	12,50	0,75	2,02
	0,1	57,6	72,8	5,85	14,15	0,76	2,31
	0,2	66,7	81,4	5,83	14,36	0,87	2,63
	0,3	66,5	84,2	5,86	14,62	0,87	2,76
	0,4	63,4	80,7	5,86	14,91	0,83	2,70
	0,5	64,2	79,8	5,72	15,24	0,83	2,73
	0,6	63,8	78,5	5,77	15,60	0,83	2,75
	0,7	59,4	77,5	5,84	15,85	0,78	2,59
FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,0	58,1	76,0	5,77	15,77	0,75	2,68

Catatan: Arti awal dan akhir pada kolom berat badan, kadar Hb, dan Fe dalam Hb adalah awal dan akhir periode replasi

Tabel 2. HRE tikus yang mengkonsumsi fortifikan NaFeEDT1A dalam kecap, dengan volume asupan kecap yang bervariasi

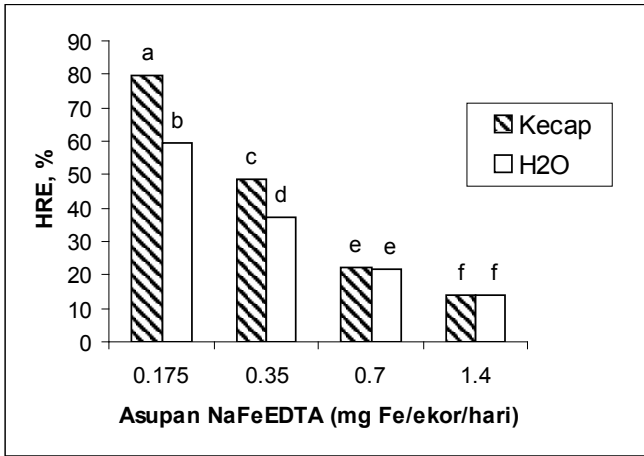
Fortifikan	Volume asupan (mL/ekor/hari)	HRE (%)
NaFeEDTA	0,0	25,81 <sup>c</sup>
	0,1	31,73 <sup>bc</sup>
	0,2	35,77 <sup>ab</sup>
	0,3	38,17 <sup>ab</sup>
	0,4	38,59 <sup>ab</sup>
	0,5	38,81 <sup>ab</sup>
	0,6	39,22 <sup>a</sup>
	0,7	40,34 <sup>a</sup>
FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,0	39,47 <sup>a</sup>

Catatan: Huruf yang berbeda dalam kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan nyata pada  $\alpha = 0,05$

Tabel 3 menunjukkan data berat badan dan kadar Hb tikus yang mendapat asupan NaFeEDTA dengan berat yang bervariasi, dengan kecap (0,2 mL/ekor/hari) sebagai makanan pembawa. Sedangkan Gambar 1 menampilkan nilai HRE tikus tersebut.

Tabel 3. Berat badan, hemoglobin (Hb), dan kadar Fe hemoglobin tikus, yang mengkonsumsi fortifikan dalam kecap atau H<sub>2</sub>O, pada awal dan akhir periode replasi

Pembawa	Fortifikan	Asupan (mg Fe/ekor/hari)	Berat badan (g)		Kadar Hb (g/dL)		Fe dalam Hb (mg)	
			Awal	Akhir	Awal	Akhir	Awal	Akhir
H <sub>2</sub> O	FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,35	111,4	163,7	5,69	10,46	1,43	3,85
		0,175	115,7	154,0	5,45	9,71	1,42	3,42
Kecap	NaFeEDTA	0,35	115,2	158,0	5,29	10,66	1,38	3,78
		0,70	124,8	148,7	5,84	10,40	1,66	3,83
		1,40	116,3	150,4	5,20	12,15	1,37	4,30
		0,175	106,7	142,4	5,23	8,48	1,27	2,73
H <sub>2</sub> O	NaFeEDTA	0,35	114,8	154,4	6,21	9,93	1,64	3,45
		0,70	124,4	164,4	6,25	10,45	1,72	3,83
		1,40	116,3	161,8	6,52	12,41	1,74	4,51



Gambar 1. HRE tikus yang mengonsumsi fortifikan NaFeEDTA dengan pembawa berupa kecap atau H<sub>2</sub>O (sebagai kontrol). Huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan nyata pada  $\alpha = 0,05$

Analisa statistik menunjukkan bahwa kecap mampu menaikkan nilai HRE tikus. Hal ini membuktikan bahwa kecap mempunyai potensi yang baik sebagai pembawa fortifikan NaFeEDTA. Yang memberikan kontribusi dalam peningkatan HRE tersebut kemungkinan adalah lisin dan histidin kecap dan sifat reduktif kecap. Berdasarkan analisa kimiawi yang dilakukan, kadar lisin dan histidin dalam kecap berturut-turut adalah 36,51 dan 15,44 mg/100 mL kecap. Menurut Kane dan Miller (1984), histidin dan lisin dapat membentuk suatu khelat tridentat dengan zat besi, sehingga dapat meningkatkan absorpsi zat besi melalui pencegahan terjadinya hidrolisis dan presipitasi zat besi di saluran pencernaan. Hidrolisis zat besi dari komponen organik diet berlangsung sebagai akibat dari suasana asam di lambung, sedangkan presipitasi dapat terjadi bila dalam diet terdapat senyawa inhibitor seperti fitat. Dengan fitat, zat besi akan membentuk kompleks yang tidak larut. Peningkatan absorpsi zat besi tentunya dapat menciptakan peluang yang lebih besar dalam pemanfaatan zat besi

diet untuk memenuhi kebutuhan fisiologis, termasuk sintesa hemoglobin darah.

Sifat reduktif kecap kemungkinan dapat berasal dari komponen gula reduksi dan MRP. Gula reduksi kemungkinan berasal dari gula kelapa yang ditambahkan selama proses pembuatan kecap. Sedangkan MRP kemungkinan besar terbentuk selama proses pemanasan moromi. Dalam pemanasan tersebut, kemungkinan terjadi reaksi Maillard antara komponen gula reduksi dan asam amino kecap, yang menghasilkan MRP. Peneliti lain membuktikan adanya sifat reduktif pada MRP, yang terbentuk dari pemanasan glukosa dan glisin. Sifat reduktif tersebut mencerminkan kemampuan MRP untuk mereduksi Fe<sup>3+</sup> dari K<sub>3</sub>(FeCN)<sub>6</sub> menjadi Fe<sup>2+</sup> (Yoshimura dkk., 1997). Beberapa pustaka menyatakan bahwa dibanding dengan Fe<sup>3+</sup>, Fe<sup>2+</sup> bersifat lebih larut sehingga berpeluang untuk diabsorpsi dengan lebih mudah (Guthrie, 1983; Burtis dkk., 1988; Brody, 1994; dan Lynch, 2002). Dengan demikian, gula reduksi dan MRP kecap tersebut kemungkinan dapat berpengaruh positif terhadap absorpsi zat besi.

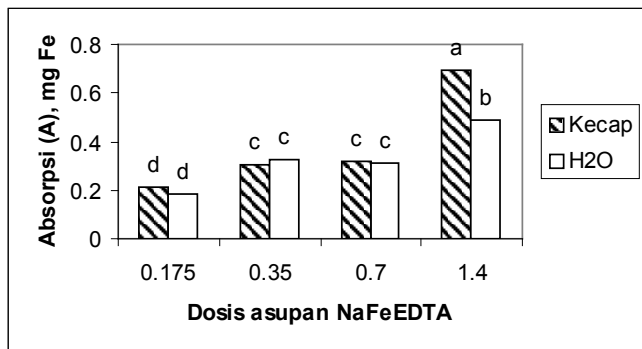
Gambar 1 menunjukkan bahwa asupan zat besi yang semakin tinggi justru menurunkan HRE. Kemungkinan penyebabnya ada dua hal. Pertama, adanya mekanisme pengendalian absorpsi zat besi oleh tubuh, yang membuat tubuh hanya mengabsorpsi zat besi sesuai dengan kebutuhan. Secara umum dapat dinyatakan bahwa pada tubuh yang memerlukan zat besi, asupan zat besi yang rendah akan diantisipasi dengan peningkatan absorpsi sebagai upaya tubuh untuk mencapai kondisi normal. Sebaliknya, asupan zat besi yang tinggi justru menyebabkan turunnya absorpsi secara proporsional; lebih-lebih bila tubuh tidak membutuhkan zat besi. Sebagai contoh, asupan sebesar 0,25 mg Fe/kg berat badan menghasilkan absorpsi sebesar 32 %; sedangkan asupan sebesar 4 mg Fe/kg berat badan hanya menghasilkan absorpsi sebesar 4,1 % (Guthrie, 1983). Hal ini sesuai dengan data A/I (Gambar 3). Kedua, di dalam tubuh, zat besi yang diabsorpsi tidak hanya dimanfaatkan

Tabel 4. Asupan Fe, kadar Fe feses dan urin tikus yang mengonsumsi fortifikan NaFeEDTA dengan kecap atau H<sub>2</sub>O sebagai pembawa

Pembawa	Fortifikan	Asupan Fe (mg Fe/ ekor/hari)	Asupan Fe (mg/3 hari)	Fe feses (mg/3 hari)	Fe urin (mg/3 hari)
H <sub>2</sub> O	FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0,35	1,05	0,7673	0,0454
		0,175	0,525	0,3120	0,0414
Kecap	NaFeEDTA	0,35	1,05	0,7467	0,1376
		0,70	2,10	1,7785	0,0965
		1,40	4,20	3,5056	0,0679
		0,175	0,525	0,3418	0,0527
H <sub>2</sub> O (kontrol)	NaFeEDTA	0,35	1,05	0,7233	0,0606
		0,70	2,10	1,7857	0,0576
		1,40	4,20	3,7141	0,0749
		0,175	0,525	0,3418	0,0527

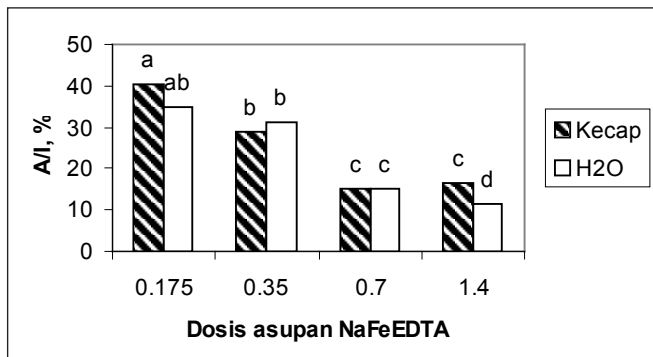
kan untuk sintesa hemoglobin, melainkan juga untuk keperluan lain seperti sintesa enzim, atau disimpan di organ hati. Beberapa enzim, misalnya akonitase, suksinat dehidrogenase, dan  $\Delta^9$ -desaturase, diketahui mengandung zat besi, sehingga memerlukan zat besi dalam sintesanya (Brody, 1994).

Data tentang asupan Fe, Fe feses, dan Fe urin dapat dilihat pada Tabel 4. Sedangkan neraca zat besi meliputi absorpsi, yang dinyatakan dalam mg Fe (disingkat A) dan % absorpsi terhadap asupan Fe (disingkat A/I); serta retensi (disingkat R) dan % retensi terhadap asupan Fe (disingkat R/I), dicantumkan pada Gambar 2, 3, 4, dan 5.

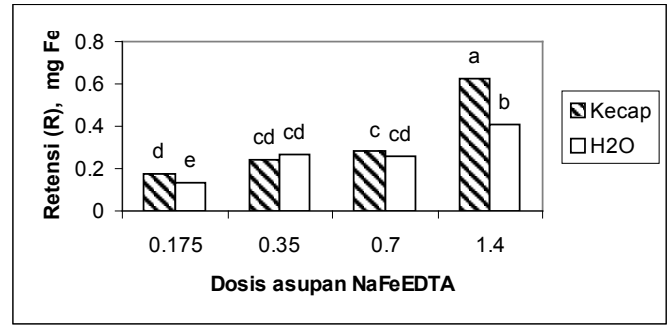


Gambar 2. Absorpsi zat besi (mg Fe) pada tikus mengkonsumsi fortifikan NaFeEDTA, dengan pembawa berupa kecap atau H<sub>2</sub>O (sebagai kontrol). Huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan nyata pada  $\alpha = 0,05$

Hasil analisa statistik menunjukkan bahwa kecap dapat meningkatkan absorpsi zat besi, baik secara kuantitatif maupun proporsional (Gambar 2 dan 3). Kecap juga dapat meningkatkan retensi zat besi secara kuantitatif (Gambar 4), meskipun tidak diikuti dengan peningkatan retensi secara proporsional atau R/I (Gambar 5). Dalam hal ini, yang memberikan kontribusi kemungkinan besar adalah histidin dan lisin kecap serta MRP dan daya reduktif kecap, yang memungkinkan zat besi diabsorpsi dengan lebih baik.

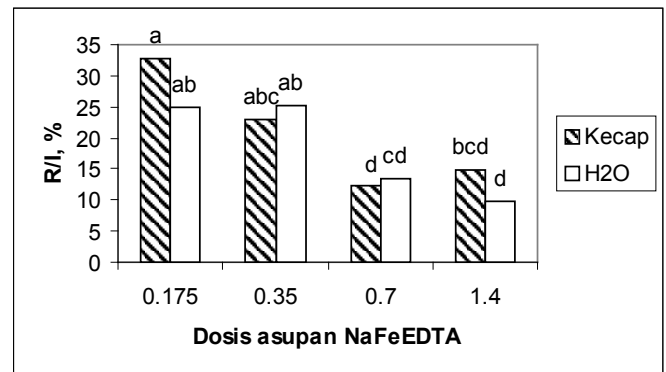


Gambar 3. Absorpsi zat besi (A/I, dinyatakan sebagai % absorpsi terhadap asupan zat besi) pada tikus yang mengkonsumsi fortifikan NaFeEDTA, dengan pembawa berupa kecap atau H<sub>2</sub>O (sebagai kontrol). Huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan nyata pada  $\alpha = 0,05$



Gambar 4. Retensi zat besi (R, dinyatakan sebagai mg Fe) pada tikus yang diberi fortifikan NaFeEDTA, dengan pembawa berupa kecap atau H<sub>2</sub>O (sebagai kontrol). Huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan nyata pada  $\alpha = 0,05$

Data yang diperoleh memperlihatkan bahwa dosis asupan zat besi yang semakin meningkat membuat absorpsi dan retensi zat besi secara kuantitatif cenderung naik (Gambar 2 dan 4). Hal ini disebabkan karena penentuan absorpsi zat besi tersebut berlangsung pada 3 hari pertama periode replasi, saat tikus berada dalam kondisi anemia. Pada kondisi tersebut, tikus sangat membutuhkan zat besi sehingga absorpsi berlangsung sangat efisien untuk mencapai kondisi normal. Dengan demikian, asupan zat besi yang semakin besar selalu menghasilkan absorpsi yang secara kuantitatif juga semakin tinggi.



Gambar 5. Retensi zat besi (R/I, dinyatakan sebagai % terhadap asupan Fe) pada tikus yang mengkonsumsi fortifikan NaFeEDTA, dengan pembawa berupa kecap atau H<sub>2</sub>O (sebagai kontrol). Huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan nyata pada  $\alpha = 0,05$

Proporsi absorpsi dan retensi zat besi terhadap asupannya (A/I dan R/I) cenderung menurun dengan semakin naiknya dosis asupan zat besi (Gambar 3 dan 5). Hal ini disebabkan karena dalam batas tertentu tubuh selalu melakukan pengendalian absorpsi zat besi guna menghindari kelebihan zat besi tubuh. Oleh karena itu, asupan zat besi yang terlalu tinggi cenderung diikuti oleh penurunan absorpsi secara proporsional. Sementara itu, peningkatan ekskresi zat besi melalui urin tidak berbanding lurus dengan kenaikan asupannya. Pada akhirnya, kondisi tersebut akan mengakibatkan penurunan R/I.

## KESIMPULAN

Dari hasil penelitian dan pembahasan sebelumnya dapat disimpulkan bahwa kecap manis memiliki potensi yang baik untuk digunakan sebagai makanan pembawa bagi fortifikasi NaFeEDTA. Konsumsi kecap sebesar 0,2 mL/ekor/hari dapat meningkatkan HRE dan absorpsi zat besi, baik secara kuantitatif maupun proporsional, serta retensi zat besi.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan banyak terima kasih kepada PT. Unilever Indonesia Tbk., Jakarta, Indonesia dan QUE Project, Jurusan Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, atas bantuan finansial yang diberikan demi kelancaran penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anonim (2004). Satu dari dua orang Indonesia menderita anemia. *Pusat dan Data Informasi Departemen Kesehatan RI*
- Anonim (2007). Indonesia combats widespread childhood anemia. <http://mensnewsdaily.com/2007/06/10/indonesia-combats-widespread-childhood-anemia>. [6 Februari 2009].
- Atmarita (2005). Nutrition problems in Indonesia. An Integrated International Seminar and Workshop on Lifestyle-Related Diseases. Gadjah Mada University, 19 – 20 March.
- Brody, T. (1994). *Nutritional Biochemistry*. Academic Press. London.
- Burtis, G., Davis, J. dan Martin, S. (1988). *Applied Nutrition and Diet Therapy*. W.B. Saunders Co. Tokyo.
- Guthrie, H.A. (1983). *Introductory Nutrition*. The C.V. Mosby Company. Toronto.
- Heimbach, J., Rieth, S., Mohamedshah, F., Slesinki, R., Samuel-Fernando, P., Sheehan, T., Dickman, R. dan Borzelleca, J. (2000). Safety assesment of iron EDTA [sodium iron (Fe<sup>3+</sup>) ethylenediaminetetraacetic acid]: Summary of toxicological, fortification, and exposure data. *Food and Chemical Toxicology* **38**: 99-111.
- Hernandez, M., Sousa, V., Moreno, A., Villapando, S. dan Lopez-Alarcon, M. (2003). Iron bioavailability and utilization in rats are lower from lime-treated corn flour than from wheat flour when they are fortified with different sources of iron. *Journal of Nutrition* **133**: 154-159.
- Kane, A.P. dan Miller, D.D. (1984). *In vitro* estimation of the effects of selected proteins on iron bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition* **39**: 393-401.
- Latief, D., Atmarita; Minarto, Basuni, A. dan Tilder, R. (1998). Konsumsi pangan tingkat rumah tangga sebelum dan selama krisis ekonomi. Prosiding *Widya Karya Pangan Nasional dan Gizi VII*: 29 Februari – 2 Maret. Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. Jakarta.
- Navarro, P., Aspe, T. dan Seiquer, I. (2000). Zinc transport in Caco-2 cells and zinc balance in rats : influence of the heat treatment of a casein-glucose-fructose mixture. *Journal of Agricultural Food Chemistry* **48**: 3589-3596.
- Lynch, S.M.D. (2002). Food Iron Absorption and Its Importance for the Design of Food Fortification Strategies. *Nutrition Reviews* **60**: S3-S6.
- Pee, S., Bloem, M.W., Sari, M, Kiess, L., Yip, R. dan Kosen, S. (2002). The high prevalence of low hemoglobin concentration among Indonesian infants aged 3-5 months related to maternal anemia. *Journal of Nutrition* **132**: 2215-2221.
- Reeves, P.G., Nielsen, F.H. dan Fahey, G.C. (1993). AIN-93 purified diets for laboratory rodents : final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76A Rodent Diet. *Journal of Nutrition* **123**: 1939-1951.
- Untoro, J., Karyadi, E., Wibowo, L., Erhardt, M.W. dan Gross, R. (2005). Multiple micronutrient supplements improves micronutrient status and anemia but not growth and morbidity on Indonesian infants: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Journal of Nutrition* **135**: 639S-645S.
- Wieringa, F.T., Berger, J., Dijkhuisen, M.A., Hidayat, A., Ninh, N.X., Utomo, B., Wasantwisut, E. dan Winichagoon, P. (2007). Combined iron and zinc supplementation in infants improved iron and zinc status, but interactions reduced efficacy in a multicountry trial in Southeast Asia. *Journal of Nutrition* **137**: 466-471.
- Yoshimura, Y., Iijima, T., Watanabe, T. dan Nakazawa, H. (1997). Antioxidative effect of Maillard reaction products using glucose-glycine model system. *Journal of Agricultural Food Chemistry* **45**: 4106-4109.