

**PENGARUH SUPLEMENTASI BESI DAN SENG MELALUI  
MAKANAN JAJANAN TERHADAP PERUBAHAN STATUS  
TEMBAGA PADA ANAK SEKOLAH DASAR YANG PENDEK**

*(THE INFLUENCE OF IRON AND ZINC SUPPLEMENTATION USING  
BISCUITS ON THE CHANGE OF COPPER STATUS OF THE STUNTED  
ELEMENTARY SCHOOL STUDENTS)*



**Tesis  
untuk memenuhi sebagian persyaratan  
mencapai derajat S-2**

**Magister Ilmu Biomedik**

**Mohammad Zen Rahfiludin  
G4A000007**

**PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS DIPONEGORO  
SEMARANG  
OKTOBER  
2002**

TESIS

**PENGARUH SUPLEMENTASI BESI DAN SENG MELALUI  
MAKANAN JAJANAN TERHADAP PERUBAHAN STATUS  
TEMBAGA PADA ANAK SEKOLAH DASAR YANG PENDEK**

Disusun oleh

Mohammad Zen Rahfiludin  
G4A000007

telah dipertahankan di depan Tim Penguji  
pada tanggal 5 Oktober 2002  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui,  
Komisi Pembimbing

Pembimbing Utama



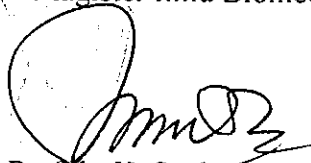
Prof. Dr. dr. Satoto  
NIP. 130 368 071

Pembimbing Kedua



Dr. dr. Hertanto WS, MS  
NIP. 130 808 729

Ketua Program Studi  
Magister Ilmu Biomedik



Prof. dr. H. Soebowo, Sp.PA  
NIP. 130 352 549

## PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan didalamnya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan lembaga lainnya. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan maupun yang belum/tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan di dalam tulisan dan daftar pustaka.

Semarang, 5 Oktober 2002



Mohammad Zen Rahfiludin

## RIWAYAT HIDUP

Penulis lahir tanggal 20 April 1972 di Kotamadia Semarang, merupakan anak pertama dari pasangan suami istri M. Saleh Tjutdin dan Chairani.

Riwayat pendidikan :

1. SDN Diponegoro 2 di Semarang, lulus tahun 1984
2. SMPN 3 di Semarang, lulus tahun 1987
3. SMAN 1 di Semarang, lulus tahun 1990
4. Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Diponegoro, lulus tahun 1995

Melanjutkan kuliah di Program Studi Magister Ilmu Biomedik Program Pascasarjana Universitas Diponegoro Semarang mulai tahun 2000.

## KATA PENGANTAR

Dengan mengucapkan puji syukur kehadiran Allah SWT, karena berkat rahmatnya tesis ini dapat diselesaikan dengan baik. Tesis ini tersusun tidak lepas dari bantuan, dorongan dan bimbingan dari berbagai pihak baik berupa moril maupun materiil. Pada kesempatan ini penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada yang terhormat :

1. Prof.Dr.dr. S a t o t o, selaku pembimbing I dan dr. Hertanto WS, MS, selaku pembimbing II yang senantiasa memberikan dorongan moril agar terus maju dan cepat menyelesaikan studi, banyak meluangkan waktu, tenaga dan pikirannya untuk membimbing dan memberikan pengarahan dalam menyusun tesis ini serta membuka cakrawala baru.
2. Prof. Dr. dr. Satoto selaku ketua peneliti “Suplementasi Zat Gizimikro untuk Penanggulangan Kependekan Tubuh dan Peningkatan Prestasi Belajar Anak Sekolah Dasar”, yang secara tulus ikhlas mengijinkan penulis menggunakan sebagian besar data penelitian tersebut untuk tesis ini.
3. Rektor Universitas Diponegoro yang memberikan kesempatan pada staf pengajar UNDIP untuk melanjutkan studi.
4. Dekan Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Diponegoro yang memberikan kesempatan pada staf pengajar UNDIP untuk melanjutkan studi.
5. Dinas Kesehatan Propinsi Jawa Tengah yang telah memberikan dana beasiswa “Guru Dosen dan Instruktur” (Gudosin).

6. Direktur Program Pascasarjana Universitas Diponegoro yang membuka peluang kepada siapa saja yang memenuhi persyaratan untuk meningkatkan ilmu pengetahuan dan darma baktinya bagi bangsa dan negara.
7. Prof.dr. H. Soebowo, dr. Edi Dharmana, PhD, dan dr. Kusmiyati DK, M.Kes yang telah berkenan membantu dan memperjuangkan saya sehingga saya bisa melanjutkan pendidikan ini.
8. Prof.dr. Siti Fatimah Moeis, M.Sc, Sp.GM, Dr.dr. Endang Purwaningsih, MPH, dr. Darmono SS, MPH, selaku tim penguji proposal yang telah berkenan memberikan petunjuk dan pengarahan lebih lanjut mengenai pelaksanaan penelitian tesis.
9. dr. H. M. Sulchan, M.Sc dan dr. JC. Susanto, Sp.A (K), selaku narasumber yang telah memberikan bantuan materiil, referensi dan dorongan moril.
10. Kepala Dinas Kesehatan Kabupaten Demak, dr. Budi Supriyatno, Kepala Puskesmas Karangawen I, dr. Slamet Widodo (dan keluarga) serta Kepala Puskesmas Karangawen II, dr. Kusumo Aris Nugroho, yang telah membantu terlaksananya pengambilan data di lapangan.
11. Para kepala sekolah dan guru di sekolah dasar dengan segala jerih payah, waktu dan pengorbanan mereka telah membantu dalam pembagian dan monitoring pemberian makanan jajanan selama 13 minggu.
12. Anak-anak sekolah dasar yang telah menjadi sampel penelitian ini.
13. Ketua Jurusan Gizi Politeknik Kesehatan Semarang dan Ibu Wiwik Wijaningsih, STP yang telah dengan ikhlas membantu membuat PMT-AS.

13. Kepala Laboratorium Bioteknologi sub bidang mikronutrient FK UNDIP beserta staf yang telah memberikan kesempatan sehingga penulis memungkinkan untuk memanfaatkan fasilitas laboratorium dalam pelaksanaan penelitian tesis.
14. Ayah bunda yang senantiasa memanjatkan do'a restunya.
15. Rina Purwaningsih, Nafisa Rahmahayati dan Nadira Nursyifa (istri dan anak-anakku) tersayang yang dengan penuh keikhlasan dan pengertian selalu memberikan kesempatan dan semangat untuk terus maju.
16. Rekan-rekan staf pengajar Bagian Gizi FKM UNDIP.
17. Rekan-rekan senasib seperjuangan dan sepenanggungan.
18. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu-persatu.

Akhir kata, penulis berharap semoga Allah SWT melimpahkan berkat dan rahmatNya kepada semua pihak yang telah banyak membantu. Semoga tesis ini dapat bermanfaat bagi dunia pendidikan dan bagi masyarakat luas serta dapat menambah pengetahuan bagi yang membutuhkan.

Kami menyadari bahwa tesis ini jauh dari kesempurnaan, saran dan kritik yang membangun sangat kami harapkan demi kemajuan dan pengembangan keilmuan kami.

Semarang, Oktober 2002

Penulis,

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
RIWAYAT HIDUP	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
ABSTRAK/INTISARI	xv
I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Perumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian	4
1.3.1. Tujuan Umum	4
1.3.1. Tujuan Khusus	4
1.4. Manfaat Penelitian	4

	Halaman
II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1. Besi	5
2.1.1. Metabolisme Besi	5
2.1.2. Defisiensi Besi	11
2.1.3. Penentuan Status Besi	12
2.1.4. Sumber dan Kecukupan Besi yang Dianjurkan	12
2.2. Seng	13
2.2.1. Metabolisme Seng	13
2.2.2. Fungsi	18
2.2.3. Defisiensi Seng	19
2.2.4. Penentuan Status Seng	20
2.2.5. Sumber dan Kecukupan Seng yang Dianjurkan	21
2.3. Tembaga	22
2.3.1. Metabolisme Tembaga	22
2.3.2. Fungsi	28
2.3.3. Penentuan Status Tembaga	29
2.3.4. Sumber dan Kecukupan Tembaga yang Dianjurkan	30
2.3.5. Interaksi Tembaga dengan Besi, Seng dan Zat Gizi Lainnya	30
2.4. Suplementasi Zat Gizi	33
2.5. Kerangka Teori dan Kerangka Konsep	36

	Halaman
2.6. Hipotesis Penelitian	38
III METODE PENELITIAN	40
3.1. Rancangan Penelitian	40
3.2. Populasi dan Sampel	40
3.3. Variabel Penelitian	41
3.4. Definisi Operasional	42
3.5. Tempat dan Waktu Penelitian	44
3.6. Prosedur Penelitian	44
3.7. Analisa Data	46
IV HASIL DAN PEMBAHASAN	47
4.1. Gambaran Umum Daerah Penelitian	47
4.2. Karakteristik Sampel	48
4.3. Asupan Zat Gizi dan Kepatuhan Suplementasi	50
4.4. Hemoglobin, Seng dan Albumin Serum Sebelum dan Sesudah Suplementasi	52
4.5. Perubahan Status Tembaga Setelah Suplementasi	54
4.6. Keterbatasan Penelitian	61
V SIMPULAN DAN SARAN	63
5.1. Simpulan	63
5.2. Saran	64

	Halaman
VI RINGKASAN	65
DAFTAR PUSTAKA	68

## DAFTAR TABEL

No		Halaman
1	Definisi operasional	42
2	Karakteristik umur dan antropometri sampel sebelum perlakuan	49
3	Karakteristik parameter biokimiawi sampel sebelum perlakuan	50
4	Distribusi asupan zat gizi	51
5	Rerata kadar hemoglobin, seng serum dan albumin serum sebelum dan sesudah perlakuan	53
6	Perubahan rerata tembaga serum ( $\mu\text{g/dL}$ )	56
7	Hasil uji <i>post hoc test one way anova</i> perubahan tembaga serum	57
8	Perbandingan perubahan tembaga serum ( $\mu\text{g/dL}$ ) setelah dikontrol dengan kovariat	59

## DAFTAR GAMBAR

Nomor		Halaman
1	Kemungkinan lintasan besi di dalam tubuh	7
2	Mekanisme pengambilan besi oleh sel-sel epitel duodenal dan transportnya melintasi sel epitel menuju plasma dari kapiler-kapiler subepitel	8
3	Model transport besi pada mammalia	9
4	Keseimbangan seng pada orang dewasa yang normal	14
5	Absorpsi seng di intestinal	17
6	Metabolisme tembaga pada manusia	24
7	Transport tembaga dan besi di sel <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	27
8	Mekanisme potensial seng sebagai suatu inhibitor	32
9	Risiko relatif dan asupan harian	34
10	Kerangka teori	37
11	Persentase sampel yang asupan tembaganya di bawah 1,0 mg/hari	52
12	Kejadian anemia sebelum dan sesudah perlakuan	54
13	Jumlah anak defisiensi tembaga sebelum dan sesudah perlakuan	57

## DAFTAR LAMPIRAN

Nomor		Halaman
1	Peta lokasi penelitian	77
2	Rekomendasi penelitian	78
3	Prosedur pemeriksaan seng serum, tembaga serum, albumin serum dan hemoglobin	82
4	Resep pembuatan roti untuk makanan jajanan	87
5	Hasil pemeriksaan laboratorium sebelum dan sesudah perlakuan	89
6	Kuesioner survei konsumsi makanan	99
7	Kuesioner penelitian	104
8	Dokumentasi	106
9	Hasil analisis statistik	108

## ABSTRAK

Suplementasi besi dan seng kemungkinan mempunyai efek yang merugikan terhadap absorpsi dan status tembaga. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh suplementasi besi dan seng setiap hari melalui makanan jajanan selama 13 minggu terhadap perubahan status tembaga anak pendek di sekolah dasar. Status tembaga diukur dengan tembaga serum.

Disain penelitian yang dipakai adalah *randomized pretest posttest control group*. Sebanyak 113 anak dibagi menjadi tiga kelompok perlakuan. Kelompok plasebo menerima makanan jajanan tanpa tambahan besi dan seng, kelompok ke dua menerima makanan jajanan yang ditambah besi 10 mg (kelompok Fe) dan kelompok terakhir menerima makanan jajanan yang ditambah besi dan seng masing-masing 10 mg (kelompok Fe-Zn).

Tembaga serum pada kelompok Fe mengalami penurunan bermakna ( $p = 0,002$ ) demikian juga pada kelompok Fe-Zn ( $p = 0,001$ ). Terjadi perbedaan bermakna status tembaga setelah suplementasi antara kelompok Fe dengan kelompok plasebo ( $p = 0,043$ ) dan antara kelompok Fe-Zn dengan plasebo ( $p = 0,024$ ). Setelah dikontrol dengan kovariat, masih terjadi perbedaan bermakna perubahan status tembaga antara kelompok Fe dengan plasebo ( $p = 0,040$ ) dan antara kelompok Fe-Zn dengan plasebo ( $p = 0,032$ ). Namun antara kelompok Fe dengan kelompok Fe-Zn tidak terjadi perbedaan bermakna. Hasil ini menunjukkan bahwa suplementasi besi dan besi ditambah seng menurunkan status tembaga pada anak pendek di sekolah dasar.

THE INFLUENCE OF IRON AND ZINC SUPPLEMENTATION USING  
BISCUITS ON THE CHANGE OF COPPER STATUS OF THE STUNTED  
ELEMENTARY SCHOOL STUDENTS

ABSTRACT

Iron and zinc supplementations may have adverse effects on the copper absorption and status. This research was aimed to examine the influence of iron and zinc supplementation using enriched biscuits on the change of copper status among stunted elementary school students.

The research design was a randomized pretest posttest control group. A total of 113 students were divided into three treatment groups. The placebo group received biscuits without enrichment, the Fe group received biscuits enriched with iron 10 mg/day and the Fe-Zn group received biscuits enriched with iron and zinc 10 mg/day. The supplementation was administered for 13 weeks.

The copper serum level of Fe group significantly decreased ( $p = 0,002$ ) similar with the Fe-Zn group ( $p = 0,001$ ). There was a significant difference of the copper status after supplementation between the Fe group and the placebo group ( $p = 0,043$ ) and between the Fe-Zn group with the placebo group ( $p = 0,024$ ). After adjustment for covariates, there were still significant differences of the change of copper status between the Fe group and the placebo group ( $p = 0,040$ ) and the Fe-Zn group with the placebo group ( $p = 0,032$ ). However there was no significant difference on the change of the copper status, between the Fe group and the Fe-Zn group. This study suggested that the iron and the iron-zinc supplementation decreased the copper status of the stunted elementary school students.

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Defisiensi zat gizimikro banyak terjadi di Indonesia, di antaranya adalah defisiensi besi dan defisiensi seng. Penelitian oleh Utari dkk menunjukkan prevalensi anemia pada anak sekolah dasar masih di atas 40%.<sup>1</sup> Pemetaan anemia di Jawa Tengah pada tahun 1999 menunjukkan prevalensi yang tinggi pada anak usia di bawah lima tahun (63,1%) dan ibu hamil (58,1%).<sup>2</sup> Sementara itu hasil penelitian Satoto dkk menunjukkan prevalensi defisiensi seng pada anak-anak usia 0-2 tahun di Kabupaten Grobogan, Jawa Tengah adalah 26,8% dan pada anak sekolah dasar di Nusa Tenggara Barat menunjukkan angka yang hampir sama yaitu 22,1%.<sup>3</sup>

Dalam upaya mengatasi masalah gizi dan kesehatan pada anak sekolah, mulai tahun 1996/1997 pemerintah meluncurkan Program Makanan Tambahan – Anak Sekolah atau PMT-AS. Pemberian PMT-AS adalah dalam bentuk makanan jajanan yang mengandung 300 Kkal dan lima gram protein.<sup>4</sup> Pemberian makanan saja dinilai masih kurang untuk dapat mengatasi masalah kekurangan gizi pada anak sekolah. Pemberian tablet besi satu kali seminggu pada anak sekolah dasar penerima PMT-AS selama 4,5 bulan di Kabupaten Lampung Selatan ternyata berhasil meningkatkan status hemoglobin dan menurunkan persentase anemia dari 60% menjadi 34,5%.<sup>5</sup>

Seng dan besi berperan dalam pertumbuhan anak. Pada bayi marasmus yang disuplementasi seng selama 60 hari, terjadi perbaikan berat badan terhadap panjang badan secara bermakna dibandingkan yang memperoleh plasebo.<sup>6</sup> Anak usia 6-24 bulan yang diberi suplementasi besi dan seng setiap hari, mengalami peningkatan pertumbuhan, terutama berat badan. Pada anak yang anemia, pengaruhnya lebih kuat, yaitu meningkatkan berat badan dan tinggi badan.<sup>7</sup>

Selain besi dan seng, tubuh juga masih membutuhkan beberapa macam mineral yang termasuk gizimikro, salah satunya adalah tembaga. Tembaga memiliki fungsi penting pada banyak proses-proses biokimiawi tubuh manusia, misalnya mencegah kerusakan oksidatif, metabolisme besi dan pertahanan tubuh.<sup>8</sup> Tembaga juga merupakan komponen penting dalam ekspresi gen dengan cara mengaktifkan dan menekan transkripsi gen.<sup>9</sup>

Pada tubuh manusia, semua zat gizi saling berinteraksi, tidak terkecuali zat gizimikro besi, seng dan tembaga. Pemberian besi yang melebihi 10 mg/hari dapat membatasi pemanfaatan tembaga pada bayi.<sup>10</sup> Suplementasi seng 50 mg/hari atau seng dan besi masing-masing 50 mg/hari juga menekan status tembaga pada perempuan dewasa,<sup>11</sup> bahkan pada dosis seng yang lebih rendah, yaitu 25 mg/hari selama enam minggu, juga menekan status tembaga pada pria dewasa.<sup>12</sup> Pengaruh suplementasi besi dan seng terhadap status tembaga dalam penelitian-penelitian tersebut diberikan dalam bentuk tablet.

Penelitian bertujuan mengetahui pengaruh pemberian zat gizimikro besi dan seng melalui makanan jajanan terhadap kependekan tubuh dan peningkatan prestasi belajar anak sekolah dasar telah dilakukan di Kecamatan Karangawen, Kabupaten Demak. Sampel penelitian tersebut adalah anak sekolah dasar yang pendek menurut kriteria baku WHO/NCHS. Alasan dipilihnya Kabupaten Demak karena prevalensi anemia pada anak balita sangat tinggi yaitu 87,5%.<sup>2</sup> Suplementasi yang diberikan berupa besi saja 10 mg/hari dan seng ditambah besi, masing-masing 10 mg/hari.

Pemberian dosis besi 10 mg/hari, mengingat kecukupan gizi anjuran untuk anak-anak adalah 10 mg/hari.<sup>13</sup> Dosis seng diberikan sama dengan dosis besi untuk menghindari kekhawatiran terjadinya interaksi di antara ke dua zat tersebut. Apabila rasio antar keduanya lebih dari 2 : 1, akan terjadi gangguan absorpsi pada unsur yang lebih sedikit.<sup>14</sup>

Interaksi di antara mineral dalam tubuh, menimbulkan pemikiran apakah akan terjadi penurunan pada status tembaga. Bagaimana pengaruh suplementasi besi dan seng dengan dosis 10 mg jika ditambahkan pada makanan yang diberikan setiap hari pada anak sekolah dasar terhadap status tembaga, sampai sejauh ini belum pernah diteliti, sehingga perlu penelitian lebih lanjut.

## 1.2. Perumusan Masalah

Apakah suplementasi besi saja 10 mg/hari dan seng 10 mg/hari ditambah besi 10 mg/hari melalui makanan jajanan akan mempengaruhi status tembaga pada anak sekolah dasar ?

### 1.3. Tujuan Penelitian

#### 1.3.1. Tujuan Umum

Mempelajari pengaruh suplementasi besi saja 10 mg/hari dan seng 10 mg/hari ditambah besi 10 mg/hari melalui makanan jajanan terhadap status tembaga pada anak sekolah dasar.

#### 1.3.2. Tujuan Khusus

1. Mendiskripsikan status tembaga, seng, protein dan kadar hemoglobin anak sebelum dan sesudah suplementasi.
2. Mendiskripsikan asupan zat gizi anak.
3. Menganalisis perubahan status tembaga pasca suplementasi pada masing-masing kelompok perlakuan.
4. Menganalisis beda perubahan status tembaga pasca suplementasi di antara kelompok perlakuan.
5. Menganalisis beda perubahan status tembaga pasca suplementasi di antara kelompok perlakuan setelah dikontrol dengan variabel perancu.

#### 1.4. Manfaat Penelitian

Memberikan informasi mengenai pengaruh PMT dengan tambahan besi dan seng terhadap status tembaga pada anak sekolah dasar.

## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Besi

Besi dalam tubuh berubah-ubah di antara dua bentuk ion, ferro dan ferri. Kemampuan ini mendukung peran biologi yang penting dalam transport oksigen dan reaksi reduksi-oksidasi, khususnya pada pernafasan seluler, suatu proses yang menghasilkan energi bagi sel-sel tubuh.<sup>15, 16</sup>

##### 2.1.1. Metabolisme Besi

Absorpsi besi dari diit terutama terjadi pada bagian atas usus halus, *duodenum* dan bagian atas *jejenum*. Absorpsi dalam jumlah kecil terjadi pada lambung. Ada dua bentuk besi dalam makanan yaitu besi hem (organik) dan non hem (inorganik). Meskipun proporsi besi hem pada jaringan hewan bervariasi, jumlahnya sekitar sepertiga dari total besi pada semua jaringan hewan. Sisanya sebesar duapertiga besi di jaringan hewan dan semua besi pada tumbuhan diperlakukan sebagai besi non hem. Hanya 10% besi yang ada di sereal, sayuran dan kacang-kacangan (non hem) dapat diabsorpsi, sedangkan pada daging dan ikan proporsinya sedikit lebih tinggi, yaitu 30% dan 15%.<sup>17, 18</sup>

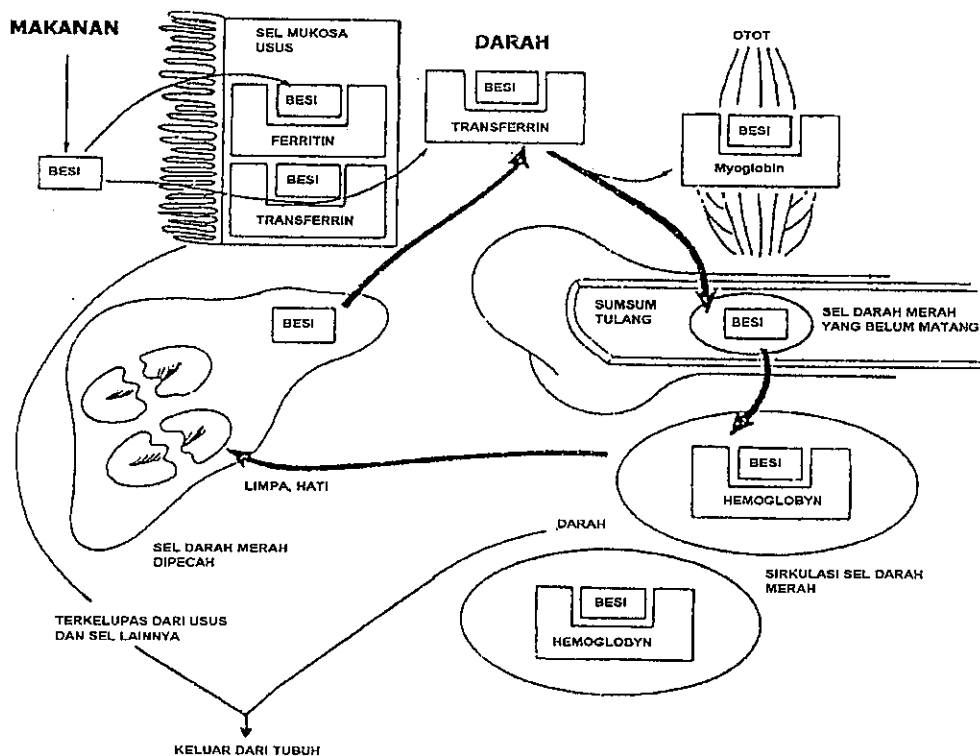
Absorpsi besi hem dari makanan lebih efisien dibandingkan non hem dan tidak tergantung dari vitamin C atau pengkhelat ikatan besi. Besi hem biasanya hanya 5 – 10% dari besi dalam diit, namun absorpsinya dapat mencapai 25%. Kebalikannya besi non hem dalam *duodenum* dan *jejenum* harus berbentuk larutan bila akan

diabsorpsi. Besi ini diionkan oleh asam lambung, direduksi menjadi bentuk ferro dan dikhelasi (*chelated*) substansi yang bisa melarutkan seperti asam askorbat, gula dan asam amino yang mengandung sulfur.<sup>17, 19, 20, 21</sup>

Absorpsi besi dapat meningkat karena beberapa faktor, antara lain makanan yang banyak mengandung besi hem dan adanya pemacu absorpsi seperti vitamin C, daging, ikan serta unggas. Kebutuhan tubuh yang sedang meningkat dan ketika deposit besi dalam feritin di mukosal intestinal sedang sedikit, juga dapat meningkatkan absorpsi besi. Sebaliknya, absorpsi besi dapat terganggu karena makanan yang banyak mengandung besi non hem, terlalu banyaknya deposit besi dalam feritin di mukosal intestinal dan kelebihan zat-zat penghambat absorpsi besi seperti fitat, tanin, pektin, polifenol, dan oksalat.<sup>17, 19, 20</sup>

Untuk mendapatkan besi, tubuh menyediakan protein khusus dalam sel-sel mukosa usus untuk membantu menyerapnya dari makanan. Transferin sebagai pembawa untuk memindahkan besi dalam darah dan feritin menangkap besi sebagai cadangan dalam sel-sel mukosa.<sup>15</sup>

Besi yang diabsorpsi ditangkap oleh protein darah transferin, kemudian dibawa ke sumsum tulang dan setiap jaringan dapat mengambil dalam jumlah yang dibutuhkan. Sumsum tulang dan hati mengambil dalam jumlah yang besar untuk dipakai dalam pembuatan sel darah merah.<sup>15</sup> Metabolisme besi dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Kemungkinan lintasan besi di dalam tubuh <sup>15</sup>

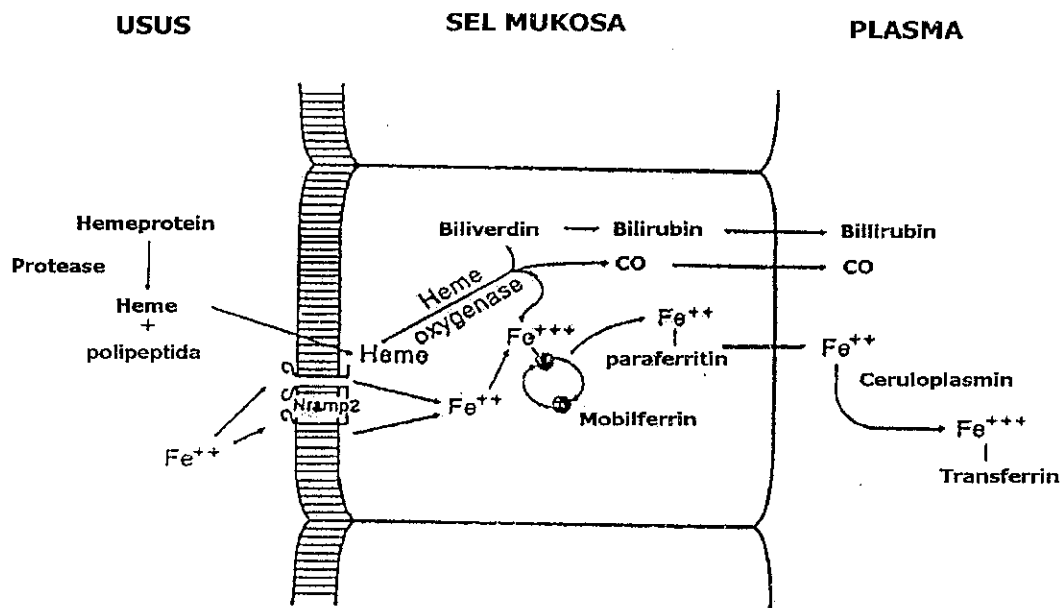
Ditingkat seluler, lintasan besi melalui enterosit memerlukan suatu pembawa logam yang dapat melewati tiga rintangan seluler. Ketiga rintangan seluler tersebut terjadi saat melewati membran *apical*, perpindahan intraseluler melewati *cytosol* dan pada saat melintasi membran basolateral masuk ke dalam sirkulasi. <sup>22</sup>

a. Masuknya besi melewati membran *apical*

Sebelum masuk *brush border* mukosa sel, atom besi harus melintasi lapisan mukosa. Selanjutnya besi diambil oleh Nramp2. <sup>22, 23</sup> Nramp2 (*Natural resistance-associated macrophage protein 2*) atau DMT1 (*Divalent metal transporter 1*), merupakan suatu protein transmembran. DMT1 banyak diekspresikan pada

permukaan lumen *brush border* dari enterosit usus kecil bagian atas yang telah matang. DMT1 tidak dijumpai pada membran basolateral enterosit dan enterosit yang belum matang dari *crypts*.<sup>16, 22, 23, 24</sup>

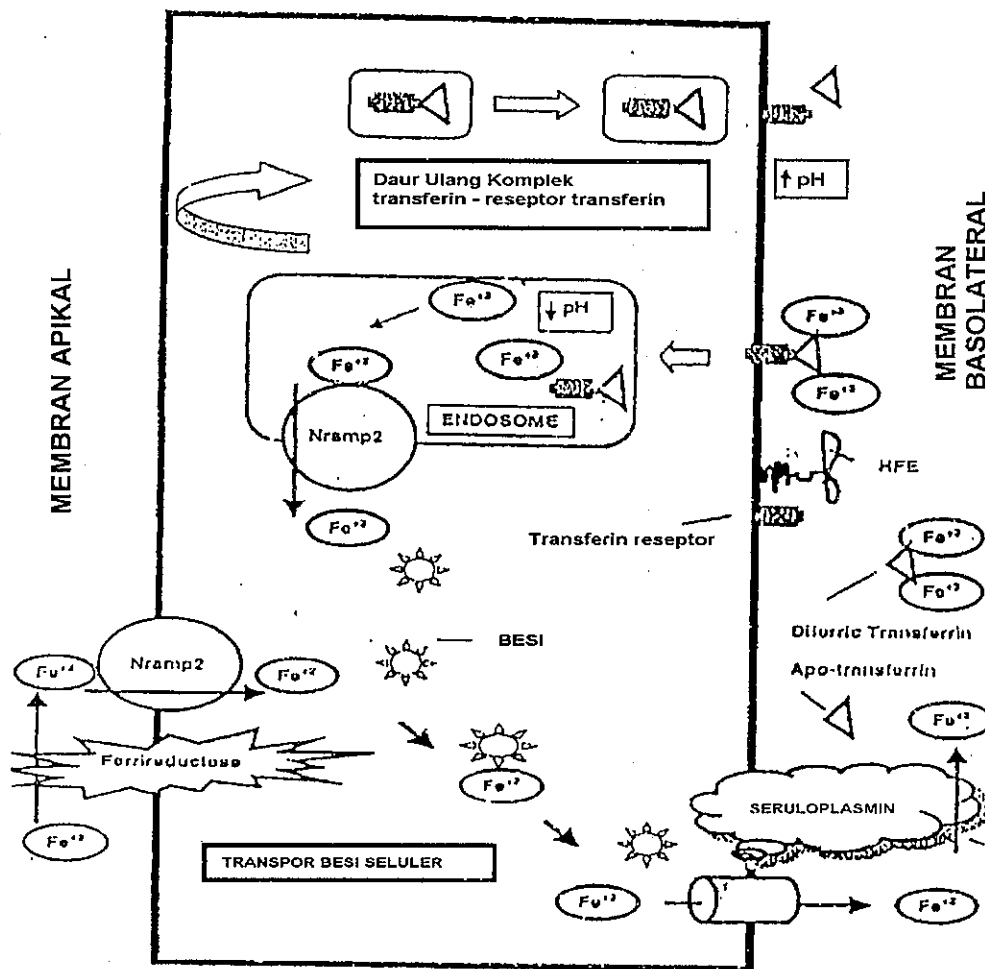
Eksresi DMT1 di *brush border* dari enterosit *duodenum*, bertanggungjawab terhadap transport besi ferro dari lumen *duodenum* ke dalam enterosit. Selain itu ekspresi DMT1 di endosom bertanggungjawab pada transport besi ferro dari endosom dan lisosom ke dalam sitoplasma semua sel kecuali pada eritrosit matang.<sup>16, 22, 23, 24</sup> Ekspresi DMT1 diatur oleh simpanan besi dan juga oleh asupan besi.<sup>25</sup> DMT1, sesuai dengan namanya, juga mampu mengangkut seng, tembaga, mangan dan logam-logam valensi dua lainnya.<sup>26</sup>



Gambar 2. Mekanisme pengambilan besi oleh sel-sel epitel duodenal dan transportnya melintasi sel epitel menuju plasma dari kapiler-kapiler subepitel<sup>23</sup>

b. Perjalanan besi dalam sitosol

Lalu lintas besi pada tingkat molekuler setelah diabsorpsi melewati membran *apical* enterosit masih menyisakan misteri. Protein intestinal yang dapat mengikat besi kemungkinan terlibat sebagai protein-protein *chaperone* yang membawa besi ke organel-organel seluler khusus atau ke protein-protein intraseluler lainnya (Gambar 3). Protein *chaperone* tersebut adalah mobilferin dan paraferitin.<sup>22, 23</sup>



Gambar 3. Model transport besi pada mamalia<sup>22</sup>

Setelah terbentuk kompleks besi-Nramp2 atau kompleks besi-integrin, akhirnya membentuk kompleks dengan mobilferin. Kemudian besi ditransfer ke paraferitin yang juga berperan sebagai protein transport besi di sitoplasma yang membawa besi ke sisi basolateral sel.<sup>23</sup>

c. Perpindahan besi pada sisi basolateral

Ketika besi dibawa dari mukosa ke sisi basolateral dari enterosit, besi ditransport dalam bentuk ferro dan terikat pada protein-protein sitoplasmik. Ketika besi dipompa keluar enterosit, harus dioksidasi ke bentuk ferri, supaya terikat dengan transferin. Hal ini dikerjakan oleh seruloplasmin.<sup>27</sup>

Selain itu pada sisi basolateral dikenal juga protein Ireg1 yaitu suatu protein transmembran yang berperan dalam pengeluaran besi dari sel-sel. Transport oleh Ireg1 membutuhkan  $\text{Fe}^{2+}$  yang dioksidasi menjadi  $\text{Fe}^{3+}$ , diperlukan mediator suatu protein yang disebut hephaestin.<sup>24</sup>

Hephaestin adalah suatu protein transmembran yang mengandung tembaga dan homolog dengan seruloplasmin. Pada tikus yang mengalami penurunan ekspresi hephaestin, pengambilan besi dari lumen ke dalam sel enterosit berjalan normal, tetapi besi tidak ditransfer ke darah portal, malahan besi terakumulasi di enterosit, dan hilang selama *turnover* epitel intestinal. Hal ini mengakibatkan anemia dengan tanda-tanda seperti defisiensi besi.<sup>24</sup>

### 2.1.2. Defisiensi Besi

Anemia didefinisikan sebagai konsentrasi hemoglobin yang lebih rendah dari nilai ambang batas yang telah ditetapkan oleh organisasi kesehatan dunia (WHO). Nilai ambang batas tersebut berkisar dari 11,0 g/dl untuk wanita hamil dan anak usia enam bulan sampai lima tahun, hingga 13,0 g/dl untuk laki-laki dewasa.<sup>28</sup> Penyebab tersering anemia adalah kekurangan zat gizi yang diperlukan untuk sintesis eritrosit, terutama besi, vitamin B<sub>12</sub> dan asam folat. Selebihnya merupakan akibat dari beragam kondisi seperti perdarahan, kelainan genetik dan penyakit kronik.<sup>29</sup>

Ada tiga tahap perkembangan dari anemia defisiensi besi. Tahap pertama adalah depleksi besi yang ditandai dengan penurunan simpanan besi di hati. Pada tahap ini tingkat besi transport dan hemoglobin normal, tetapi terjadi depleksi simpanan besi, yang tercermin dari menurunnya konsentrasi serum feritin. Tahap kedua adalah *iron-deficient erythropoiesis* yang ditandai dengan turunnya besi plasma dan jenuh transferrin, kadar hemoglobin sudah mulai menurun, namun konsentrasi protoporfirin eritrosit meningkat. Tahap ketiga adalah tahap final dari defisiensi besi, disebabkan cadangan besi sudah terkuras dan penurunan besi pada sirkulasi. Gambaran utamanya adalah penurunan konsentrasi hemoglobin dan hematokrit, penurunan lebih parah pada besi serum (<40 µg/dL) dan feritin (<10 µg/L), meningkatnya protoporfirin eritrosit (>200 µg/dL) dan *total iron-binding capacity* (>410 µg/dL).<sup>30</sup>

Defisiensi besi mengakibatkan efek yang merugikan pada fungsi kognitif dan pertumbuhan fisik anak-anak sekolah. Selain itu juga efek merugikan pada status

imunitas dan meningkatkan morbiditas dari penyakit infeksi pada semua kelompok usia.<sup>31</sup>

### 2.1.3. Penentuan Status Besi

Penentuan status besi dalam tubuh dapat menggunakan satu atau lebih indikator. Indikator yang digunakan tergantung pada tujuan dari penelitian. Pemakaian lebih dari satu indikator untuk menentukan status besi jelas akan memberikan hasil yang lebih tepat.<sup>18</sup>

Besi adalah komponen penting dari molekul hemoglobin, suatu pigmen pembawa oksigen pada sel darah merah. Setiap molekul hemoglobin adalah konjugasi dari suatu protein (globin) dan empat molekul hem. Hemoglobin mengangkut oksigen ke jaringan dan mengembalikan karbondioksida dari jaringan ke paru-paru.<sup>32</sup>

Pengukuran hemoglobin banyak digunakan untuk tes penapisan anemia defisiensi besi. Kandungan hemoglobin yang rendah pada darah adalah suatu indikator yang dapat dipakai pada anemia gizi, yang kemungkinan disebabkan oleh suatu defisiensi besi, tembaga, asam folat, vitamin B<sub>12</sub> dan protein. Nilai hemoglobin tergantung pada umur, jenis kelamin dan ketinggian suatu daerah.<sup>32, 33, 34</sup>

### 2.1.4. Sumber dan Kecukupan Besi yang Dianjurkan

Sumber besi yang terbaik dalam makanan adalah dari bahan makanan hewani. Hati adalah sumber terbaik sedang tiram, kerang-kerangan, daging, ginjal, jantung, daging unggas, kuning telur dan ikan adalah pilihan kedua. Kacang-kacangan dan

sayuran adalah sumber besi dari makanan nabati. Sementara itu susu dan hasil olahannya sedikit mengandung besi.<sup>17, 20, 35</sup>

Kebutuhan tubuh akan besi bervariasi, tergantung usia, jenis kelamin dan keadaan fisiologi tertentu seperti kehamilan dan menyusui. Pada anak-anak usia 7-9 tahun angka kecukupan gizi rata-rata yang dianjurkan adalah 10 mg/hari.<sup>13</sup>

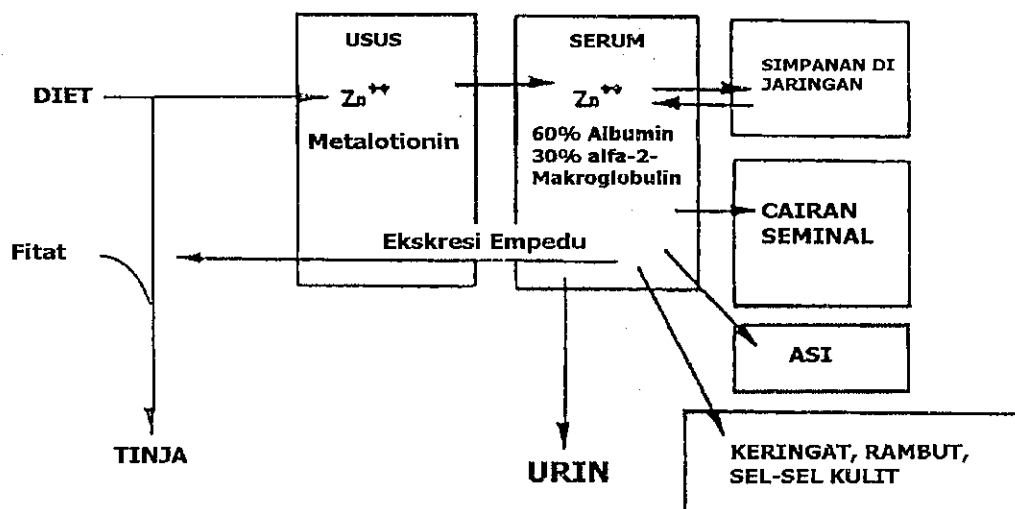
## 2.2. Seng

Seng memiliki nomor atom 30 dan massa atom 65,37 (rerata isotop) serta bilangan valensi 2<sup>+</sup>. Seng memiliki kemampuan untuk membentuk kompleks yang stabil dengan rantai protein-protein dan nukleotida. Seng secara umum membentuk kompleks dengan suatu susunan tetrahedral.<sup>27, 36, 37</sup>

Seng terdapat di semua organ, jaringan, cairan dan sekresi dari tubuh manusia. Seng berhubungan dengan semua organel dalam sel, namun sekitar 60 sampai 80% dari seng dijumpai dalam sitosol.<sup>36</sup>

### 2.2.1. Metabolisme Seng

Jumlah seng dalam tubuh menggambarkan suatu keseimbangan dinamis antara masukan dan jumlah seng yang keluar (Gambar 4). Seng diabsorpsi sepanjang usus halus. Hanya dalam jumlah kecil saja yang diabsorpsi di lambung dan usus besar. *Jejunum* merupakan tempat absorpsi seng yang maksimal, sedangkan kolon tidak berperan penting. Absorpsi seng adalah suatu fungsi dari daya larut senyawa-senyawa yang mengandung seng di tempat absorpsi dan status seng atau kebutuhan tubuh akan seng.<sup>10, 27, 37</sup>



Gambar 4. Keseimbangan seng pada orang dewasa yang normal <sup>27</sup>

Ligan-ligan dengan berat molekul yang rendah seperti asam-asam amino dan asam-asam organik lainnya dapat meningkatkan daya larut dan memudahkan absorpsi. Daging, hati, telur dan hasil laut dianggap makanan baik sebagai sumber seng karena relatif tidak mempunyai senyawa-senyawa yang dapat menghambat absorpsi seng serta adanya beberapa asam-asam amino yang meningkatkan daya larut dari seng. Sistein dan metionin meningkatkan kemampuan absorpsi seng dengan cara membentuk kompleks yang stabil dengan seng.<sup>36</sup> Seng diabsorpsi lebih efisien dalam jumlah yang kecil. Seseorang dengan status seng yang rendah mengabsorpsi seng lebih efisien dibandingkan dengan status seng yang tinggi.<sup>38</sup>

Senyawa-senyawa dengan berat molekul yang besar seperti asam fitat, merupakan persenyawaan dengan daya larut yang rendah dan menurunkan absorpsi.

Kompetisi antara seng dengan logam-logam lainnya pada tempat-tempat berikatan di enterosit dapat mempengaruhi kemampuan absorpsi.<sup>36</sup>

Pengaturan homeostatis seng dilakukan dalam saluran pencernaan. Mekanisme yang terlibat didalamnya adalah absorpsi seng dan sekresi *endogenous*.<sup>39</sup> Jumlah seng di saluran pencernaan merupakan kombinasi dari masukan seng dan kandungan seng dari sekresi *endogenous* yang turut serta membantu dalam proses pencernaan.<sup>10, 37</sup>

Pankreas menggunakan seng untuk membuat beberapa enzim perncernaannya, yang kemudian dikeluarkan lagi dalam saluran pencernaan pada waktu makan. Sekresi pankreatik adalah sumber seng *endogenous* yang utama. Sumber lainnya termasuk empedu dan sekresi *gastro-duodenum*. Jadi jumlah seng di dalam lumen usus halus setelah makan melebihi jumlah seng dari makanan karena adanya sekresi *endogenous*.<sup>15, 37</sup>

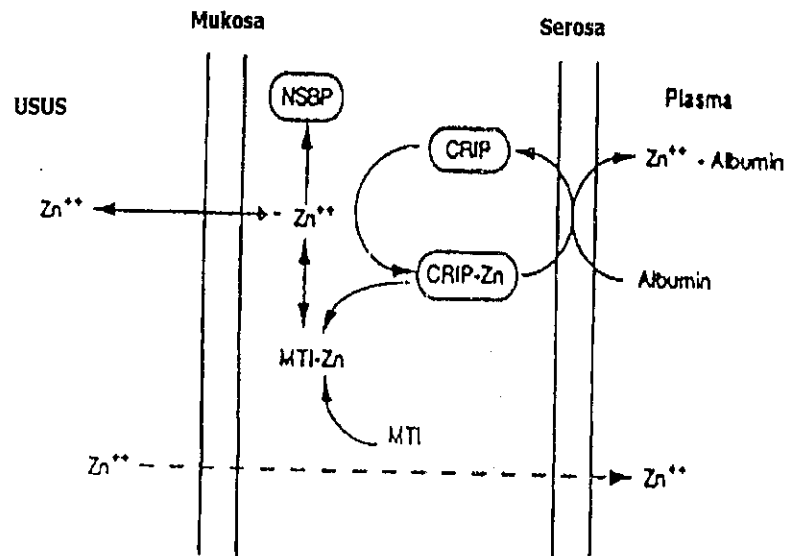
Selama pencernaan, enzim sekresi mengeluarkan seng dari makanan dan seng *endogenous* dari bermacam-macam ligan. Seng bentuk bebas dapat membentuk kompleks koordinasi dengan beranekaragam ligan *exogenous* dan *endogenous* seperti asam-asam amino, fosfat dan asam-asam organik lainnya. Asam amino ligan tersebut adalah histidin dan sistein. Komplek Zn-histidin dan Zn-methionin menunjukkan absorpsi yang lebih efisien dibandingkan Zn-sulfat. Absorpsi seng berlangsung cepat dan proses transportnya kemungkinan tergantung oleh energi. Senyawa lain seperti besi dan pitat dapat berkompetisi dengan seng pada tempat pengikatan di enterosit, sehingga menghambat absorpsi seng.<sup>36, 37, 40, 41</sup>

Mekanisme seng memasuki enterosit belum jelas benar. Konsensus secara umum mengatakan bahwa absorpsi seng memasuki enterosit melibatkan dua proses kinetik, suatu komponen pembawa (*a carrier-mediated component*) dan secara difusi (*non mediated component*). Pada konsentrasi seng yang rendah sampai normal di *luminal*, mekanisme melalui pembawa (*carrier*) lebih utama. Peningkatan efisiensi absorpsi seng yang terjadi saat asupan seng rendah lebih disebabkan peningkatan kecepatan transfer seng oleh *carrier* melewati membran enterosit dibandingkan dengan perubahan afinitas *carrier* terhadap seng. Hal ini menimbulkan kecurigaan kemungkinan adanya sejumlah reseptor.<sup>36, 37, 39, 40</sup>

Setelah masuk ke dalam enterosit, seng diikat oleh suatu protein intestinal yang kaya sistein (*CRIP = Cysteine-Rich Intestinal Protein*) yang kemudian memindahkan seng ke *metallothionein* atau melintasi sisi basolateral enterosit untuk berikatan dengan albumin serta dibawa oleh darah portal (Gambar 5).<sup>27, 40</sup>

Pengaturan homeostatik dari absorpsi seng berhubungan dengan sintesis *metallothionein* intestinal, sebuah metalloprotein kaya cysteine yang mengikat seng, tembaga dan kation valensi dua lainnya. Ekspresi gen *metallothionein* dipengaruhi oleh beberapa hormon dan diit seng yang tinggi, khususnya ketika asupan tembaga rendah. Logam yang terikat pada *metallothionein* berubah secara cepat dalam hitungan detik sampai menit, menunjukkan bahwa *metallothionein* berperan sebagai ligan yang menyangga absorpsi seng. Sebagai contoh, pengeluaran seng dari intestinal ke sirkulasi portal meningkat ketika konsentrasi seluler *metallothionein*

rendah seperti yang terjadi pada defisiensi seng. Sebaliknya, absorpsi seng menurun dan intestinal *metallothionein* meningkat selama periode asupan seng yang tinggi.<sup>40</sup>



Gambar 5. Absorpsi seng di intestinal<sup>27</sup>

Seng secara cepat dibawa dan terkonsentrasi di hati setelah berpindah dari intestinal ke sirkulasi portal. Albumin diidentifikasi sebagai protein plasma yang membawa seng ke darah porta. Komponen plasma lainnya yang mengandung seng adalah  $\alpha_2$ -makroglobulin, transferin dan asam amino, khususnya sistein dan histidin.<sup>40</sup>

Distribusi seng yang telah diabsorpsi ke jaringan ekstrahepatik terutama terjadi oleh plasma yang mengandung sekitar 3 mg seng atau sekitar 0,1 % dari total seng di dalam tubuh. Seng dibagi menjadi  $\alpha_2$ -makroglobulin (40%), albumin (57%) dan asam amino (3%) di dalam plasma. Seng terikat longgar dengan albumin dan asam amino,

fraksi ini bertanggungjawab pada transport seng dari hati ke jaringan. Karena semua seng yang diabsorpsi diangkut dari plasma ke jaringan, pertukaran seng dari plasma ke dalam jaringan sangat cepat untuk memelihara konsentrasi plasma seng yang relatif konstan.<sup>37</sup>

Rute utama ekskresi seng adalah melalui tinja (lebih dari 90%). Sementara itu sekitar 0,5 sampai 0,8 mg/hari seng dikeluarkan melalui urin setiap harinya. Kehilangan seng melalui permukaan seperti kulit, keringat dan rambut hanya sekitar satu sampai lima mg/hari. Sumber kehilangan seng lainnya termasuk sekresi semen dan menstruasi.<sup>27, 37, 39</sup>

Pada metabolisme tingkat seluler, diduga ada empat *transporter* seng yang diberi nama ZnT-1, ZnT-2, ZnT-3 dan ZnT-4. ZnT-1 diekspresikan di berbagai jaringan, termasuk usus, ginjal dan hati. Ekspresi ZnT-1 di usus banyak dijumpai di permukaan basolateral dari *villi duodenum* dan *jejunum*.<sup>42</sup> ZnT-2 terutama dijumpai di usus, ginjal dan testis, sedangkan ZnT-3 terbatas pada otak dan testis. ZnT-4 banyak terdapat pada kelenjar payudara dan kemungkinan berhubungan dengan sekresi seng dalam susu.<sup>43</sup> Pemberian suplementasi seng pada tikus percobaan berhasil menaikkan tingkat mRNA ZnT-1 dan mRNA ZnT-2 di usus halus dan ginjal, sedangkan ekspresi gen ZnT-4 tidak berubah.<sup>44</sup>

### 2.2.2. Fungsi

Salah satu fungsi seng adalah berperan sebagai kofaktor yang penting untuk lebih dari 70 enzim-enzim. Dalam peranan ini, seng mengikat residu histidin dan

sistein serta dalam waktu yang sama menstabilkan serta membuka tempat / sisi aktif dari enzim-enzim ini sedemikian rupa sehingga katalis dari reaksi dapat berjalan.<sup>27</sup> Ikatan seng dengan residu histidin dan sistein juga membentuk *zinc finger*. Struktur umum dari *zinc finger* adalah pengulangan daerah yang mengandung sistein dan histidin yang terikat oleh seng dalam bentuk konfigurasi tetrahedral.<sup>27,36</sup>

Suatu fungsi penting dari seng adalah perannya dalam struktur dan fungsi biomembran. Beberapa peneliti membuktikan bahwa berkurangnya konsentrasi seng dalam biomembran mendasari beberapa kekacauan yang dihubungkan dengan defisiensi seng.<sup>36</sup> Seng berperan juga dalam fungsi kekebalan tubuh manusia. Bayi marasmus yang disuplementasi dengan seng memperlihatkan peningkatan respon pertahanan tubuhnya. Anak-anak di negara berkembang yang diberi suplementasi seng juga menunjukkan penurunan insiden dan durasi dari diare akut maupun kronik. Suplementasi seng juga menurunkan kejadian infeksi akut saluran pernafasan bawah dan malaria.<sup>45,46</sup>

### 2.2.3. Defisiensi Seng

Beberapa sistim organ seperti saluran pencernaan, saraf pusat, kerangka dan sistim reproduksi, secara klinik dipengaruhi oleh defisiensi seng berat.<sup>47</sup> Gambaran klinik defisiensi seng berat pada manusia adalah retardasi pertumbuhan, kelambatan maturasi seksual dan kerangka, diare dan nafsu makan berkurang.<sup>10</sup> Defisiensi seng berat juga menyebabkan fungsi otak yang tidak normal, menimbulkan gangguan pada perilaku dan respon emosi.<sup>48</sup>

Gambaran dari defisiensi seng berat jarang terjadi. Sekalipun demikian, survei gizi dan temuan klinik terakhir menjumpai penderita dengan defisiensi seng ringan yang kemungkinan ditemukan dalam jumlah yang besar di negara berkembang.<sup>40</sup> Efek dari defisiensi seng ringan kurang nyata terlihat. Penurunan kecepatan pertumbuhan dan gangguan kekebalan terhadap infeksi merupakan manifestasi defisiensi ringan pada manusia. Kurang energi-protein sering disertai oleh penurunan masukan seng dan hal ini berperan terhadap meluasnya anak pendek di komunitas yang kekurangan gizi.<sup>10</sup>

Defisiensi seng juga mengganggu fungsi pertahanan tubuh, baik pertahanan non-spesifik maupun yang spesifik. Gangguan defisiensi seng pada sistem pertahanan tubuh non-spesifik misalnya kerusakan pada sel-sel epidermal, gangguan fungsi aktifitas sel *natural killer*, fagositosis dari makrofag dan netrofil.<sup>49</sup>

#### 2.2.4. Penentuan Status Seng

Status seng pada tubuh dapat ditentukan dengan pengukuran konsentrasi serum/plasma seng, konsentrasi seng pada eritrosit, leukosit dan netrofil, serta konsentrasi seng pada rambut.<sup>32</sup> Sementara itu, penentuan status seng marginal dapat dilakukan dengan mengukur *metallothionein* sel darah merah. Konsentrasi *metallothionein* sel darah merah memiliki respon yang baik terhadap perubahan asupan seng, ketika seng plasma tidak menunjukkan perubahan.<sup>50</sup>

Seng serum adalah indek yang secara luas sering dipakai untuk menentukan status seng. Pada manusia yang defisiensi seng berat, konsentrasi seng serum selalu

rendah. Konsentrasi akan kembali normal setelah suplementasi seng.<sup>31</sup> Pada penelitian dengan subyek orang dewasa dan dirawat di rumah sakit, seng serum dihubungkan dengan infeksi. Namun tiga penelitian pada komunitas anak-anak di negara berkembang tidak menjumpai hubungan antara infeksi dengan konsentrasi serum atau plasma seng. Hal ini kemungkinan karena infeksi yang diamati pada anak-anak tersebut derajatnya ringan.<sup>51</sup>

#### 2.2.5. Sumber dan Kecukupan Seng yang Dianjurkan

Sumber seng dalam makanan adalah tiram dan kerang-kerangan lainnya, ikan, hati, daging, unggas, telur, susu, keju dan kacang-kacangan. Jadi seng terkandung secara luas dalam banyak bahan makanan. Konsentrasi seng terbentang mulai dari 0,02 mg/100 g untuk putih telur, hingga 1 mg/100 g daging ayam, sampai dengan 75 mg/100 g tiram. Sereal relatif kaya akan seng. Namun sebagian besar seng terkandung pada bagian kulit dan hampir 80% dari total kandungan seng akan hilang selama proses penggilingan.<sup>17, 20, 35, 36</sup>

Kebutuhan tubuh akan seng bervariasi, tergantung usia, jenis kelamin, bioavailabilitas seng dari makanan dan keadaan fisiologi tertentu seperti kehamilan dan menyusui. Untuk anak-anak usia 4 bulan – 10 tahun, tidak dibedakan menurut jenis kelamin, tetapi karena adanya perbedaan diet dalam bioavailabilitas seng, makan dibagi menjadi tiga kategori yaitu availabilitas tinggi, sedang dan rendah. Pembagian ini berdasarkan rasio molar fitat/seng. Untuk penduduk Indonesia yang tinggal di pedesaan, sangat mungkin masuk dalam kategori diet yang bioavailabilitas sengnya

rendah, karena lebih dari 50% masukan energi makanan banyak mengandung fitat, 90% dari beras dan asupan protein hewani yang rendah.<sup>10</sup> Untuk anak usia 7-9 tahun angka kecukupan gizi yang dianjurkan adalah 20 mg/hari.<sup>13</sup>

### 2.3. Tembaga

Tembaga termasuk salah satu logam transisi dengan massa atom 63,54, memiliki dua isotop yang stabil yaitu <sup>63</sup>Cu dan <sup>65</sup>Cu. Tembaga juga memiliki bilangan valensi 1<sup>+</sup> atau 2<sup>+</sup> dan sangat reaktif pada reaksi oksidasi-reduksi. Tembaga terlibat pada banyak reaksi kimia dalam tubuh, sehingga merupakan komponen zat gizimikro yang penting. Sekalipun demikian tembaga dapat menjadi racun bila dalam bentuk tembaga bebas, sehingga konsentrasi tembaga bebas dalam tubuh harus dikontrol secara hati-hati.<sup>52, 53</sup>

#### 2.3.1. Metabolisme Tembaga

Absorpsi tembaga terjadi di usus halus, setelah proses pencernaan makanan dalam lambung dan duodenum. Absorpsi tembaga kemungkinan juga terjadi di lambung, meskipun datanya masih kontradiksi. Efisiensi absorpsinya tinggi, antara 55-75% dan tidak menjadi turun karena proses penuaan.<sup>52, 54</sup>

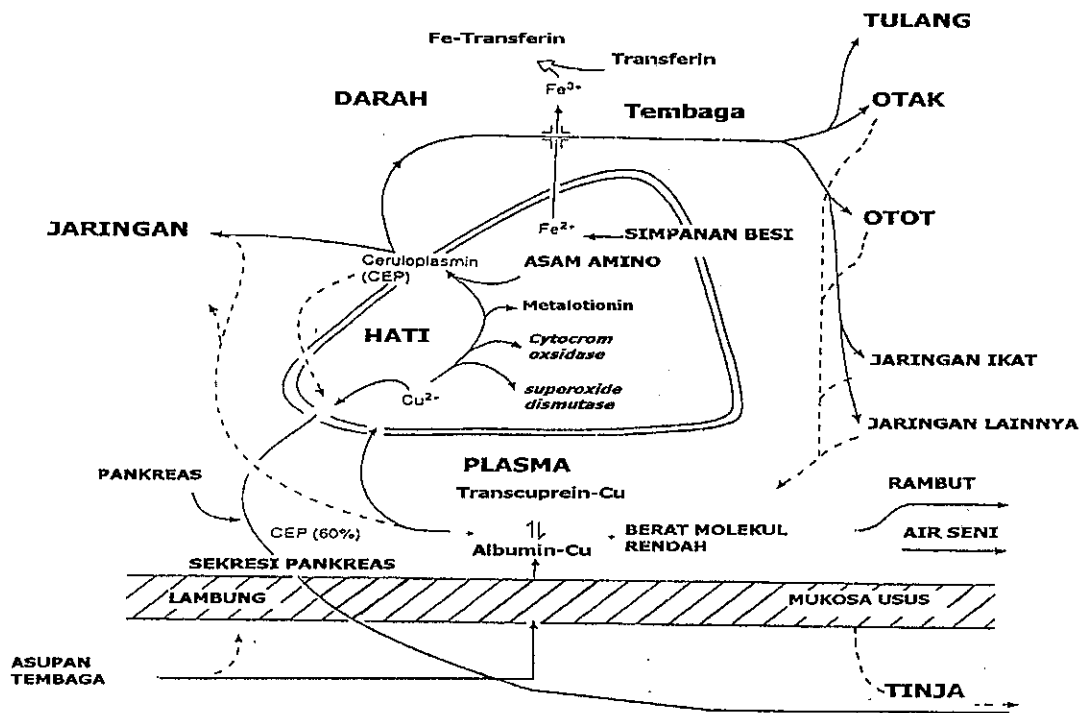
Jumlah tembaga yang diabsorpsi meningkat, sesuai dengan peningkatan asupan. Tetapi absorpsi lebih efisien dan persentase yang diabsorpsi lebih tinggi ketika asupan tembaga rendah. Peningkatan asupan tembaga sampai sepuluh kali hanya menghasilkan absorpsi tembaga dua kali lebih tinggi.<sup>55</sup>

Empedu merupakan penyumbang tembaga *endogenous* terbesar, yaitu sekitar 2,5 mg/hari ke dalam saluran pencernaan. Sebagian besar tembaga dari sekresi gastrointestinal tersebut direabsorpsi kembali setiap hari dan ada bukti yang mengindikasikan bahwa sebagian besar dari tembaga yang tidak direabsorpsi berasal dari empedu.<sup>54</sup>

Absorpsi tembaga melewati *brush border* masuk ke dalam sel-sel mukosa usus dan berikutnya ditransfer melewati membran basolateral ke dalam cairan interstisial dan darah, terjadi dengan mekanisme yang berbeda. Transfer menyebrangi *barier* mukosa kemungkinan oleh *non-energy-dependent diffusion*, sedangkan transfer tembaga menyebrangi membran basolateral dengan mekanisme yang tergantung energi. Aktifitas transpor tembaga bervariasi tergantung pada kondisi fisiologis, menjadi lebih tinggi pada defisiensi tembaga, kehamilan dan kanker, sebaliknya menjadi lebih rendah pada tembaga yang adekuat dan sindrom Menkes.<sup>54</sup>

Setelah memasuki cairan interstisial dan plasma darah, tembaga mulai diikat oleh dua protein yaitu albumin dan *transcuprein*. Selain itu dalam jumlah yang lebih kecil (diperkirakan kurang dari satu sampai empat persen), diikat oleh ligan-ligan dengan berat molekul rendah seperti peptida-peptida kecil dan asam-asam amino. Histidin, glutamin, threonin dan sistein adalah beberapa contoh asam-asam amino yang dapat mengikat tembaga dalam plasma. Albumin dan *transcuprein* merupakan komponen utama dari *pool* tembaga plasma yang dapat dipertukarkan. Sebagian besar tembaga yang terikat dengan cepat akan dideposit di hati.<sup>52, 54</sup>

Ada dua fase distribusi setelah tembaga masuk dalam darah. Pada fase pertama dimediasi terutama oleh *transcuprein* sedangkan pada fase kedua tembaga diangkut oleh seruloplasmin. Keterlibatan *transcuprein* dan albumin untuk membawa tembaga ke hati, penggabungan dengan seruloplasmin, lalu distribusi selanjutnya oleh seruloplasmin ke jaringan tubuh lainnya, didukung kuat oleh data yang didapatkan dari penelitian pada manusia dengan menggunakan isotop stabil. Meskipun demikian, sel-sel kultur dapat mengambil tembaga dari sumber-sumber nonseruloplasmin, seperti albumin, *transcuprein* dan histidin-tembaga, hal ini menyarankan bahwa sumber-sumber tersebut dapat disubstitusi jika seruloplasmin tidak tersedia (Gambar 6).<sup>54</sup>



Gambar 6. Metabolisme tembaga pada manusia<sup>54</sup>

Pengambilan tembaga dari seruloplasmin melibatkan interaksi dengan reseptor-reseptor permukaan sel, seperti yang ditunjukkan pada banyak tipe sel. Endositosis seruloplasmin kemungkinan tidak terlibat, sehingga transfer tembaga terjadi di permukaan sel. Rute distribusi tembaga sesudah memasuki sel, masih sedikit yang diketahui. Penelitian *in vitro* dengan Cu (II)-histidin dan *hepatocytes*, mengindikasikan bahwa sekitar duapertiga tembaga yang masuk, secara cepat masuk ke sitosol dan terikat pada beberapa makromolekul, termasuk *metallothionein*.<sup>54</sup>

Hipotesa bahwa seruloplasmin membawa tembaga kembali ke hati telah diuji dengan baik dengan hasil yang positif. Sistem *transcuprein* ditambah albumin maupun seruloplasmin (merupakan duapertiga tembaga plasma), kemungkinan terlibat dalam membawa ion logam kembali ke hati dan sel-sel lainnya.<sup>54</sup>

Tembaga diekskresikan terutama melalui saluran gastrointestinal dengan kurang tiga persen dari asupan terlihat melalui urin. Kecilnya kehilangan tembaga melalui urin, konsisten dengan sedikit atau tidak adanya tembaga bebas dalam plasma darah, dan bahwa banyak kompleks tembaga-berat molekul kecil kemungkinan disaring oleh *glomeruli* direabsorpsi secara khusus. Pengelupasan sel-sel epitel juga tidak nampak sebagai rute utama ekskresi tembaga walaupun rambut dan kuku memiliki konsentrasi tembaga yang tinggi.<sup>54</sup>

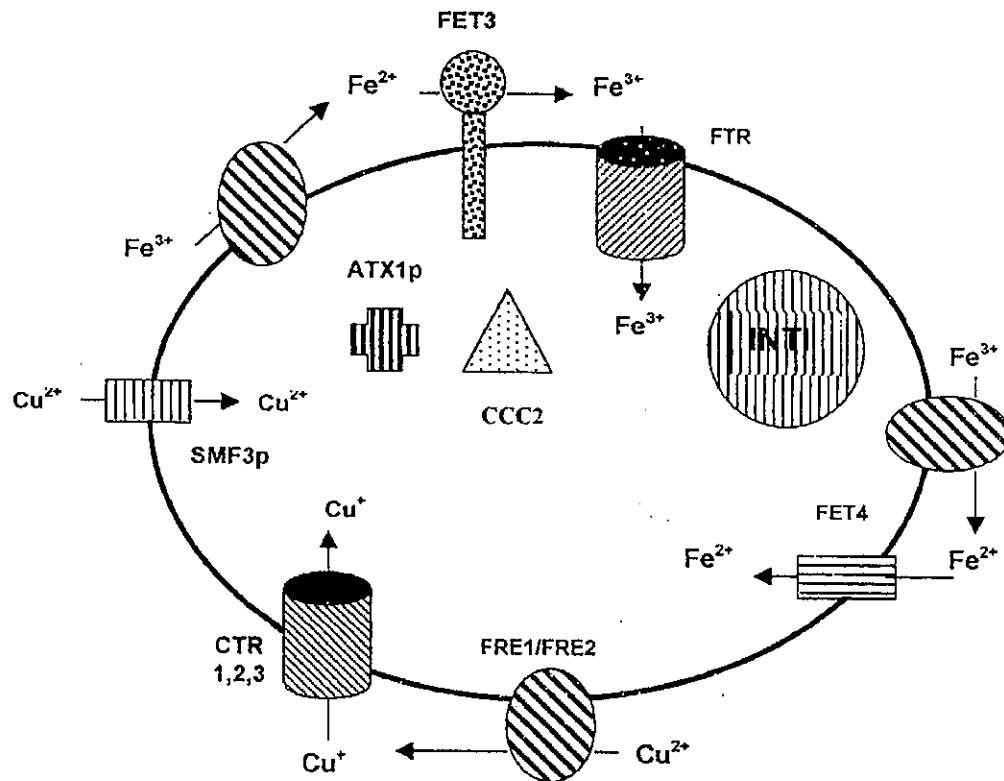
Metabolisme tembaga di tingkat molekuler dipelajari pada sel ragi, yaitu *Saccharomyces cerevisiae*. Cu(II) direduksi menjadi Cu(I) di permukaan membran sel oleh Fre1 dan Fre2. Cu(I) kemudian dibawa melintasi membran plasma oleh Ctr1

dan Ctr3 (Gambar 7), yang merupakan suatu *transporter* tembaga. Pada kondisi tembaga yang terbatas, gen CTR1, CTR3 dan FRE1 diekspresikan lebih banyak. Ekspresi dari gen-gen tersebut diaktifkan oleh Mac1, yaitu suatu faktor transkripsi. Mac1 aktif sebagai aktifator transkripsi dibawah kondisi tembaga yang terbatas, tetapi menjadi tidak aktif lagi pada kondisi penuh tembaga.<sup>56</sup> Ctr1 dan Ctr3 merupakan protein transport tembaga afinitas tinggi. Sedangkan Ctr2 merupakan protein transport tembaga afinitas rendah.<sup>57</sup> Tembaga yang berada di luar sel adalah dalam bentuk  $\text{Cu}^{2+}$  dan kemungkinan ditransport dalam bentuk ini oleh *transporter* ion logam DMT1 pada mamalia dan Smf3p pada ragi.<sup>58</sup>

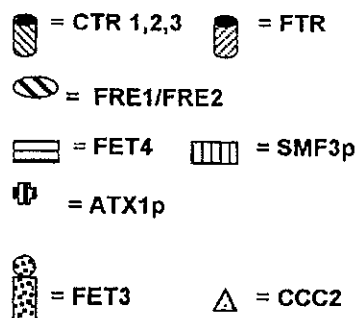
Metabolisme di tingkat seluler ini juga menunjukkan adanya hubungan antara metabolisme besi dan tembaga (Gambar 7). Hubungan yang pertama adalah Fre1 dan Fre2 ternyata tidak hanya mereduksi  $\text{Cu(II)}$  menjadi  $\text{Cu(I)}$ , tetapi juga ikut mereduksi  $\text{Fe(III)}$  menjadi  $\text{Fe(II)}$ .  $\text{Fe(II)}$  ini kemudian mengalami reoksidasi menjadi  $\text{Fe(III)}$  oleh Fet3p (suatu oksidase yang banyak mengandung tembaga) sebelum masuk ke dalam sel melalui Ftr, suatu *transporter* besi. Kebutuhan tembaga untuk Fet3p ini terpenuhi oleh protein-protein pembawa tembaga seperti Ctr1, Ctr2, Ctr3 dan Ccc2p (pembawa tembaga intraseluler). Hubungan yang ke tiga antara besi dan tembaga di tingkat seluler ini adalah baik tembaga maupun besi akan menekan transkripsi Fre1. Oleh tembaga Fre1 diatur melalui Mac1, sedangkan oleh besi Fre1 diatur oleh Aft1.<sup>59</sup>

Lintasan tembaga di tingkat seluler semakin kompleks dengan ditemukannya pembawa tembaga yang diberi nama Atx1p. Atx1p ini terdapat di dalam sitosol dan

menfasilitasi pengangkutan ion-ion tembaga dari *transporter* tembaga pada permukaan sel ke Ccc2p dan Fet3p. Homolog Atx1p ditemukan juga dalam invertebrata, tanaman dan manusia.<sup>60</sup>



Keterangan :



Gambar 7. Transport tembaga dan besi di sel *Saccharomyces cerevisiae*.<sup>59</sup>

### 2.3.2. Fungsi

Tembaga, seng dan besi terlibat dalam regulasi ekspresi gen protein-protein yang berikatan dengan logam. Gen-gen tersebut memiliki elemen untuk merespon terhadap logam yang khusus bagi setiap logam; untuk tembaga disebut CUPI. Gen ini mempengaruhi pengkodean *metallothionein*, suatu protein dengan 6570-Da yang mengikat logam-logam berat, khususnya tembaga.<sup>27</sup>

Beberapa faktor transkripsi juga tergantung pada tembaga seperti Ace1, Amt1 dan Mac1. Faktor transkripsi Ace1 dan Amt1 gen targetnya adalah gen MT dan SOD1 yang berfungsi pada simpanan tembaga seluler dan *superoxide dismutation*.<sup>9</sup> Mac1 mengatur transkripsi dua buah gen yaitu FRE1 (mengkode suatu komponen membran plasma yang berhubungan dengan reduksi Cu (II) dan Fe (III)) dan CTT1 (mengkode *cytosolic catalase*).<sup>61</sup>

Fungsi-fungsi tembaga *in vivo* lainnya adalah sebagai bagian dari sejumlah protein, termasuk di dalamnya banyak enzim-enzim yang penting. Misalnya *cytochrome-c oxidase* berfungsi pada transport elektron, *catechol oxidase* berfungsi untuk sintesis melanin, *amine oxidase* pada deaminasi dan seruloplasmin yang berfungsi sebagai feroksidase.<sup>9</sup>

Defisiensi tembaga dapat mengganggu metabolisme besi. Defisiensi tembaga menyebabkan akumulasi besi dalam jaringan seperti hati dan limpa serta ketidakmampuan membawa besi untuk pembentukan hemoglobin. Hal ini disebabkan pengeluaran besi oleh jaringan yang membutuhkan proses oksidasi besi ferro ke besi

ferri tidak terjadi. Proses oksidasi ini dilakukan oleh seruloplasmin dan hephaestin, protein yang banyak mengandung tembaga. Seruloplasmin banyak diekspresikan di hati sedangkan hephaestin banyak diekspresikan di usus.<sup>62</sup>

Fungsi pertahanan tubuh dipengaruhi oleh defisiensi tembaga. Berat timus dan limpa secara bermakna turun pada hewan coba yang defisiensi tembaga. Produksi antibodi oleh sel-sel limpa juga menurun.<sup>63</sup>

### 2.3.3. Penentuan Status Tembaga

Ada berbagai macam metoda untuk menentukan status tembaga pada manusia. Pengukuran dapat dilakukan pada konsentrasi tembaga dalam darah, rambut, urin. Konsentrasi tembaga dalam darah dapat diukur dari konsentrasi tembaga pada serum. Aktifitas beberapa enzim yang tergantung dengan tembaga misalnya seperti *cytochrome c oxidase* di lekosit dan *lysyl oxidase* di jaringan konektif kolagen, juga dapat digunakan untuk penentuan status tembaga. Penentuan status tembaga lainnya adalah dengan menggunakan superoxide dismutase dan seruloplasmin.<sup>32, 64</sup>

Konsentrasi tembaga serum < 0,90 mg/L dan khususnya < 0,45 mg/L memberikan dukungan kuat terhadap diagnosis defisiensi tembaga, seperti rendahnya konsentrasi seruloplasmin serum. Ketika tembaga serum < 0,45 mg/L, konsentrasi seruloplasmin < 20 mg/L. Ketika konsentrasi diantara 0,45 dan 0,90 mg/L maka konsentrasi seruloplasmin biasanya diantara 20 dan 200 mg/L. Pada seseorang yang dalam proses menuju defisiensi tembaga, konsentrasi seruloplasmin turun di bawah 200 mg/L sebelum konsentrasi tembaga serum turun di bawah 0,90 mg/L.<sup>65</sup>

#### 2.3.4. Sumber dan Kecukupan Tembaga yang Dianjurkan

Tembaga terdistribusi secara luas dalam bahan makanan. Bahan makanan yang mengandung banyak tembaga dan merupakan sumber diit yang baik ( $> 2 \mu\text{g/g}$ ) adalah makanan dari laut, tiram, kerang-kerangan, hati, ginjal, coklat, kacang-kacangan dan unggas. Sedangkan sereal, gula dan susu sapi mengandung sedikit tembaga.<sup>10, 17, 20</sup> Proses penggilingan padi-padian menurunkan kandungan tembaga sampai 45%.<sup>66</sup>

Batas terendah kecukupan diit tembaga yang aman bagi rata-rata asupan populasi anak-anak (usia 6 – 10 tahun dengan berat badan 25 kg) adalah 0,75 mg/hari, sedangkan batas atasnya adalah 3,0 mg/hari.<sup>10</sup>

#### 2.3.5. Interaksi Tembaga dengan Besi, Seng dan Zat Gizi Lainnya

Absorpsi tembaga dipengaruhi oleh diit besi yang tinggi. Penelitian oleh Haschke dkk pada bayi yang diberi formula makanan dengan konsentrasi besi rendah (2,5 mg/L) menunjukkan absorpsi tembaga yang lebih tinggi dibandingkan bayi dengan formula yang sama tetapi konsentrasi besinya lebih tinggi (10,2 mg/L).<sup>67</sup> Studi eksperimental pada hewan coba menunjukkan suatu penurunan konsentrasi tembaga pada hati ketika diit besi ditingkatkan menjadi 10 kali lipat.<sup>68</sup>

Penelitian lainnya menunjukkan bahwa bayi yang diberi makanan formula dengan kandungan 7 mg besi/L, konsentrasi tembaga serumnya lebih rendah dibandingkan bayi yang diberi makanan formula yang sama tetapi dengan kandungan 4 mg besi/L.<sup>69</sup> Ada kemungkinan pada defisiensi besi, absorpsi besi yang meningkat

dapat mengganggu absorpsi tembaga. Pada anak-anak defisiensi besi yang disuplementasi lima mg besi/kg berat tubuh selama dua minggu menunjukkan adanya penurunan tembaga serum dan penurunan konsentrasi seruloplasmin.<sup>70</sup> Jadi terlihat bahwa tingkat asupan besi berpengaruh terhadap status dan absorpsi tembaga, bahkan ketika perbedaan rasio besi-tembaga relatif kecil.<sup>71</sup>

Selain besi, masih ada lagi beberapa mineral yang bersifat antagonis terhadap tembaga, antara lain adalah seng.<sup>72</sup> Karena tembaga dan seng memiliki sifat fisik kimia yang hampir sama, asupan seng yang tinggi dapat mengganggu metabolisme tembaga.<sup>73</sup> Efek antagonis seng terhadap metabolisme tembaga terjadi pada tingkat mukosa intestinal melalui *metallothionein*. Seng menyebabkan sintesa *metallothionein* dan tembaga yang baru diserap menggantikan tempat seng dari *metallothionein* karena afinitas tembaga lebih tinggi terhadap protein ini, sehingga tembaga terikat dalam bentuk yang tidak dapat diabsorpsi.<sup>12, 54, 67</sup>

Kenaikan asupan seng dan besi kemungkinan mempengaruhi absorpsi tembaga pada manusia. Kemungkinan penyebabnya yaitu lintasan transpor yang sama dalam enterosit, sehingga mereka bersaing untuk suatu pembawa yang umum. Disamping itu juga adanya teori "dorongan lawan tarik" diantara logam-logam transisi tersebut (Gambar 8). Hal pertama dari proses ini adalah memindahkan atau "menarik" logam keluar dari tempatnya berikatan, dengan menggunakan *chelator-chelator* yang memiliki afinitas tinggi. Kemungkinan lainnya adalah memaksa atau "mendorong"

logam keluar dari tempatnya berikatan menggunakan bahan kimia yang menyerupai, dalam hal ini redoks-inaktif.<sup>71, 74</sup>



Gambar 8. Mekanisme potensial seng sebagai suatu inhibitor<sup>74</sup>

Banyak kasus menunjukkan interaksi seng dan tembaga, bahkan dalam perubahan rasio yang kecil.<sup>71</sup> Penelitian dengan bayi kera yang diberi makanan formula dengan perbedaan konsentrasi seng (1 dan 4 mg/L), menunjukkan kera-kera dengan asupan seng yang lebih rendah, secara bermakna memiliki konsentrasi tembaga plasma yang lebih tinggi. Walaupun konsentrasi plasma tembaga dalam bentangan normal pada kedua kelompok, hewan dengan asupan seng yang rendah, kemungkinan dapat memacu absorpsi tembaga dibandingkan dengan asupan yang lebih tinggi.<sup>75</sup>

Efek protein hewani dibandingkan dengan protein nabati terhadap absorpsi tembaga juga pernah diteliti. Absorpsi tembaga lebih tinggi pada kelompok dengan diit protein hewani (41%) dibandingkan kelompok diit protein nabati (34%) pada perempuan yang tidak hamil.<sup>76</sup> Penelitian lainnya membandingkan tembaga pada

jaringan tikus yang diberi laktalbumin dengan tikus yang diberi protein kedelai. Retensi tembaga secara bermakna lebih rendah pada kelompok protein laktalbumin dibandingkan protein kedelai. Tidak jelas mengapa tembaga kurang diretensi dari diit laktalbumin, tetapi kemungkinan karena absorpsi seng yang lebih tinggi dari diit laktalbumin menyebabkan efek negatif terhadap absorpsi tembaga.<sup>77</sup>

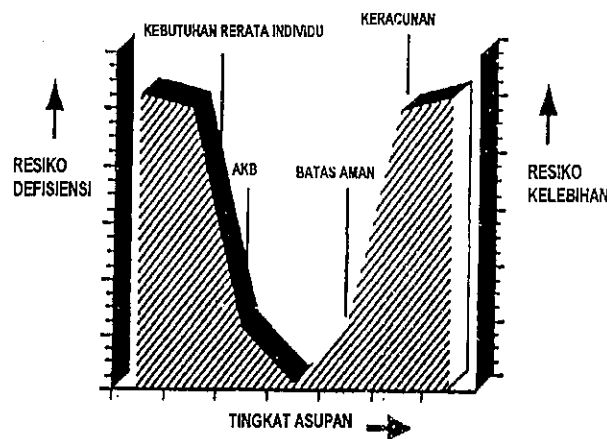
Telah diketahui dengan baik, bahwa asam askorbat mempunyai efek negatif terhadap absorpsi tembaga pada hewan percobaan, karena asam askorbat mereduksi ion *cuprous* menjadi ion *cupric* yang kurang baik diabsorpsi.<sup>70</sup> Penelitian dilakukan pada 13 pemuda dengan usia rata-rata 24 tahun, yang diberi asam askorbat selama 64 hari dengan dosis 1500 mg/hari. Serum seruloplasmin secara bermakna menurun dengan rerata 26% pada semua subyek. Hal yang hampir sama tetapi tidak bermakna, juga terjadi pada tembaga serum yang cenderung menurun. Selanjutnya terjadi peningkatan secara bermakna terhadap konsentrasi tembaga serum, 20 hari setelah suplementasi asam askorbat dihentikan.<sup>78</sup>

#### 2.4. Suplementasi Zat Gizi

Suplementasi zat gizi adalah pemberian satu atau lebih zat gizi untuk memperbaiki nilai gizi diit. Biasanya suplementasi tersebut adalah dengan mineral, vitamin, meskipun dapat juga protein, satu atau lebih asam amino dan substansi lainnya.<sup>17</sup> Suplementasi zat gizi dapat diberikan pada semua kelompok umur, dari bayi hingga usia lanjut, pria maupun perempuan. Pada kelompok rawan kekurangan

zat gizi seperti pada bayi, anak dan perempuan hamil, suplementasi zat gizi biasanya diberikan sesuai dengan angka kecukupan yang dianjurkan.

Sejalan dengan semakin meningkatnya pemberian suplemen, ahli gizi harus menentukan suatu rekomendasi minimal dan maksimal asupan dari suatu zat gizi. Suplementasi zat gizi kemungkinan justru akan meningkatkan risiko terhadap kesehatan bila terjadi konsumsi yang melebihi batas aman (Gambar 9).<sup>79</sup>



Gambar 9. Risiko relatif dan asupan harian<sup>79</sup>

Penelitian tentang pemberian satu atau lebih suplementasi zat gizimikro pada anak-anak cukup banyak dilakukan. Suplementasi zat gizimikro besi dan seng pada anak-anak merupakan yang sering diteliti, dengan alasan bahwa kedua zat gizimikro tersebut berperan sangat penting bagi pertumbuhan dan kesehatan tubuh, disamping prevalensi kekurangan yang masih tinggi.

Suplementasi besi selama tiga bulan pada anak sekolah pedesaan di Jawa Tengah berhasil meningkatkan rerata hemoglobin, jenuh transferin dan prestasi belajar anak-anak yang menderita anemia besi.<sup>80</sup> Suplementasi besi 30 mg dan 20 mg vitamin C pada anak pra sekolah yang anemia di Indonesia, menunjukkan adanya peningkatan *z-score* dari tinggi badan terhadap umur yang bermakna dibandingkan peningkatan kelompok kontrol, setelah suplementasi selama dua bulan.<sup>81</sup> Penelitian yang hampir sama di Jawa Barat pada anak pra sekolah, juga memperlihatkan bahwa suplementasi besi 30 mg/minggu selama sembilan minggu berhasil menurunkan anemia dari 37,2% menjadi 16,2%, dengan peningkatan rata-rata hemoglobin sebesar  $6,9 \pm 9,8$  g/L lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol. Hasil pengukuran antropometrinya juga menunjukkan bahwa terjadi perubahan signifikan berat badan terhadap umur (BB/U), tinggi badan terhadap umur (TB/U) dan berat badan terhadap tinggi badan (BB/TB), jika dibandingkan sebelum dan sesudah perlakuan pada kelompok yang disuplementasi.<sup>82</sup>

Suplementasi seng pada anak-anak di Amerika Selatan menunjukkan perubahan pada parameter indek komposisi tubuh.<sup>6, 83</sup> Penelitian pada 46 anak sekolah pendek (*stunted*) berusia 6 – 12 tahun yang disuplementasi seng 10 mg/hari selama satu tahun menunjukkan penambahan tinggi badan yang lebih bermakna pada kelompok anak laki-laki yang disuplementasi dibandingkan kelompok kontrol.<sup>84</sup>

Penelitian suplementasi besi, seng atau gabungan keduanya selama enam bulan pernah dilakukan pada anak pra sekolah di Meksiko. Suplemen yang diberikan

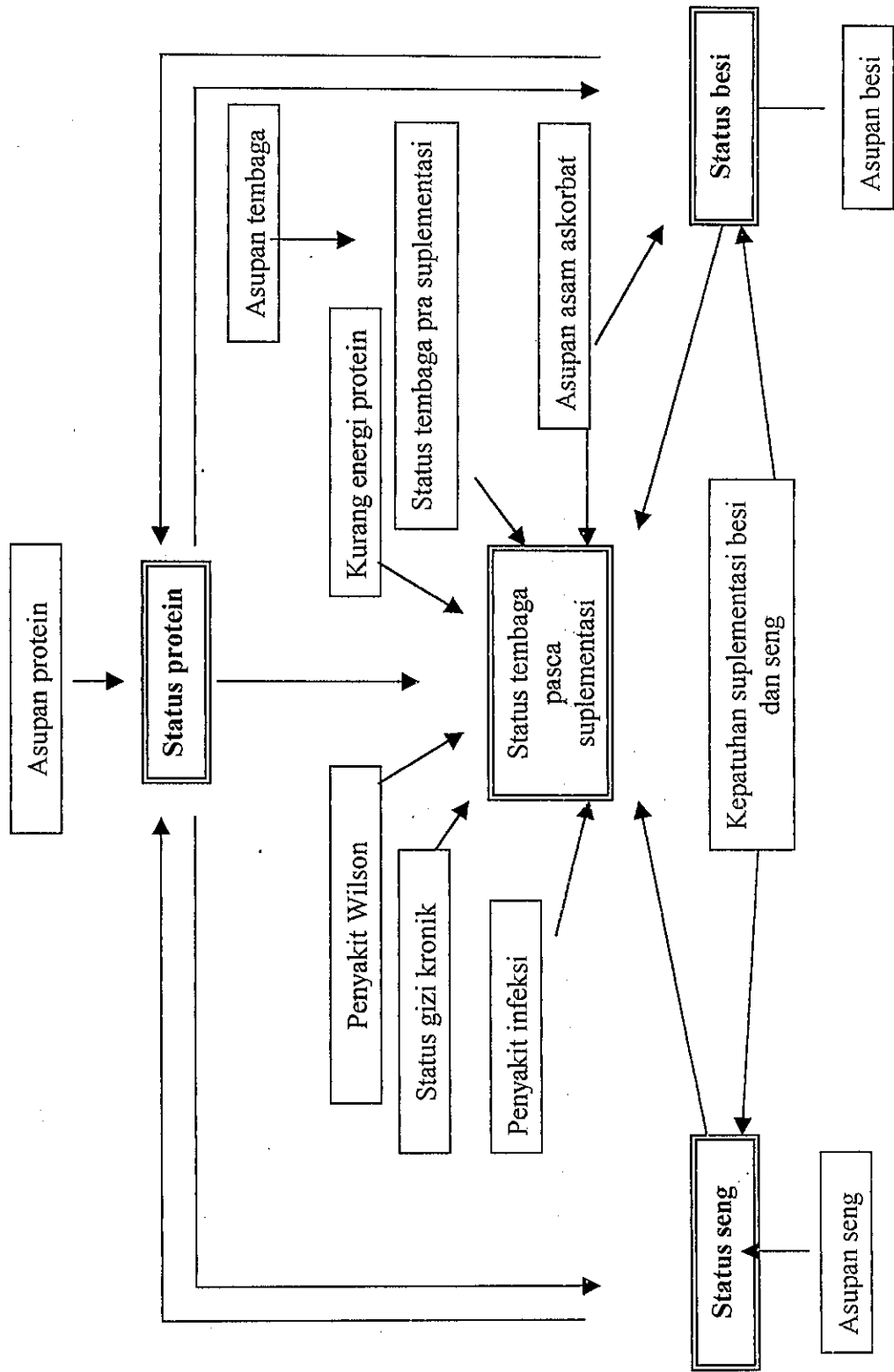
adalah besi 20 mg/hari, seng 20 mg/hari dan 20 mg besi/hari ditambah 20 mg seng/hari. Hasilnya suplementasi besi saja atau dikombinasikan dengan seng, menunjukkan konsentrasi hemoglobin dan feritin yang lebih tinggi secara bermakna dibandingkan kelompok plasebo. Sementara itu, suplementasi seng saja atau dikombinasikan dengan besi, menghasilkan konsentrasi plasma seng yang lebih tinggi secara bermakna.<sup>85</sup>

Penelitian pada anak perempuan di Vietnam yang disuplementasi zat gizimikro menunjukkan perbaikan konsentrasi hemoglobin, seng dan retinol. Suplementasi yang diberikan adalah 8 mg besi, 5 mg seng, 333 µg retinol dan 20 mg vitamin C lima hari/minggu selama tiga bulan. Konsentrasi hemoglobin, retinol dan seng pada kelompok perlakuan meningkat secara bermakna ( $p < 0,001$ ).<sup>86</sup>

## 2.5. Kerangka Teori dan Kerangka Konsep

Berdasarkan pada uraian dalam tinjauan pustaka disusun kerangka teori, yang pada dasarnya adalah ringkasan tinjauan pustaka dan diwujudkan dalam bentuk hubungan antar variabel yang secara teoritis mempengaruhi variabel terpengaruh (status tembaga tubuh). Pada bagan teori (Gambar 10) terlihat bahwa status tembaga tidak hanya tergantung dari asupan tembaga saja. Status tembaga ternyata dipengaruhi juga oleh status zat gizi lainnya seperti protein, karbohidrat, besi, seng, asam askorbat disamping beberapa penyakit.

Sesuai dengan tujuan penelitian dan keterbatasan yang ada pada penelitian ini hanya dipilih bahan tembaga serum sebagai indikator status tembaga yang merupakan

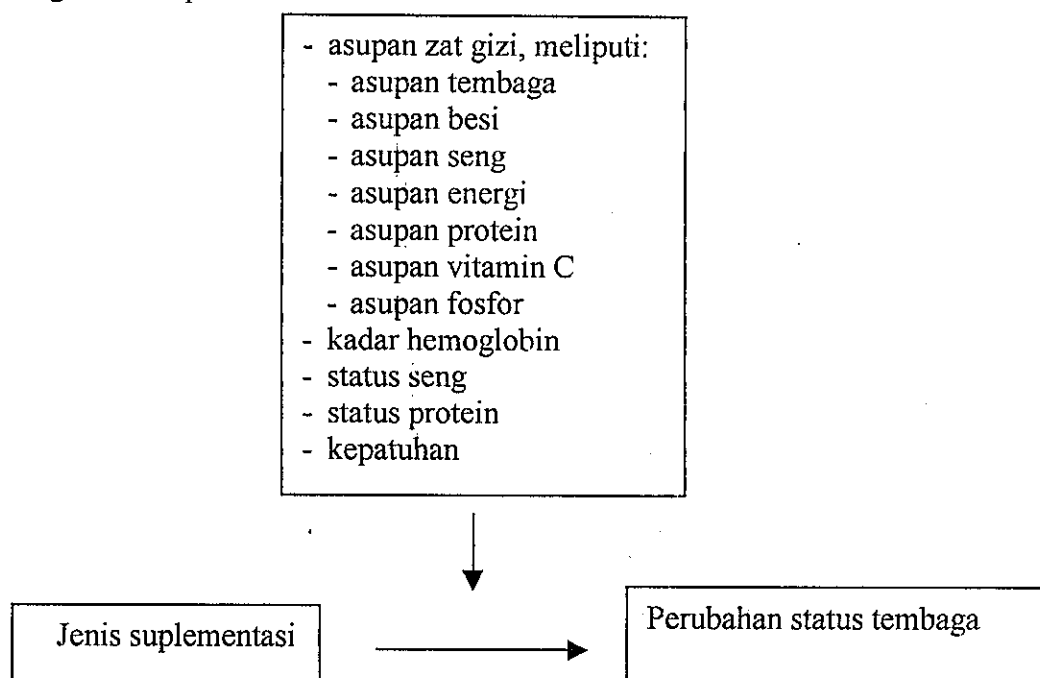


Gambar 10. Kerangka teori

variabel tergantung. Variabel-variabel kadar hemoglobin, status seng, status protein, kepatuhan sampel mengikuti suplementasi, asupan besi, seng, protein, vitamin C dan tembaga dinyatakan sebagai variabel perancu yang akan dikontrol pada tahap analisis.

Dengan demikian maka variabel-variabel yang akan diteliti adalah keadaan status tembaga, status seng, kadar hemoglobin, status protein, asupan tembaga, seng, besi, energi, protein, fosfor dan vitamin C serta kepatuhan mengikuti suplementasi dengan pola hubungan seperti disajikan dalam kerangka konsep.

#### Kerangka Konsep



## 2.6. Hipotesis Penelitian

### 2.6.1. Hipotesis mayor

Ada perbedaan pengaruh perlakuan terhadap perubahan status tembaga.

### 2.6.2. Hipotesis minor

1. Ada perbedaan status tembaga sebelum dan sesudah suplementasi pada kelompok yang diberi makanan jajanan ditambah gizimikro besi saja dengan dosis 10 mg/hari selama 13 minggu.
2. Ada perbedaan status tembaga sebelum dan sesudah suplementasi pada kelompok yang diberi makanan jajanan ditambah gizimikro seng 10 mg/hari dan besi 10 mg/hari selama 13 minggu.
3. Ada perbedaan perubahan status tembaga pasca suplementasi di antara ke tiga kelompok perlakuan.
4. Ada perbedaan perubahan status tembaga pasca suplementasi di antara ke tiga kelompok perlakuan setelah memasukkan variabel-variabel perancu sebagai kovariat.

## BAB III

### METODA PENELITIAN

#### 3.1. Rancangan Penelitian

Desain penelitian ini adalah *randomized pretest posttest control group* dengan tersamar ganda.

- I. O1 ----- T1 ----- O1a
- II. O2 ----- T2 ----- O2a
- III. O3 ----- T3 ----- O3a

Keterangan : O1, O2 dan O3 adalah status tembaga sebelum perlakuan

O1a, O2a dan O3a adalah status tembaga setelah 13 minggu perlakuan

T1 : Makanan jajanan tanpa tambahan besi maupun seng  
(selanjutnya disebut plasebo)

T2 : Makanan jajanan ditambah besi saja

T3 : Makanan jajanan ditambah besi dan seng

#### 3.2. Populasi dan Sampel

Populasi terdiri dari anak pendek yang duduk di kelas satu dan dua sekolah dasar. Kategori anak pendek berdasarkan tinggi badan/umur kurang dari - 2 SD nilai-

z dengan baku WHO/NCHS. Sampel minimal yang dibutuhkan berdasarkan rumus mencari jumlah minimal sampel dari dua kelompok berpasangan:<sup>87</sup>

$$n = (Z\beta + Z\alpha)^2 \times SB^2 / d^2$$

Keterangan :

n = jumlah sampel per kelompok perlakuan

SB = simpangan baku

$Z\alpha = 1,960$  dan  $Z\beta = 0,842$

d = perbedaan rata-rata sebesar 0,5 g/dl dengan SB 1,0 g/dl untuk Hb dan 15  
15  $\mu$ g/dl dengan SB 30  $\mu$ g/dl untuk seng serum.

Dari perhitungan rumus tersebut didapat jumlah sampel minimal adalah 36 anak per kelompok, dengan sudah mempertimbangkan *drop out* sekitar 10%.

### 3.3. Variabel Penelitian

3.3.1. Variabel bebas adalah jenis suplementasi berupa makanan jajanan tanpa tambahan gizimikro, makanan jajanan ditambah besi 10 mg/hari serta makanan jajanan dengan tambahan gizimikro seng 10 mg/hari dan besi 10 mg/hari selama 13 minggu.

3.3.2. Variabel tergantung adalah status tembaga setelah suplementasi.

3.3.3. Variabel perancu adalah :

1. Kepatuhan mengikuti suplementasi, diukur dari habisnya makanan jajanan berdasarkan catatan yang dibuat oleh guru kelas.

2. Status besi, seng dan protein setelah suplementasi
3. Asupan besi, seng, tembaga, protein dan vitamin C diukur berdasarkan metode "*quantified food frequency*".

### 3.4. Definisi Operasional

Tabel 1  
Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Skala	Satuan
<u>Variabel bebas</u>			
Jenis suplementasi	<p>Penambahan gizimikro pada makanan jajanan, meliputi</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Kelompok I makanan jajanan tanpa suplementasi gizimikro</li> <li>2. Kelompok II makanan jajanan + besi 10 mg/hari</li> <li>3. Kelompok III makanan jajanan + seng 10 mg/hari + besi 10 mg/hari, selama 13 minggu (78 hari masuk sekolah) yang diberikan secara langsung oleh guru kelas di waktu istirahat, dilarang dikonsumsi dengan teh, kopi, susu, antasid.</li> </ol>	Nominal	--
<u>Variabel terikat</u>			
Perubahan status tembaga	Perubahan keadaan tembaga seseorang yang didapatkan dari hasil pengukuran tembaga serum setelah perlakuan dikurangi dengan hasil pengukuran tembaga serum awal dengan metode AAS	Rasio	µg/dl

Variabel	Definisi Operasional	Skala	Satuan
<u>Variabel perancu</u>			
Status seng pasca suplementasi	Keadaan seng seseorang yang didapatkan dari hasil pengukuran seng serum menurut metode AAS	Rasio	$\mu\text{g/dl}$
Status besi pasca suplementasi	Keadaan besi seseorang yang didapatkan dari hasil pengukuran hemoglobin menurut metode <i>cyanmethemoglobin</i>	Rasio	$\text{g/dl}$
Status protein pasca suplementasi	Keadaan protein seseorang yang didapatkan dari hasil pengukuran albumin serum menurut metode <i>bromocresol green</i>	Rasio	$\text{g/dl}$
Asupan tembaga	Banyaknya tembaga yang dikonsumsi per anak per hari diukur dengan metode <i>quantified food frequency</i>	Interval	mg
Asupan seng	Banyaknya seng yang dikonsumsi per anak per hari diukur dengan metode <i>quantified food frequency</i>	Interval	mg
Asupan besi	Banyaknya besi yang dikonsumsi per anak per hari diukur dengan metode <i>quantified food frequency</i>	Interval	mg
Asupan protein	Banyaknya protein yang dikonsumsi per anak per hari diukur dengan metode <i>quantified food frequency</i>	Interval	g
Asupan vitamin C	Banyaknya vitamin C yang dikonsumsi per anak per hari diukur dengan metode <i>quantified food frequency</i>	Interval	mg
Asupan fosfor	Banyaknya vitamin C yang dikonsumsi per anak per hari diukur dengan metode <i>quantified food frequency</i>	Interval	mg

Variabel	Definisi Operasional	Skala	Satuan
Kepatuhan suplementasi	Persentase hari sekolah anak menghabiskan jatah makanan jajanan	Interval	%

### 3.5. Tempat dan Waktu Penelitian

Lokasi penelitian dilakukan di Kecamatan Karangawen, Kabupaten Demak, dengan mempertimbangkan prevalensi anemia ibu hamil dan balita yang tinggi di kabupaten ini. Penelitian dijadwalkan selama delapan bulan.

### 3.6. Prosedur Penelitian

Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian lebih besar yang berjudul “Suplementasi Zat Gizi Mikro untuk Penanggulangan Kependekan Tubuh dan Peningkatan Prestasi Belajar Anak Sekolah Dasar”. Semua data kecuali tembaga serum, diambil dari hasil penelitian yang lebih besar tersebut. Pengumpulan data dimulai setelah mendapat ijin penelitian dari Pemerintah Daerah (surat dari Bappeda Jawa Tengah nomor R/456/P/II/2001) dan *Ethical Clearance* dari Komisi Etika Fakultas Kedokteran UNDIP/RSDK (surat nomor 04/EC/FK/RSDK/2001).

Pendataan dilakukan di seluruh sekolah dasar negeri yang ada di Kecamatan Karangawen yang tidak pernah mendapatkan bantuan dalam bentuk pemberian makanan tambahan seperti PMT-AS ataupun bantuan susu. Kemudian, setelah didapatkan sekolah dasar yang memenuhi syarat tersebut, anak-anak kelas satu dan

dua dari seluruh sekolah dasar tersebut dilakukan pengukuran tinggi badan untuk menentukan anak pendek yang kurang dari  $-2$  SD berdasarkan nilai-z baku WHO/NCHS.

Anak pendek tersebut diberi perlakuan. Kelompok I mendapatkan makanan jajanan tanpa tambahan gizimikro (plasebo), kelompok II mendapatkan makanan jajanan dengan tambahan gizimikro besi elementer 10 mg/hari, serta kelompok III mendapatkan makanan jajanan dengan tambahan gizimikro seng elementer dan besi elementer masing-masing sebesar 10 mg/hari. Besi dan seng yang digunakan adalah besi sulfat dan seng sulfat. Ketiga kelompok perlakuan tersebut mendapatkan makanan jajanan dengan 300 kalori dan lima gram protein. Pembuatan makanan jajanan yang sudah disuplementasi tersebut dilakukan oleh Akademi Gizi Negeri Semarang. Baik peneliti maupun anak-anak yang diteliti tidak mengetahui pembagian kelompok I, II atau III (tersamar ganda), yang mengetahui hanya pihak pembuat makanan jajanan.

Data dasar (data pretest) yang dikumpulkan meliputi kadar hemoglobin, ferritin, seng serum, tembaga serum dan albumin serum. Darah vena yang diambil sebanyak lima cc. Pemeriksaan hemoglobin dengan metode cyanmethemoglobin, seng dan tembaga serum dengan AAS, ferritin serum dengan metode immunoassay, albumin serum dengan spektrofotometer. Selain itu dikumpulkan juga data karakteristik, dan konsumsi diit anak dengan kuesioner.

Suplementasi dilakukan setiap hari masuk sekolah (enam hari dalam seminggu) selama 78 hari (13 minggu) dan diawasi dengan ketat oleh guru kelas. Jatah suplementasi dimakan setiap istirahat dan dilarang dikonsumsi bersamaan dengan teh, kopi, susu atau antasid. Setiap seminggu dua kali peneliti akan datang ke lapangan untuk memonitoring proses pemberian suplementasi, dibantu tenaga Puskesmas Karangawen pada hari-hari lainnya.

Setelah suplementasi selesai, dilakukan pengambilan data tahap II (postes). Data yang dikumpulkan adalah sama dengan pengumpulan data dasar.

### 3.7. Analisis Data

#### 1. Analisis univariat.

Digunakan untuk mengetahui gambaran distribusi frekuensi dari semua variabel penelitian.

#### 2. Analisis bivariat

Untuk melihat perubahan status tembaga setelah perlakuan pada masing-masing kelompok dilakukan dengan uji *paired t test*, pada tingkat kepercayaan 95%. Uji *anova* untuk melihat apakah ada perbedaan status tembaga setelah suplementasi di antara ke tiga kelompok perlakuan, pada tingkat kepercayaan 95%.

#### 3. Analisis multivariat

Uji *anacova* untuk melihat perbedaan status tembaga setelah suplementasi di antara ke tiga kelompok dengan memperhitungkan variabel-variabel perancu sebagai kovariat, pada tingkat kepercayaan 95%.

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1. Gambaran Umum Daerah Penelitian

Kecamatan Karangawen merupakan salah satu dari 13 kecamatan yang ada di Kabupaten Demak mempunyai luas 66,96 kilometer persegi atau sekitar 7,46% dari luas keseluruhan Kabupaten Demak. Kecamatan Karangawen berada di ujung selatan wilayah Kabupaten Demak yang bersebelahan dengan Kecamatan Klepu Kabupaten Semarang di sebelah selatan dan Kecamatan Tegowanu Kabupaten Grobogan di sebelah timur. Sementara itu di sebelah utara, Kecamatan Karangawen berbatasan dengan Kecamatan Guntur dan di sebelah barat dengan Kecamatan Mranggen.

Kecamatan Karangawen terdiri dari 12 desa. Sebagian besar mata pencaharian penduduknya adalah sebagai petani. Pelayanan bidang kesehatan di Kecamatan Karangawen didukung oleh dua buah Puskesmas yaitu Puskesmas Karangawen I yang terletak di pinggir jalan raya Semarang – Purwodadi dan Puskesmas Karangawen II yang terletak di desa Tlogorejo. Pendidikan dasar di Kecamatan Karangawen dilayani oleh 41 buah sekolah dasar negeri dan dua buah sekolah lanjutan tingkat pertama negeri.

Pada saat dilakukan penelitian, di beberapa sekolah dasar sedang berjalan pemberian bantuan susu. Pemilihan sekolah dasar yang ikut pada penelitian ini adalah sekolah yang tidak mendapatkan bantuan susu.

#### 4.2. Karakteristik Sampel

Jumlah semua sampel pada awal penelitian adalah 116 anak yang tersebar di 11 sekolah dasar, namun hanya 113 yang dianalisis. Hal ini karena ada dua sampel yang salah pengukuran tinggi badannya sehingga tidak masuk kategori anak pendek dan satu sampel lagi karena kadar tembaga serumnya terlalu tinggi. Penapisan anak yang pendek dilakukan saat sampel masih duduk di kelas satu dan dua, sehingga sebagian besar sudah duduk di kelas dua (58 anak) dan tiga (52 anak) pada saat pengambilan data dasar. Hanya ada tiga anak yang masih duduk di kelas satu karena tidak naik kelas.

Rata-rata usia sampel pada pengumpulan data dasar adalah  $95,5 \pm 12,05$  bulan, terdiri dari 64 murid laki-laki (56,6%) dan 49 murid perempuan (43,4%). Setelah dikategorikan dalam tiga kelompok perlakuan maka kelompok yang menerima suplementasi tanpa gizimikro berjumlah 36 anak, kelompok suplementasi besi 38 anak dan kelompok suplementasi besi dan seng 39 anak.

Sebagian besar pekerjaan orangtua adalah sebagai petani. Pendidikan orangtua anak masih rendah. Lama sekolah ayah 0 – 6 tahun adalah 79,6% sedangkan lama sekolah ibu 0 – 6 tahun adalah 87,6%. Keadaan ekonomi orangtua sampel juga rendah. Hal ini bisa terlihat dari rata-rata pengeluaran per bulan dan keadaan rumah mereka. Rerata pengeluaran per bulan yang hanya Rp 296.000,00. Keadaan dinding rumah sebagian besar (77,2 %) terbuat bukan dari bata atau jati, sedangkan 60,5% lantai rumah seluruhnya masih dari tanah.

Rerata tinggi badan terhadap umur dan berat badan terhadap umur masing-masing adalah  $-2,678 \pm 0,4227$  dan  $-2,248 \pm 0,4578$  (Tabel 2). Meskipun semua sampel adalah anak pendek menurut umurnya, namun bila dikategorikan berdasarkan berat badan terhadap umur masih ada 29,2% anak yang normal, bahkan dengan kategori berat badan terhadap tinggi badan, hanya lima anak (4,4%) saja yang masuk kategori kurus. Hal ini menggambarkan bahwa secara sepintas anak-anak tersebut terlihat seolah-olah normal karena bentuk tubuhnya yang proporsional, padahal bila dibandingkan dengan umurnya, anak tersebut mengalami ketertinggal dalam pertumbuhan.

Tabel 2.  
Karakteristik umur dan antropometri sampel sebelum perlakuan

Variabel	Semua (n = 113)	Kel. Plasebo (n = 36)	Kel. Supl. Besi (n = 38)	Kel. Supl. Besi-Seng (n = 39)
Umur (bulan)	95,5 ± 12,05	94,5 ± 9,02	96,6 ± 14,81	95,5 ± 11,72
Tinggi badan (cm)	111,8 ± 5,08	111,1 ± 4,23	112,9 ± 6,05	111,5 ± 4,69
Berat badan (kg)	17,8 ± 2,18	17,7 ± 1,96	18,2 ± 2,56	17,6 ± 1,96
LLA (cm)	16,0 ± 0,97	16,0 ± 0,93	16,1 ± 1,08	15,9 ± 0,91
TLBK (mm)	7,4 ± 1,44	7,5 ± 1,32	7,6 ± 1,51	7,2 ± 1,47
TB / U	-2,68 ± 0,423	-2,69 ± 0,409	-2,63 ± 0,380	-2,71 ± 0,477
BB / U	-2,25 ± 0,458	-2,21 ± 0,484	-2,22 ± 0,436	-2,30 ± 0,461
BB / TB	-0,75 ± 0,710	-0,68 ± 0,849	-0,74 ± 0,653	-0,83 ± 0,629

Keterangan : LLA = Lingkar lengan atas  
 TLBK = Tebal lemak bawah kulit  
 TB/U = Tinggi badan / umur  
 BB/U = Berat badan / umur  
 BB/TB = Berat badan / umur

Gambaran kadar hemoglobin, tembaga dan albumin semua sampel sebelum suplementasi cukup baik. Rata-rata hemoglobin, tembaga serum dan albumin serum

masing-masing adalah  $12,4 \pm 0,82$  g/dL,  $126,5 \pm 23,99$   $\mu$ g/dL dan  $4,0 \pm 0,38$  g/dL. Sementara itu status seng yang dilihat dari rata-rata seng serumnya sangat rendah yaitu  $8,32 \pm 2,873$   $\mu$ g/dL. Karakteristik hasil pemeriksaan darah selengkapnya dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3.  
Karakteristik parameter biokimiawi sampel sebelum perlakuan

Variabel	Semua (n = 113)	Kel. Plasebo (n = 36)	Kel. Supl. Besi (n = 38)	Kel. Supl. Besi-Seng (n = 39)
Hemoglobin (g/dL)	$12,41 \pm 0,819$	$12,33 \pm 0,794$	$12,39 \pm 0,876$	$12,50 \pm 0,798$
Tembaga serum ( $\mu$ g/dL)	$126,5 \pm 23,99$	$124,8 \pm 23,01$	$123,2 \pm 25,67$	$131,2 \pm 23,04$
Seng serum ( $\mu$ g/dL)	$8,32 \pm 2,873$	$8,40 \pm 2,445$	$7,79 \pm 2,247$	$8,75 \pm 3,666$
Albumin serum (g/dL)	$4,0 \pm 0,38$	$3,9 \pm 0,31$	$4,0 \pm 0,50$	$4,0 \pm 0,30$

#### 4.3. Asupan Zat Gizi dan Kepatuhan Suplementasi

Rerata asupan energi, protein, tembaga, besi, fosfor dan vitamin C sampel masih rendah, sedangkan asupan seng cukup tinggi. Rerata asupan zat gizi selama suplementasi di ke tiga kelompok perlakuan dapat dilihat pada tabel 4.

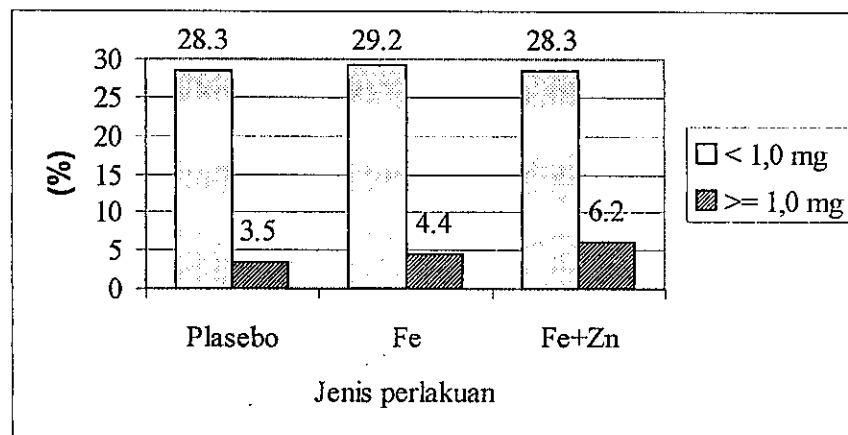
Asupan energi dan besi semua sampel di ke tiga kelompok perlakuan (100%) berada di bawah angka Kecukupan Gizi Anjuran (KGA). Hanya satu anak saja dari semua sampel yang konsumsi proteinnya di atas KGA. Sebanyak 85,8% dari semua sampel mengkonsumsi vitamin C di bawah KGA, sedangkan 79,4% mengkonsumsi fosfor juga di bawah KGA. Sebaliknya, semua sampel di ke tiga kelompok perlakuan mengkonsumsi seng di atas KGA.

Tabel 4  
Distribusi asupan zat gizi

Asupan	KGA	Kelompok perlakuan					
		Plasebo (n = 36)		Suplementasi besi (n = 38)		Suplementasi besi + seng (n = 39)	
		Rerata	SB	Rerata	SB	Rerata	SB
Energi (K)	1900	990	165,0	1034	159,4	1009	174,8
Protein (g)	37	22,6	4,87	23,5	5,37	22,7	4,78
Tembaga (mg)	1	0,84	0,134	0,86	0,143	0,86	0,153
Besi (mg)	10	6,12	1,306	6,29	1,189	6,14	1,347
Seng (mg)	20	31,1	6,38	33,3	7,40	32,9	6,60
Vit. C (mg)	45	28,1	11,77	35,4	14,19	29,7	17,93
Fosfor (mg)	400	301,1	144,45	329,6	96,17	286,9	94,12

Tidak seperti asupan zat gizi lainnya, asupan tembaga dibandingkan dengan Recommended Dietary Allowances (RDA) Amerika Serikat, mengingat belum tersedianya KGA untuk tembaga di Indonesia. RDA tembaga untuk anak-anak adalah 1,0 - 2,0 mg/hari.<sup>88</sup> Sebanyak 85,8% dari semua sampel mengkonsumsi tembaga di bawah angka kecukupan yang dianjurkan (1,0 mg/hari). Gambaran asupan tembaga pada ke tiga kelompok perlakuan dapat dilihat pada gambar 11.

Kepatuhan sampel terhadap suplementasi selama 13 minggu sangat baik (97%) dan tidak ada perbedaan kepatuhan di antara ke tiga kelompok perlakuan. Hasil kepatuhan ini relatif sama dengan kepatuhan mengikuti suplementasi di penelitian lainnya. Penelitian suplementasi besi dan seng melalui sirup selama 12 bulan pada anak prasekolah di Meksiko kepatuhannya sangat baik yaitu mencapai 97%.<sup>89</sup>



Gambar 11. Persentase sampel yang asupan tembaganya di bawah 1,0 mg /hari

Penelitian suplementasi besi dan seng lainnya pada anak prasekolah selama enam bulan di Meksiko, kepatuhannya juga sebesar 97%.<sup>85</sup> Sementara itu suplementasi gizimikro melalui biskuit selama 12 bulan pada anak sekolah di Afrika Selatan, kepatuhannya mencapai 92%.<sup>90</sup> Baiknya kepatuhan mengikuti suplementasi pada penelitian ini tidak lepas dari peran guru kelas yang mengawasi pemberiannya dengan ketat.

#### 4.4. Hemoglobin, Seng dan Albumin Serum Sebelum dan Sesudah Suplementasi

Pemeriksaan kadar hemoglobin dan albumin serum di ke tiga kelompok perlakuan sebelum suplementasi menunjukkan hasil yang cukup baik, sedangkan seng serumnya rendah (Tabel 5). Hasil uji *one way anova* tidak menunjukkan perbedaan bermakna kadar hemoglobin, seng serum dan albumin serum di antara ke tiga kelompok perlakuan pada saat sebelum suplementasi.

Rerata kadar hemoglobin dan albumin serum keseluruhan sampel ( $n = 113$ ) sesudah suplementasi cukup baik yaitu masing-masing sebesar  $12,24 \pm 0,803$  g/dL dan  $4,43 \pm 0,212$  g/dL. Sementara itu rerata seng serum keseluruhan sampel sesudah suplementasi adalah  $10,28$   $\mu$ g/dL.

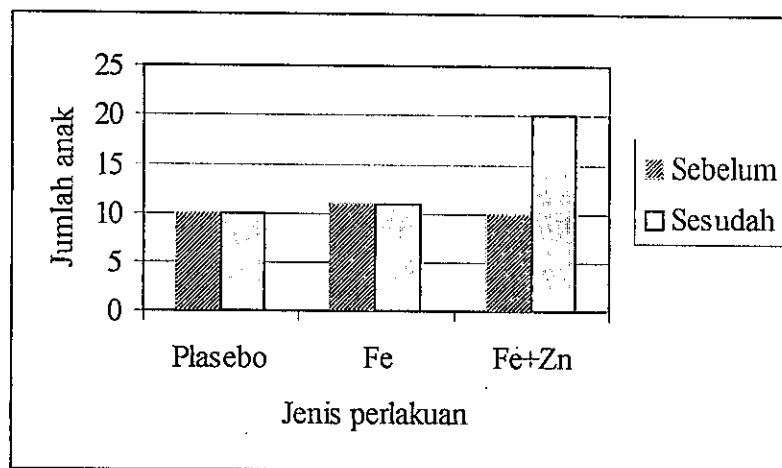
Rerata kadar albumin serum di ke tiga kelompok semuanya meningkat bermakna ( $p < 0,0001$ ) setelah suplementasi. Kadar hemoglobin sesudah perlakuan hampir tidak mengalami perubahan pada kelompok plasebo dan kelompok suplementasi besi, namun pada kelompok suplementasi besi-seng justru terjadi penurunan bermakna rerata kadar hemoglobin ( $p = 0,004$ ). Sementara itu rerata seng serum mengalami kenaikan pada semua kelompok perlakuan. Hasil pemeriksaan kadar hemoglobin, seng serum dan albumin serum sebelum dan sesudah suplementasi di ketiga kelompok dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5  
Rerata kadar hemoglobin, seng serum dan albumin serum  
sebelum dan sesudah perlakuan

Kelompok	Variabel	Awal	Akhir
Plasebo ( $n = 36$ )	Hemoglobin (g/dL)	$12,33 \pm 0,794$	$12,29 \pm 0,653$
	Seng serum ( $\mu$ g/dL)	$8,40 \pm 2,445$	$10,11 \pm 4,002$
	Albumin serum (g/dL)	$3,94 \pm 0,309$	$4,44 \pm 0,185$
Suplementasi besi ( $n = 38$ )	Hemoglobin (g/dL)	$12,39 \pm 0,876$	$12,40 \pm 0,857$
	Seng serum ( $\mu$ g/dL)	$7,80 \pm 2,247$	$10,13 \pm 4,423$
	Albumin serum (g/dL)	$4,04 \pm 0,503$	$4,41 \pm 0,266$
Suplementasi besi-seng ( $n = 39$ )	Hemoglobin (g/dL)	$12,50 \pm 0,798$	$12,02 \pm 0,843$
	Seng serum ( $\mu$ g/dL)	$8,75 \pm 3,667$	$10,59 \pm 3,928$
	Albumin serum (g/dL)	$4,03 \pm 0,301$	$4,42 \pm 0,179$

Keterangan : Nilai ambang batas hemoglobin, seng dan albumin serum masing-masing adalah  $12,0$  g/dL,  $70$   $\mu$ g/L dan  $3,5$  g/dL.

Penurunan rerata kadar hemoglobin yang bermakna pada kelompok besi-seng juga menyebabkan kejadian anemia pada kelompok tersebut meningkat dua kali lipat, dari semula hanya 10 anak menjadi 20 anak setelah perlakuan. Sementara itu pada kelompok plasebo dan suplementasi besi jumlah kejadian anemia tidak berubah. Kejadian anemia pada masing-masing kelompok sebelum dan sesudah perlakuan dapat dilihat pada gambar 12.



Gambar 12. Kejadian anemia sebelum dan sesudah perlakuan

#### 4.5. Perubahan Status Tembaga Setelah Suplementasi

Status tembaga seluruh sampel ( $n = 113$ ) sebelum suplementasi menunjukkan hasil yang baik, dengan rerata tembaga serum  $126,5 \pm 23,99 \mu\text{g/dL}$ . Rerata kadar tembaga serum awal ke tiga kelompok perlakuan adalah  $124,8 \mu\text{g/dL}$  untuk kelompok plasebo,  $123,2 \mu\text{g/dL}$  untuk kelompok suplementasi besi dan  $131,2 \mu\text{g/dL}$  untuk kelompok suplementasi besi-seng.

Tembaga serum awal ini sedikit lebih tinggi dibandingkan rerata tembaga serum anak-anak prasekolah di negara maju maupun berkembang. Hasil penelitian pada anak prasekolah berusia empat sampai lima tahun di negara maju seperti Kanada menunjukkan rerata tembaga serumnya sebesar  $122 \pm 21 \mu\text{g/dL}$ .<sup>91</sup> Penelitian pada anak prasekolah (usia dua sampai enam tahun) lainnya di negara berkembang seperti Venezuela adalah sebesar  $118 \pm 30 \mu\text{g/dL}$ .<sup>92</sup> Sementara itu hasil penelitian ini masih di bawah rerata kadar tembaga serum anak-anak berusia 1 – 14 tahun di Turki adalah  $163 \pm 37 \mu\text{g/dL}$ .<sup>93</sup>

Suplementasi yang diberikan selama 13 minggu pada ketiga kelompok perlakuan, mengakibatkan perubahan pada status tembaga. Rerata tembaga serum pada ketiga kelompok setelah perlakuan cenderung turun dibandingkan hasil tembaga serum awal, terutama kelompok yang menerima suplementasi besi dan kelompok suplementasi besi-seng. Pada kelompok suplementasi besi rerata tembaga serum akhir adalah  $106,0 \pm 28,85 \mu\text{g/dL}$  sedangkan pada kelompok suplementasi besi-seng sebesar  $112,2 \pm 34,25 \mu\text{g/dL}$ . Hasil selengkapnya tembaga serum sebelum dan sesudah suplementasi serta perubahannya dapat dilihat pada tabel 6.

Uji *paired t-test* (Tabel 6) menunjukkan terjadi perubahan rata-rata tembaga serum yang bermakna ( $\alpha = 0,05$ ) pada kelompok suplementasi besi saja ( $p = 0,002$ ) dan pada kelompok suplementasi besi-seng ( $p = 0,001$ ). Hasil uji *paired t-test* ini berarti menerima hipotesis minor pertama dan kedua yang menyatakan bahwa terjadi

perubahan status tembaga setelah perlakuan pada kelompok suplementasi besi dan kelompok suplementasi besi ditambah seng.

Tabel 6  
Perubahan rerata tembaga serum ( $\mu\text{g/dl}$ )

	Plasebo (n = 36)	Suplementasi besi (n = 38)	Suplementasi besi- seng (n = 39)
Awal	124,8 $\pm$ 23,01	123,2 $\pm$ 25,67	131,2 $\pm$ 23,04
Akhir	123,6 $\pm$ 33,82	106,0 $\pm$ 28,85	112,2 $\pm$ 34,25
Perubahan	-1,2 $\pm$ 35,39	-17,2 $\pm$ 31,14	-19,0 $\pm$ 34,25
t hitung	0,202	3,407	3,463
p	0,841	0,002	0,001

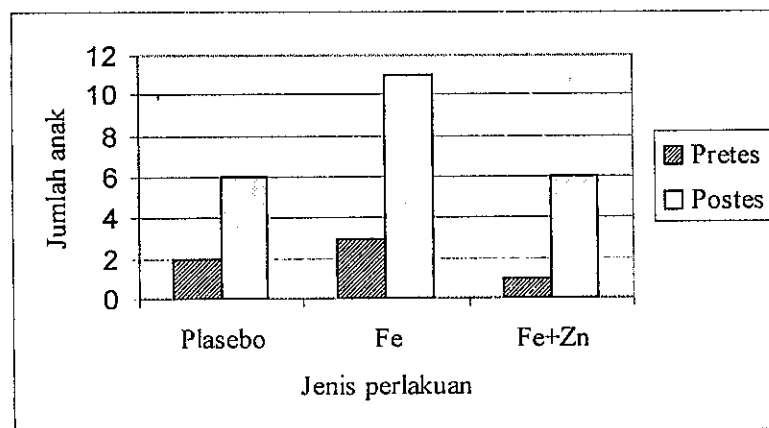
Perubahan rata-rata tembaga serum setelah suplementasi selanjutnya diuji dengan *one way anova* untuk mengetahui apakah ada perbedaan di antara ketiga kelompok tersebut. Hasilnya menunjukkan bahwa terdapat perbedaan rata-rata perubahan tembaga serum yang bermakna ( $\alpha = 0,05$ ) di antara ketiga kelompok tersebut ( $F = 3,135$ ;  $p = 0,047$ ). Hasil ini berarti menerima hipotesa minor ketiga yang menyatakan bahwa ada perbedaan perubahan status tembaga pasca suplementasi di antara ketiga kelompok.

Untuk mengetahui kelompok perlakuan mana saja yang berbeda bermakna di antara ketiga kelompok maka selanjutnya dilakukan *post hoc test*. Hasilnya (Tabel 7) menunjukkan bahwa rerata perubahan tembaga serum kelompok plasebo berbeda bermakna dengan rerata perubahan tembaga serum kelompok suplementasi besi saja ( $p = 0,043$ ) dan rerata perubahan tembaga serum kelompok suplementasi besi-seng ( $p = 0,024$ ). Sedangkan di antara kelompok suplementasi besi dengan kelompok suplementasi besi-seng tidak berbeda bermakna ( $p = 0,817$ ).

Tabel 7  
 Hasil uji *post hoc test one way anova* perubahan tembaga serum ( $\mu\text{g/dL}$ )

Perbandingan antara jenis perlakuan	Perbedaan rerata	p
Plasebo dengan suplementasi besi	16,02	0,043
Plasebo dengan suplementasi besi + seng	17,80	0,024
Suplementasi besi dengan suplementasi besi + seng	1,78	0,817

Penurunan rerata tembaga serum juga mengakibatkan penambahan jumlah anak yang mengalami defisiensi tembaga dengan nilai ambang batas  $90 \mu\text{g/dL}$ . Pada kelompok suplementasi besi, jumlah anak defisiensi tembaga yang semula hanya tiga anak bertambah hampir empat kali lipat yaitu menjadi 11 anak. Bahkan pada kelompok suplementasi besi-seng, anak yang defisiensi tembaga bertambah enam kali lipat, dari sebelum suplementasi hanya satu anak, menjadi enam anak pada akhir suplementasi. Penambahan jumlah anak yang mengalami defisiensi tembaga dapat dilihat pada gambar 13.



Gambar 13. Jumlah anak defisiensi tembaga sebelum dan sesudah perlakuan

Peningkatan jumlah anak defisiensi tembaga pada kelompok suplementasi besi-seng ternyata diikuti pula dengan semakin meningkatnya kejadian anemia pada kelompok tersebut setelah perlakuan. Penurunan bermakna kadar hemoglobin dan tembaga serum setelah perlakuan juga terjadi pada kelompok suplementasi besi-seng. Hal ini kemungkinan dapat dijelaskan bahwa penurunan status tembaga akhirnya mengganggu proses oksidasi  $Fe^{2+}$  menjadi  $Fe^{3+}$  oleh seruloplasmin pada sisi basolateral enterosit. Besi selanjutnya tidak dapat diangkut oleh transferin untuk pembentukan hemoglobin.

Penelitian pada populasi jauh berbeda dengan penelitian eksperimen di laboratorium yang melibatkan para sukarelawan untuk mengkonsumsi sejumlah dosis suplementasi. Penelitian eksperimen yang melibatkan sukarelawan menerima dosis tertentu suplementasi, asupan makanan mereka dapat diawasi setiap saat. Hal seperti itu sangat sulit dilakukan pada disain penelitian eksperimen tingkat populasi, sehingga asupan sehari-hari harus dikontrol pada saat analisis statistik.

Agar hasil pengaruh suplementasi besi dan seng terhadap perubahan status tembaga lebih mencerminkan keadaan yang sebenarnya, maka asupan perlu dimasukkan sebagai kovariat dalam analisis. Asupan protein, energi, tembaga, besi, seng, vitamin C dan fosfor selama suplementasi akan dijadikan kovariat dalam analisis berikutnya. Kepatuhan mengikuti suplementasi, kadar hemoglobin, seng serum dan albumin serum setelah suplementasi juga diikuti sebagai kovariat.

Analisis lebih jauh untuk menjawab hipotesa ke empat adalah menggunakan prosedur *General Linear Model* (GLM) dengan memasukkan beberapa kovariat

seperti asupan zat gizi, kepatuhan suplementasi, kadar hemoglobin, seng serum dan albumin serum. Hasil analisis memperlihatkan terdapat perbedaan rerata perubahan tembaga serum yang bermakna ( $\alpha = 0,05$ ) antara kelompok suplementasi besi maupun kelompok suplementasi besi-seng dengan kelompok kontrol. Hasil tersebut menyebabkan hipotesa ke empat yang menyatakan ada perbedaan perubahan status tembaga setelah dikontrol dengan kovariat diterima. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel 8  
Perbandingan perubahan tembaga serum ( $\mu\text{g/dL}$ ) setelah dikontrol dengan kovariat

Perbandingan antara jenis perlakuan	Perbedaan rerata	P
Plasebo dengan suplementasi besi	16,734	0,040
Plasebo dengan suplementasi besi + seng	16,895	0,032
Suplementasi besi dengan suplementasi besi + seng	0,161	0,984

Penurunan status tembaga kelompok suplementasi besi yang pada penelitian ini serupa dengan hasil penelitian lain, baik pada hewan coba maupun manusia. Tikus yang diberi penambahan besi pada makanannya menyebabkan penurunan absorpsi tembaga dan konsentrasi tembaga plasma.<sup>94</sup> Pada bayi manusia yang diberi tambahan besi lebih banyak juga menurunkan status tembaga.<sup>67, 69</sup> Penelitian lain menunjukkan pemberian besi 5 mg/kg berat badan pada anak-anak yang defisiensi besi selama dua minggu saja sudah dapat menurunkan tembaga serum.<sup>95</sup> Penurunan status tembaga ini kemungkinan disebabkan kompetisi antara besi dan tembaga saat proses absorpsi yang melewati protein transmembran DMT1 di sisi apical.

Penurunan status tembaga setelah suplementasi besi ditambah seng pada penelitian ini juga dijumpai pada penelitian lain. Suplementasi besi 50 mg/hari (besi sulfat) ditambah seng 50 mg/hari (seng glukonat) selama 10 minggu pada perempuan dewasa mengakibatkan turunnya status tembaga secara bermakna ( $p < 0,0001$ ). Pada penelitian tersebut status tembaga diukur dengan *erythrocyte Cu/Zn superoxide dismutase*.<sup>11</sup>

Interaksi seng dengan tembaga sangat erat. Perubahan konsentrasi seng sedikit saja dapat menekan status tembaga. Asupan seng yang meningkat dari lima mg/hari menjadi 20 mg/hari memerlukan 60% asupan tembaga yang lebih besar untuk memelihara keseimbangan antara seng dan tembaga. Bahkan peningkatan seng yang hanya tiga mg/hari sudah cukup untuk meningkatkan kehilangan tembaga dan mengganggu retensi tembaga.<sup>66</sup>

Kesamaan fisik secara kimia seperti konfigurasi elektron pada seng dan tembaga menyebabkan keduanya saling berkompetisi saat absorpsi.<sup>95, 96</sup> Interaksi tersebut terjadi pada tingkat absorpsi, karena hanya ketika seng diberikan melalui rute pencernaan saja absorpsi tembaga menurun. Konsentrasi seng yang tinggi menyebabkan sintesis metalotionin, suatu protein dengan kapasitas tinggi untuk mengikat tembaga, sehingga mengakibatkan *mucosal block* bagi absorpsi tembaga.<sup>95</sup>

Perubahan bermakna status tembaga yang terjadi pada kelompok suplementasi besi ditambah seng kemungkinan karena penambahan dua buah zat sekaligus yaitu besi dan seng. Penambahan besi dan seng tanpa diikuti penambahan tembaga yang

cukup dapat semakin menghambat absorpsi tembaga. Hal ini mengingat afinitas DMT1 terhadap besi dan seng lebih besar dibandingkan tembaga.<sup>97</sup>

Hasil penelitian ini sesuai dengan teori “dorong lawan tarik” yang menjelaskan kemampuan seng untuk menekan tembaga.<sup>74</sup> Selain itu bukti empiris lainnya pada penelitian dengan subyek orang dewasa juga mendukung hasil penelitian ini. Penambahan seng sebesar 15 mg/hari selama enam minggu telah menurunkan tembaga plasma secara bermakna ( $p < 0,001$ ).<sup>98</sup>

#### 4.6. Keterbatasan Penelitian

Penentuan status seng dan tembaga dengan menggunakan serum memiliki beberapa keterbatasan. Penggunaan serum belum dapat mencerminkan status seng dan tembaga keseluruhan pada tubuh seseorang. Selain itu serum juga dipengaruhi antara lain oleh infeksi, inflamasi dan hormon yang pada penelitian ini tidak dikendalikan.

Pengukuran asupan zat gizi pada penelitian ini juga mengalami keterbatasan. Penggunaan metoda *quantified food frequency* tidak dapat mengelakkan kemungkinan bias pada ingatan. Sampel penelitian yang masih anak-anak kelas dua dan tiga sekolah dasar menyebabkan pertanyaan konsumsi makanan ditujukan kepada orangtua sampel, sehingga asupan yang berasal dari konsumsi jajanan tidak ikut tercatat.

Salah satu keterbatasan lainnya pada penelitian ini, yaitu belum adanya daftar komposisi bahan makanan yang memuat kandungan seng dan tembaga, sehingga

perhitungannya memakai perangkat lunak komputer yang memuat daftar komposisi bahan makanan dari Amerika Serikat. Asupan seng terlihat masih lebih tinggi daripada tembaga kemungkinan karena seng sudah banyak ditambahkan pada bahan makanan dibandingkan tembaga.<sup>99</sup>

Status tembaga tidak hanya dipengaruhi oleh besi dan seng saja. Beberapa gizimikro lainnya seperti kalium, kadmium, molibdenum dan vitamin A juga turut berinteraksi. Faktor lingkungan dengan beberapa polutan seperti merkuri dan timbal juga merupakan penghambat tembaga yang pada penelitian ini tidak dikendalikan.

## BAB V

### SIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1. Simpulan

1. Rerata kadar hemoglobin, tembaga serum dan albumin serum sampel sebelum suplementasi cukup baik yaitu masing-masing  $12,41 \pm 0,819$  g/dL,  $126,5 \pm 23,99$   $\mu\text{g/dL}$  dan  $4,0 \pm 0,38$  g/dL. Setelah suplementasi rerata kadar hemoglobin, tembaga serum dan albumin serum adalah  $12,24 \pm 0,803$  g/dL,  $113,7 \pm 29,63$   $\mu\text{g/dL}$  dan  $4,4 \pm 0,21$  g/dL. Sementara itu status seng sebelum dan sesudah suplementasi adalah rendah yaitu  $8,32 \pm 2,873$   $\mu\text{g/dL}$  dan  $10,28 \pm 4,093$   $\mu\text{g/dL}$ .
2. Semua sampel asupan besinya dibawah KGA dan 85% dari sampel asupan tembaganya juga di bawah kecukupan yang dianjurkan, sedangkan asupan sengnya 100% di atas KGA.
3. Terjadi perbedaan bermakna status tembaga setelah perlakuan pada kelompok suplementasi besi ( $t = 3,407$ ;  $p = 0,002$ ) dan kelompok suplementasi besi ditambah seng ( $t = 3,463$ ;  $p = 0,001$ ).
4. Ada perbedaan bermakna perubahan status tembaga setelah suplementasi antara kelompok suplementasi besi dengan kontrol ( $p = 0,043$ ) dan kelompok suplementasi besi ditambah seng dengan kontrol ( $p = 0,024$ ). Sedangkan di antara kelompok suplementasi besi dengan kelompok suplementasi besi-seng tidak berbeda bermakna ( $p = 0,817$ ).

5. Ada perbedaan bermakna perubahan status tembaga antara kelompok suplementasi besi dengan kontrol ( $p = 0,040$ ) dan kelompok suplementasi besi ditambah seng dengan kontrol ( $p = 0,032$ ), meskipun beberapa variabel perancu telah dimasukkan sebagai kovariat. Sedangkan di antara kelompok suplementasi besi dengan kelompok suplementasi besi-seng tidak berbeda bermakna ( $p = 0,984$ ).

## 5.2. Saran

1. Perlu kehati-hatian dalam memberikan suplementasi terutama bila suplementasi tersebut diprogram untuk menjangkau masyarakat luas.
2. Penelitian lebih lanjut terhadap interaksi gizimikro dengan menggunakan indikator yang lebih mencerminkan status sebenarnya.

## BAB VI

### RINGKASAN

Defisiensi besi dan seng banyak terjadi di Indonesia, terutama pada kelompok rawan seperti anak-anak. Salah satu upaya untuk mengatasinya adalah dengan suplementasi besi dan seng. Hasil penelitian pada bayi dan orang dewasa menunjukkan bahwa suplementasi besi dan seng pada dosis tertentu dapat menekan status tembaga. Hal ini mendorong untuk meneliti apakah suplementasi besi dan seng pada dosis 10 mg/hari melalui makanan jajanan akan berpengaruh terhadap status tembaga anak pendek sekolah dasar.

Tembaga, besi dan seng sangat penting untuk tubuh. Mereka terlibat dalam regulasi ekspresi gen dan berfungsi dalam pertahanan tubuh. Besi berperan penting dalam pembentukan sel darah merah dan transport oksigen. Sementara itu tembaga dan seng adalah sebagai bagian dari sejumlah protein, termasuk di dalamnya banyak enzim-enzim penting.

Absorpsi tembaga, besi dan seng dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain seperti keadaan fisiologi tubuh, asupan, status dalam tubuh dan keseimbangan ke tiga zat tersebut dalam tubuh. Berbagai penelitian baik pada hewan coba maupun manusia telah menunjukkan adanya interaksi antara tembaga, besi dan seng. Apabila salah satu dari ke tiga zat tersebut terdapat dalam konsentrasi yang lebih banyak dalam tubuh, maka dapat mengganggu keseimbangan dan metabolisme tubuh.

Interaksi tersebut dapat terjadi karena tembaga, besi dan seng mempunyai jalur absorpsi yang sama. Sifat kimia dan konfigurasi elektron yang mirip kemungkinan menyebabkan ke tiga zat tersebut terikat dan dibawa oleh *carrier* yang sama. DMT1 yang merupakan jalur masuk besi, ternyata juga digunakan oleh logam-logam lainnya seperti seng dan tembaga. Interaksi juga dapat terjadi ketika defisiensi suatu mineral mempengaruhi metabolisme mineral lainnya, contohnya seperti defisiensi tembaga yang menyebabkan anemia defisiensi besi.

Penelitian ini menggunakan desain *randomized pretest posttest control group* dengan tersamar ganda. Sampel adalah anak pendek berdasarkan tinggi badan kurang dari  $-2$  SD nilai-z dengan baku WHO/NCHS. Jumlah sampel adalah 113 yang dibagi ke dalam tiga kelompok perlakuan yaitu kelompok plasebo, kelompok suplementasi besi dan kelompok suplementasi besi ditambah seng. Kelompok plasebo hanya menerima makanan jajanan saja (300 kalori dan lima gram protein), kelompok suplementasi besi menerima seperti kelompok plasebo ditambah besi 10 mg/hari, sedangkan kelompok besi ditambah seng adalah menerima seperti kelompok besi namun masih ditambah seng 10 mg/hari. Suplementasi diberikan di sekolah selama 13 minggu dengan pengawasan ketat oleh guru kelas masing-masing.

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah perubahan status tembaga yang diukur berdasarkan tembaga serum sesudah perlakuan dikurangi tembaga serum sebelum perlakuan. Beberapa variabel perancu seperti asupan zat gizi, kepatuhan mengikuti suplementasi, kadar hemoglobin, seng serum dan albumin serum ikut dikendalikan dalam penelitian.

Hasil penelitian menunjukkan adanya perubahan bermakna status tembaga setelah perlakuan pada kelompok suplementasi besi ( $p = 0,002$ ) dan kelompok suplementasi besi ditambah seng ( $p = 0,001$ ). Perubahan status tembaga berbeda bermakna antara kelompok suplementasi besi dengan kelompok kontrol ( $p = 0,043$ ) dan antara kelompok suplementasi besi-seng dengan kelompok kontrol ( $p = 0,024$ ), sedangkan antara kelompok suplementasi besi dengan kelompok suplementasi besi-seng tidak berbeda bermakna ( $p = 0,817$ ). Setelah dikontrol dengan beberapa kovariat, tetap ada perbedaan bermakna perubahan status tembaga antara kelompok suplementasi besi dengan kelompok kontrol ( $p = 0,040$ ) dan antara kelompok suplementasi besi ditambah seng dengan kelompok kontrol ( $p = 0,032$ ). Sedangkan antara kelompok suplementasi besi dengan kelompok suplementasi besi-seng tidak berbeda bermakna ( $p = 0,984$ ).

## DAFTAR PUSTAKA

1. Utari DM, Rustiawan A, Irawati A. Potret status anemia anak sekolah dasar yang mengikuti program makanan tambahan anak sekolah serta hubungannya dengan faktor gizi dan kesehatan. *Gizi Indon* 1998; 23: 90-96.
2. Suharyo H. Pemetaan anemia gizi dan faktor-faktor determinan pada ibu hamil dan anak balita di Jawa Tengah. *Kerjasama Pusat Penelitian Kesehatan Universitas Diponegoro dengan Kanwilkes Tingkat I Propinsi Jawa Tengah*. 1999; 3.
3. Satoto. Zinc deficiency among Indonesian children. Childhood malnutrition: its consequences and management. Joint symposium between department of nutrition & department of paediatrics faculty of medicine, Sebelas Maret University and the centre for human nutrition, University of Sheffield, UK. Surakarta. 2001: 4-5.
4. Sudjono M, Triwinarto A, Irawati A. Kualitas makanan jajanan program makanan tambahan anak sekolah. *Gizi Indon* 1998; 23: 33-42.
5. Saidin M dkk. Pengaruh pemberian tablet besi satu kali seminggu terhadap status Hb dan status besi anak sekolah penerima PMT-AS. *Penel Gizi Makan* 1999; 22: 95-102.
6. Castilo-Duran C, Heresi G, Fisberg M, Uauy R. Controlled trial of zinc supplementation during recovery from malnutrition: effect on growth and immune function. *Am J Clin Nutr* 1987; 45: 602-608.
7. Riyadi H. Pengaruh suplementasi seng (Zn) dan besi (Fe) terhadap pertumbuhan pada anak 6-24 bulan. Seminar hasil-hasil penelitian bagian proyek pengembangan kesehatan dan gizi masyarakat. Dit.Binlitabmas, Ditjen Dikti-Depdiknas, Jakarta. 2000: 13.
8. Sandstrom B, Walter P. The significance of trace elements for human health and well-being. Dalam *The Role of Trace Elements for Health Promotion and Disease Prevention*. *Bibl Nutr Dieta*. Basel. Karger. New York. 1998. No 54; 1-7.
9. Uauy R, Olivares M, Gonzalez M. Essentiality of copper in humans. *Am J Clin Nutr* 1998; 67:952S-9S.

10. WHO. Trace Element in Human Nutrition and Health. Macmillan/Ceuterick. Geneva. 1996: 72-101, 123-139.
11. Yadrick MK, Kenney MA, Winterfeldt EA. Iron, copper, and zinc status: response to supplementation with zinc or zinc and iron in adult females. *Am J Clin Nutr* 1989; 49: 145-150.
12. Fischer PW, Giroux A, L'Abbe MR. Effect of zinc supplementation on copper status in adult man. *Am J Clin Nutr* 1984; 40: 743-746.
13. Muhilal, Jalal F, Hardinsyah. Angka kecukupan gizi yang dianjurkan. Dalam *Widyakarya Nasional Pangan & Gizi VI*. LIPI. Jakarta. Indonesia. 1998: 843-879.
14. O'Brien KO, Zavaleta N, Caulfield LE, Yang DX, Abrams SA. Influence of prenatal iron and zinc supplements on supplemental iron absorption, red blood cell iron incorporation, and iron status in pregnant Peruvian women. *Am J Clin Nutr* 1999; 69:509-15.
15. Whitney EN, Cataldo CB, Rofles SR. *Understanding Normal and Clinical Nutrition*. Second edition. West Publishing Company. New York. 1987: 408-427.
16. Griffiths WJH, Kelly AL, Cox TM. Inherited disorders of iron storage and transport. *Molecular medicine today*. 1999. Vol. 5: 431-438.
17. Ensminger AH, Ensminger ME, Konlande JE, Robson JRK. *The Concise Encyclopedia of Foods & Nutrition*. CRC Press. Boca Raton 1995: 588-591.
18. Tobin BW, Beard JL. Iron. Dalam Wolinsky I & Driskell JA. *Sports Nutrition, Vitamin and Trace Elements*. Boca Raton: CRC Press, 1997: 137-156.
19. de Mayer. Pencegahan dan Pengawasan Anemia Defisiensi Besi. WHO. Jenewa. Diterjemahkan oleh Ronardy DH. Widya Medika. Jakarta. Indonesia. 1993: 11-18.
20. Czajka-Narins DM. Minerals. Dalam Krause's *Food, Nutrition and Diet Therapy*. WB Saunders Co. Philadelphia. USA. 1992: 118-128.
21. Brody T. *Nutritional Biochemistry*. Academic Press. California. USA. 1994: 527-544.

22. Wood RJ, Han O. Recently identified molecular aspects of intestinal iron absorption. *J. Nutr.* 1998; 128: 1841-1844.
23. Fairbanks VF. Iron in medicine and nutrition. Dalam *Modern Nutrition in Health and Disease*. 9<sup>th</sup> ed. Lippincott Williams & Wilkins. Maryland. USA. 1999: 193-221.
24. Nixon P. Iron transport, storage and overload. GMC Biochemistry Home Page. Biochemistry Departement. The University of Queensland. Australia. 2000. [http://biosci.uq.edu.au/GMC/iron ovr 00.html](http://biosci.uq.edu.au/GMC/iron%20ovr%2000.html).
25. Roy CN, Enns CA. Iron homeostasis: new tales from the crypt. *Blood*. 2000; 96: 4020-4027.
26. Beard JL. Iron biology in immune function, muscle metabolism and neuronal functioning. *J. Nutr.* 2001; 131: 568S-580S.
27. Berdanier CD. *Advanced Nutrition Micronutrients*. CRC Press New York. USA. 1998: 183-203.
28. INACG. *Anemia, iron deficiency and iron deficiency anemia*. ILSI. Washington D.C. USA. 2002: 2.
29. Mahan LK and Arlin MT. *Krause's Food, Nutrition and Diet Therapy*. WB Saunders Co. Philadelphia. USA. 1992: 557-562.
30. Gibson RS. *Nutritional Assessment. A Laboratory Manual*. Oxford University Press. New York. USA. 1993: 143-154.
31. WHO. *Iron deficiency anaemia: assessment, prevention and control: a guide for programme managers*. Macmillan/Ceuterick. Geneva. 2001: 7-10.
32. Gibson RS. *Principles of Nutritional Assessment*. Oxford University Press. New York. 1990: 349-376, 511-576.
33. Claudio VS, Laqua RT. *Nutrition and Diet Therapy Dictionary*. Third edition. Chapman & Hall. New York. 1991: 111.
34. UNICEF/UNU/WHO/MI. *Preventing Iron Deficiency in Women and Children*. International Nutrition Foundation. New York. 1998: 10.

35. Townsend CE. Nutrition & Diet Therapy. Fourth edition. Delmar Publisher Inc. 1985: 46-55.
36. King JC, Keen CL. Zinc. Dalam Modern Nutrition in Health and Disease. 9<sup>th</sup> ed. Lippincott Williams & Wilkins. Maryland. USA. 1999: 223-239.
37. Lukaski HC. Zinc. Dalam Wolinsky I & Driskell JA. Sports Nutrition, Vitamin and Trace Elements. Boca Raton: CRC Press, 1997: 157-173.
38. Whittaker P. Iron and zinc interaction in human. Am J Clin Nutr 1998; 68: 442S-446S.
39. King JC, Shames DM, Woodhouse LR. Zinc homeostasis in humans. J. Nutr. 2000; 130: 1360S-1366S.
40. Cousins RJ, Hempe JM. Zinc. Dalam Present Knowledge in Nutrition. Sixth edition. ILSI Press. Washington D.C. USA. 1990: 251-260.
41. Scholmerich J, et al. Bioavailability of zinc from zinc-histidine complexes I. Comparison with zinc sulfate in healthy men. Am J Clin Nutr 1987; 45: 1480.
42. McMahon RJ, Cousins RJ. Regulation of the zinc transporter ZnT-1 by dietary zinc. Proc. Natl. Acad. Sci. 1998; 95: 4841-4846.
43. Cousins RJ, McMahon RJ. Integrative aspects of zinc transporters. J. Nutr. 2000; 130: 1384S-1387S.
44. Liuzzi JP, Blanchard RK, Cousins RJ. Differential regulation of zinc transporter 1, 2, and 4 mRNA expression by dietary zinc in rats. J. Nutr. 2001; 131: 46-52.
45. Shankar AH, Prasad AS. Zinc and immune function: the biological basis of altered resistance to infection. Am J Clin Nutr 1998; 68: 447S-63S.
46. Fraker PJ, King LE, Laakko T, Vollmer TL. The dynamic link between the integrity of the immune system and zinc status. J. Nutr. 2000; 130: 1399S-1406S.
47. Hambidge M. Human zinc deficiency. J. Nutr. 2000; 130: 1344S-1349S.
48. Black MM. Zinc deficiency and child development. Am J Clin Nutr 1998; 68: 464S-9S.

49. Rink L, Kirchner H. Zinc-altered immune function and cytokine production. *J. Nutr.* 2000; 130; 1407S-1411S.
50. Wood RJ. Assessment of marginal zinc status in humans. *J. Nutr.* 2000; 130; 1350S-1354S.
51. Brown KH. Effect of infection on plasma zinc concentration and implications for zinc status assessment in low-income countries. *Am J Clin Nutr* 1998; 68: 425S-9S.
52. Turnlund JR. Copper. Dalam *Modern Nutrition in Health and Disease*. 9<sup>th</sup> ed. Lippincott Williams & Wilkins. Maryland, USA. 1999; 241-252.
53. Reeves PG. Copper. Dalam Wolinsky I & Driskell JA. *Sports Nutrition, Vitamin and Trace Elements*. Boca Raton: CRC Press, 1997: 157-173.
54. Linder MC, Hazegh-Azam M. Copper biochemistry and molecular biology. *Am J Clin Nutr* 1996; 63: 797-811.
55. Turnlund JR. Human whole-body copper metabolism. *Am J Clin Nutr* 1998; 67: 960S-4S.
56. Jensen LT, Winge DR. Identification of a copper-induced intramolecular interaction in the transcription factor Mac1 from *Saccharomyces cerevisiae*. *EMBO J.* 1998; 17: 5400-5408.
57. Zhou B, Gitschier J. hCTR1: a human gene for copper uptake identified by complementation in yeast. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1997; 94: 7481-7486.
58. Nelson N. Metal ion transporters and homeostasis. *EMBO J.* 1999; 18: 4361-4371.
59. Winzerling JJ, Law JH. Comparative nutrition of iron and copper. *Annu. Rev. Nutr.* 1997; 17: 501-34.
60. Culotta VC et al. Intracellular pathways of copper trafficking in yeast and humans. *Adv Exp Med Biol.* 1999; 448: 247-54.
61. Jungmann J et al. MAC1, a nuclear regulatory protein related to Cu-dependent transcription factors is involved in Cu/Fe utilization and stress resistance in yeast. *EMBO J* 1993; 12: 5051-5056.

62. Eisenstein RS. Discovery of the ceruloplasmin homologue hephaestin: new insight into the copper/iron connection. *Nutrition Reviews*. 2000; Vol. 58, No. 1: 22-26.
63. Percival SS. Copper and immunity. *Am J Clin Nutr* 1998; 67: 1064S-8S.
64. Milne DB. Copper intake and assessment of copper status. *Am J Clin Nutr* 1998; 67: 1041S-5S.
65. Cordano A. Clinical manifestations of nutritional copper deficiency in infants and children. *Am J Clin Nutr* 1998; 67: 1012S-6S.
66. Wapnir RA. Copper absorption and bioavailability. *Am J Clin Nutr* 1998; 67: 1054S-60S.
67. Haschke F et al. Effect of iron fortification of infant formula on trace mineral absorption. Dalam Lonnerdal B. Iron-zinc-copper interactions. *Micronutrient interactions: impact on child health and nutrition*. ILSI Press. Washington D.C. USA. 1998: 3-10.
68. Smith CH, Bidlack WR. Interrelationships of dietary ascorbic acid and iron on tissue distribution of ascorbic acid, iron and copper in female guinea pigs. Dalam Lonnerdal B. Bioavailability of copper. *Am J Clin Nutr* 1996; 63: 821-829.
69. Lonnerdal B, Hernell O. Iron, zinc copper and selenium status of breast-fed infants and infants fed trace element fortified milk-based infant formula. Dalam Lonnerdal B. Iron-zinc-copper interactions. *Micronutrient interactions: impact on child health and nutrition*. ILSI Press. Washington D.C. USA. 1998: 3-10.
70. Lonnerdal B. Bioavailability of copper. *Am J Clin Nutr* 1996; 63: 821-829.
71. Lonnerdal B. Iron-zinc-copper interactions. *Micronutrient interactions: impact on child health and nutrition*. ILSI Press. Washington D.C. USA. 1998: 3-10.
72. Watts DL. Trace elements and other essential nutrients. *Writer's BLOCK*, Dallas. USA. 1997: 78-95.
73. Beshgetoor D, Hambidge, M. Clinical conditions altering copper metabolism in humans. *Am J Clin Nutr* 1998; 67: 1017S-21S.
74. Powell SR. The antioxidant properties of zinc. *J. Nutr* 2000; 130; 1447S-1454S.

75. Polberger S et al. Effect of infant formula zinc and iron level on zinc absorption, zinc status, and immune function in infant rhesus monkeys. Dalam Lonnerdal B. Iron-zinc-copper interactions. Micronutrient interactions: impact on child health and nutrition. ILSI Press. Washington D.C. USA. 1998: 3-10.
76. Turnlund JR, Swanson CA, King JC. Copper absorption and retention in pregnant women fed diets based on animal and plant proteins. *J Nutr* 1983; 113: 2346-2352.
77. Greger JL, Mulvaney J. Absorption and tissue distribution of zinc, iron and copper by rats fed diets containing lactalbumin, soy and supplemental sulfur-containing amino acids. *J Nutr* 1985; 115: 200-210.
78. Finley EB, Cerklewski FL. Influence of ascorbic acid supplementation on copper status in young adult men. *Am J Clin Nutr* 1983; 37: 553-556.
79. Zeisel SH. Is there a metabolic basis for dietary supplements? *Am J Clin Nutr* 2000; 72: 507-511
80. Soemantri AG, Pollitt E, Kim I. Iron deficiency anemia and educational achievement. *Am J Clin Nutr* 1985; 42: 1221-1228.
81. Angeles-Agdeppa I, Schultink W, Sastroamidjojo S, Gross R, Karyadi D. Weekly micronutrient supplementation to build iron stores in female Indonesian adolescents. *Am J Clin Nutr* 1997; 66: 177-183.
82. Palupi L, Schultink W, Achadi E, Gross R. Effective community intervention to improve hemoglobin status in preschoolers receiving once-weekly iron supplementation. *Am J Clin Nutr* 1995; 65: 1057-1061.
83. Cavan KD, Gibson RS, Grazioso CF, Isalgue AM, Ruz M, Solomon NW. Growth and body composition of periurban Guatemalan children in relation to zinc status: a longitudinal zinc intervention trial. *Am J Clin Nutr* 1993; 57: 344-352.
84. Ruz M. Trace element intake and nutrition in Latin America. In *Nutrition in a sustainable environment. Proceedings of the XVth International Congress of Nutrition*. Smith-Gordon UK. 1994: 296-300.
85. Munoz EC, Rosado JL, Lopez P, Furr HC, Allen LH. Iron and zinc supplementation improves indicators of vitamin A status of Mexican preschoolers. *Am J Clin Nutr* 2000; 71: 789-794.

86. Thu BD, Schultink W, Dillon D, Gross R, Leswara ND, Khoi HH. Effect of daily and weekly micronutrient supplementation on micronutrient deficiencies and growth in young Vietnamese children. *Am J Clin Nutr* 1999; 69: 80-86.
87. Madiyono B dkk. Perkiraan besar sampel. Dalam Sastroasmoro S, Ismael S. *Dasar-dasar Metodologi Penelitian Klinis*. Binarupa Aksara. Jakarta. Indonesia. 1995: 187-212.
88. Food and Nutrition-Board National Research Council. Recommended dietary allowances. 10<sup>th</sup> ed. National Academy Press. Washington DC. USA. 1989: 284.
89. Rosado JL, Lopez P, Munoz E, Martinez H, Allen LH. Zinc supplementation reduced morbidity, but neither zinc nor iron supplementation affected growth or body composition of Mexican preschoolers. *Am J Clin Nutr* 1997; 65: 13-9.
90. Stuijvenberg MT et al. Effect of iron-, iodine- and  $\beta$ -carotene- fortified biscuits on the micronutrient status of primary school children: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr* 1999; 69: 497-503.
91. Smith-vanderkooy PD, Gibson RS. Food consumption patters of Canadian preschool children in relation to zinc and growth status. *Am J Clin Nutr* 1987; 45: 609-16.
92. Brunetto MR et al. Serum trace elements and fat-soluble vitamin A and E in healthy preschool children from a Venezuelan rural community. *J Trace Elem Med Biol* 1999; 13: 40-50.
93. Ece A, Ulyanik BS, Iscan A, Ettan P, Yigitoglu MR. Increased serum copper and decreased serum zinc level in chihldren with iron deficiency anemia. *Biol Trace Elem Res* 1997; 59: 31-9.
94. Yu S, West CE, Beynen AC. Increasing intakes of iron reduce status, absorption and billiary excretion of copper in rats. *Br J Nutr* 1994; 71(6): 887-95.
95. Lonnerdal B. Copper nutrition during infancy and childhood. *Am J Clin Nutr* 1998; 67: 1046S-53S.
96. Sandstead HH. Requirements and toxicity of essential trace elements, illustrated by zinc and copper. *Am J Clin Nutr* 1995; 61: 621S-4S.

97. Gunshin H et al. Cloning and characterization of mammalian proton-coupled metal-ion transporter. *Nature* 1997; 388(6641): 482-8.
98. Abdulla M, Suck C. Blood level of copper, zinc and lead in adults in India and Pakistan and the effect of oral zinc supplementation for six weeks. *Biol Trace Elem Res* 1998; 61(3): 323-31.
99. Johnson MA, Smith MM, Edmonds JT. Copper, iron, zinc and manganese in dietary supplements, infant formulas and ready-to-eat breakfast cereals. *Am J Clin Nutr* 1998; 67: 1035S-40S.