

Pengaruh Diet Tinggi Serat Pangan terhadap Absorpsi Fe dan Efisiensi Regenerasi Hb *Rattus norvegicus*

Leny Yuanita

Jurusan Kimia FMIPA Universitas Negeri Surabaya

ABSTRACT

The aim of the study were to find: 1) The effect of high intakes of dietary fiber on iron absorption and haemoglobin regeneration efficiency percentages, through combination of pH 4 and 7 with length of boiling time of 0 (raw), 5, 15, and 25 minutes. 2) The role of iron binding to dietary fiber on haemoglobin regeneration efficiency. The experiment involved yard long beans and 110 of male *Rattus norvegicus* (Wistar strains) as dietary fiber sources and animal model respectively.

The results revealed that: 1) High intakes of yard long bean fiber will decreased iron absorption and haemoglobin regeneration efficiency. pH, boiling time and its interaction affected on iron absorption and haemoglobin regeneration efficiency ($p < 0,05$). On dietary fiber treatment, the highest iron absorption and haemoglobin regeneration efficiency at raw- pH 4 were higher than standard feeding treatment; while the lowest at pH 7- boiling time 5 minutes treatment. The treatment's results at raw-pH 7 and pH4- boiling time 25 minutes were identical with standard feeding treatment. 2) An increase and decrease of boiling time and pH respectively increased iron absorption and haemoglobin regeneration efficiency, due to a decrease of iron binding to dietary fiber. The same results also occurred with non boiling treatment (raw condition) due to the role of exchanger substances on iron non heme absorption.

Key words: dietary fiber, iron absorption, haemoglobin regeneration efficiency, pH, boiling time

PENGANTAR

Sayur merupakan salah satu sumber utama serat pangan bagi masyarakat Indonesia, dan kacang panjang (*Vigna sesquipedalis* (L.) Fruhw) merupakan salah satu jenis sayur dengan kadar serat pangan total yang tinggi (49,47% bobot kering) (Muchtadi, 2000). Kesukaan individu dalam mengkonsumsi kacang panjang adalah berbeda, yaitu tanpa pemasakan sebagai lalapan, melalui pemasakan dengan tingkat kematangan tertentu yang tergantung pada suhu dan lama pemasakan, maupun dengan bermacam derajat keasaman.

Diet tinggi serat pangan mengakibatkan efek fisiologis yang positif dan negatif; salah satu efek negatif adalah ketidaktersediaan mineral untuk diabsorpsi. Di antara beberapa pengaruh sifat fisiko-kimia serat pangan, pengikatan mineral Fe oleh makromolekul serat pangan merupakan penyebab utama penurunan absorpsi Fe. Menurut Idourine *et al.* (1996), afinitas pengikatan kation oleh molekul komponen serat pangan dipengaruhi oleh pH medium, sumber, tipe serat, konsentrasi serat dan mineral, proses pengolahan, dan adanya zat yang menghambat atau meningkatkan pengikatan mineral. Fe hem diabsorpsi pada mukosa usus sebesar 5–35%; sedangkan Fe bukan hem hanya 2–20%, tergantung pada status Fe individu dan perbandingan penghambat dan pendorong absorpsi dalam bahan pangan. Besarnya Fe yang diabsorpsi pada individu anemia defisiensi Fe akan menentukan persentase efisiensi regenerasi hemoglobin (HRE).

Komponen utama serat pangan pada sayur dan buah adalah selulosa, hemiselulosa, lignin dan senyawa pektat; masing-masing komponen serat pangan ini mempunyai efek fisiologis berbeda, yang disebabkan perbedaan sifat fisika dan kimianya. Pada proses pemasakan terjadi berbagai perubahan komponen dinding sel tanaman antara lain: 1) denaturasi protein dan degradasi senyawa pektat pada pH netral, 2) hidrolisis ikatan glikosidik hemiselulosa dan senyawa pektat pada pH asam, 3) enolisasi monosakarida pada pH alkalis, dan 4) reaksi antarkonstituen dinding sel. Hal ini berarti bahwa pemasakan dengan berbagai derajat keasaman medium mempengaruhi komposisi dan struktur kimia komponen serat pangan, sehingga berakibat pada perubahan sifat fisiko-kimia serat pangan.

Pemasakan juga berpengaruh terhadap senyawa Fe; seperti dikemukakan oleh Latunde-Dada dan Neale (1986), bahwa pengolahan bahan pangan akan mempengaruhi bentuk kimia Fe dalam ikatannya dalam berbagai senyawa, dan kemudian akan berpengaruh terhadap ketersediaannya untuk diabsorpsi. Kacang panjang mengandung berbagai konstituen yang dapat berikatan dengan Fe, antara lain monosakarida, protein, asam-asam organik dan fitat. Hasil ikatan antara Fe dengan konstituen tersebut memberi pengaruh terhadap pengikatan Fe oleh serat pangan sehingga menghambat atau mendorong absorpsi Fe bukan hem.

Komponen serat pangan dapat berikatan dengan Fe membentuk kompleks kelat melalui ikatan koordinasi dengan oksigen dari hidroksil, karboksil, karbonil dan

oksigen glikosidik. Gugus fungsional hidroksil dan karboksil mempunyai sifat ionisasi yang spesifik pada kondisi asam, netral atau alkalis. Perubahan kemampuan ionisasi dan struktur kimia polimer (misal: akibat degradasi ikatan), akan mengakibatkan perubahan afinitas atau kekuatan pengikatan gugus fungsional komponen serat pangan terhadap mineral Fe. Hal ini berarti bahwa perubahan komposisi, struktur kimia komponen serat pangan dan afinitas pengikatan terhadap mineral Fe akan berpengaruh secara fisiologis pada sepanjang saluran pencernaan.

Derajat keasaman di sepanjang saluran pencernaan adalah berbeda, absorpsi Fe terutama terjadi pada duodenum (pH 4–6), sebagian kecil pada lambung, ileum dan kolon. Bentuk kimia Fe dan pengikatannya oleh serat pangan ataupun konstituen bahan pangan lain akan mengalami perubahan sepanjang saluran pencernaan sehingga akan mempengaruhi absorpsi Fe dan ketersediaannya untuk regenerasi Hb.

Berdasarkan latar belakang tersebut maka permasalahan penelitian ini adalah: 1) Bagaimana pengaruh diet tinggi serat pangan dengan variasi derajat keasaman dan lama perebusan terhadap absorpsi Fe dan efisiensi regenerasi Hb, pada hewan coba *Rattus norvegicus*. 2) Bagaimana peran keterikatan Fe oleh serat pangan terhadap efisiensi regenerasi Hb. Sebagai sumber serat pangan digunakan sayur kacang panjang, dengan kondisi perlakuan pH 4 dan 7 serta lama perebusan 0 menit (tanpa perebusan atau mentah), 5, 15, dan 25 menit.

Penelitian ini dirancang untuk memperoleh hasil kajian tentang: 1) Perbedaan absorpsi Fe dan efisiensi regenerasi Hb antara perlakuan diet tinggi serat pangan kacang panjang, perbandingan dan standar, 2) Pengaruh kombinasi pH dan lama perebusan kacang panjang terhadap persentase absorpsi Fe dan efisiensi regenerasi Hb, 3) Pengaruh kombinasi pH dan lama perebusan kacang panjang terhadap Fe terikat.

Hasil penelitian diharapkan dapat menjelaskan efek fisiologis diet tinggi serat pangan dengan variasi pH dan lama perebusan terhadap absorpsi Fe dan efisiensi regenerasi Hb; serta menentukan kondisi perebusan kacang panjang yang tepat sehingga tidak memberi efek fisiologis yang negatif.

BAHAN DAN CARA KERJA

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan adalah kacang panjang varietas hijau super pada usia panen, medium pH 7 aquabides bebas Fe, dan pH 4 buffer sitrat bebas Fe. Buffer sitrat terdiri dari 13,87 g/660 ml larutan asam sitrat monohidrat (Merck

231211) dan 9,99 g/340 ml larutan natrium sitrat dihidrat (Merck 567446). $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, tepung ikan teri, maizena, terigu, susu skim, glukosa, minyak goreng, vitamin, tepung tulang. *Rattus norvegicus* strain Wistar usia sapih, anestetik eter, larutan Fe standar, natrium asetat, hidroksil amonium klorida, natrium disulfonat batofenantrolin (Sigma B1375), reagen untuk analisis kadar hemoglobin dan hematokrit.

Bahan yang digunakan untuk analisis Fe terikat adalah: pepsin (Sigma P7000), pankreatin (Sigma P1750), ekstrak bile (Sigma B8631), natrium bikarbonat, asam klorida pekat, larutan standar Fe, natrium asetat, kalium hidroksida, hidroksil amonium klorida, natrium disulfonat batofenantrolin.

Alat yang digunakan pada tahap persiapan, adalah *freeze dryer*, ayakan 100 mesh, *blender*, *juicer*. Tempat pemeliharaan hewan coba adalah kandang yang terbuat dari bak plastik dengan alas berlubang. Kawat penutup dan tempat pakan terbuat dari aluminium, tempat minum dari gelas. Kandang hewan terletak di atas penyangga dari kayu yang dilengkapi penampung feces dari kasa plastik. Seperangkat alat untuk pembiusan hewan coba, peralatan untuk pengambilan darah lewat mata (*vena retino orbital*) dan jantung serta peralatan Laboratorium Klinik untuk penentuan kadar hemoglobin (Hb) dan hematokrit (Hct). Untuk penentuan kadar Fe digunakan spektrofotometer serapan atom (Perkin Elmer 100/300).

Untuk menghindari kontaminasi Fe maka semua peralatan yang akan digunakan untuk prosedur yang berhubungan dengan penentuan kadar Fe dicuci dengan alat pencuci gelas, dibilas dengan aquabides dan direndam dalam HCl 1N selama ± 4 jam, kemudian dibilas kembali dengan aquabides bebas Fe.

Untuk analisis Fe terikat digunakan pH meter, membran dialisis Spektra/Por (6000–8000 MWCO, Fisher), sentrifus 3400 rpm, ultrasentrifus (Hitachi 55P7), *waterbath* bergoyang (SWB 20, Haake), dan spektrofotometer sinar tampak (vis 6000 Kruss).

Cara Kerja

Sayur kacang panjang diperoleh secara acak dari populasi kacang panjang (*Vigna sesquipedalis* (L) Fruhw) varietas hijau super dan berkualitas baik pada usia panen, yang ditanam pada tiga kebun di desa Tosaren, kabupaten Kediri. Kualitas baik meliputi keadaan segar, tidak cacat, tidak berbintik hitam, tidak berlubang atau busuk.

Kacang panjang varietas hijau super dengan usia panen (± 58 hari) dan kualitas baik dibagi dalam delapan kelompok dan masing-masing diberi perlakuan kombinasi pH medium dan lama perebusan. Kacang panjang yang telah diberi perlakuan digunakan sebagai bahan pembuatan pakan hewan

coba, dengan mempergunakan peralatan bebas Fe dan dihindarkan dari pengeringan dengan oven maupun sinar matahari. Komposisi pakan hewan coba terdapat pada Tabel 1.

Sampel hewan coba sejumlah 110 ekor diperoleh secara acak dari populasi *Rattus norvegicus* strain Wistar, jenis kelamin jantan, usia ± 3 minggu dan bobot badan setara, tidak cacat tubuh, kondisi sehat dengan pemeliharaan dan jenis diet yang sama.

Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan eksperimen murni terhadap hewan coba, yaitu *Pretest-posttest control group design*. Variabel percobaan diperinci sebagai berikut: derajat keasaman dan lama perebusan (variabel bebas); absorpsi Fe dan efisiensi regenerasi Hb (variabel terikat); pengikatan mineral Fe oleh serat pangan (variabel antara); konsentrasi Fe dan serat pangan, metode analisis, keadaan individu, lama waktu konsumsi serat pangan (variabel kontrol); pH dan suhu saluran pencernaan, faktor biologis individu (variabel acak); komponen bahan pakan yang merupakan faktor pendorong dan penghambat absorpsi Fe, antara lain sistein, fitat, asam askorbat, dan mineral divalen (*confounding variable*).

Hewan coba memasuki masa adaptasi selama 7 hari, kemudian dilanjutkan dengan pakan rendah Fe selama 50 hari. Air minum yang digunakan adalah aquabides bebas Fe. Sampel hewan coba yang telah mengalami penurunan kadar Hb hingga mendekati defisiensi Fe (rerata Hb: 8,96 g/dl) secara random dibagi dalam 10 kelompok berdasarkan Fe Hb yang setara (melalui uji homogenitas) yaitu 8 kelompok hewan coba mendapat pakan yang mengandung kacang panjang perlakuan kombinasi pH dan

lama perebusan, 1 kelompok pakan standar dan 1 kelompok pakan pembanding. Kemudian dilanjutkan masa perlakuan 31 hari. Pakan dan air minum diberikan secara *ad libitum*. Setiap hari dilakukan penimbangan jumlah pakan yang diberikan dan sisa, serta pengumpulan *feces*.

Pengukuran Hb dan Hct terhadap hewan coba dilakukan pada: awal, akhir perlakuan dan akhir defisiensi Fe. Berdasarkan bobot total pakan yang dikonsumsi dan bobot total *feces*, dilakukan analisis Fe *intake*, Fe *feces*.

Absorpsi Fe dan efisiensi regenerasi Hb dinyatakan dalam persentase. Persentase absorpsi Fe = $(\text{Fe intake} - \text{Fe feces}) / (\text{Fe intake}) \times 100\%$. Efisiensi regenerasi Hb ditentukan dari perhitungan sebagai berikut: HRE = $(\text{Fe Hb akhir} - \text{Fe Hb awal}) / (\text{Fe intake}) \times 100\%$. Melalui asumsi 6,7% bobot badan (BB) adalah darah dan Hb mengandung 3,35 mg Fe/g, maka $\text{mg Fe Hb} = \text{BB} \times (6,7 \text{ ml darah}/100 \text{ g BB}) \times (\text{g Hb}/100\text{ml}) \times (3,35 \text{ mg Fe}/1 \text{ g Hb})$. (De Oliveira *et al.*, 1995).

Analisis Fe terikat dilakukan dengan metode Miller *et al.* (1981) terhadap 8 macam bahan pakan perlakuan untuk hewan coba.

Untuk menguji perbedaan absorpsi Fe antara perlakuan diet tinggi serat pangan dengan variasi pH dan lama perebusan, pembanding, dan standar, digunakan analisis varians satu jalur. Untuk menguji pengaruh pH, lama perebusan dan interaksinya terhadap absorpsi Fe dan efisiensi regenerasi Hb digunakan analisis varian dua jalur dan *multivariate analysis of variance*; sedangkan terhadap Fe terikat digunakan analisis varian dua jalur. Analisis lanjut digunakan uji beda nyata terkecil ($= 5\%$).

Tabel 1. Komposisi gizi dalam 1000 gram pakan hewan coba

Komposisi	Macam Pakan ^{a)}										
	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	(10)	(11)
Terigu (g)	150	150	150	150	150	150	150	150	150	-	-
Ikan teri (g)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	-	-
Kac pj (g)	350	350	350	350	350	350	350	350	-	-	-
Skim (g)	53	52	47	46	49	45	57	58	318	558	450
Maizena (g)	232	236	246	247	234	243	234	236	335	-	-
Minyak (g)	90	87	82	82	92	87	84	81	72	62	-
T tulang (g)	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	-
Vitamin (g)	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	10
Glukosa (g)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	355	540
FeSO ₄ 7H ₂ O (mg)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	260.5	-
Protein ($\pm$ g)	186	186	186	186	186	186	186	186	186	186	
En ($\pm$ kkal)	3460	3455	3468	3459	3460	3467	3445	3450	3455	3469	
Σ Fe (mg)	72.10	73.48	70.61	73.12	72.60	70.28	72.50	70.48	35.21	71.89	

Keterangan: a. Tanda*): bobot kering

b. Pakan perlakuan: (1) pH 7-LP 0', (2) pH 7-LP 5', (3) pH 7-LP 15', (4) pH 7-LP 25', (5) pH 4-LP 0', (6) pH 4-LP 5', (7) pH 4-LP 15', (8) pH 4-LP 25'; (9) standar; (10) pembanding; (11) rendah/defisiensi Fe

HASIL

Hasil analisis varians satu jalur terhadap persentase absorpsi Fe dan efisiensi regenerasi Hb (HRE) disajikan dalam Tabel 2. Hasil analisis menunjukkan bahwa terdapat perbedaan absorpsi Fe dan efisiensi regenerasi Hb antara perlakuan diet tinggi serat pangan, pembanding dan standar.

Tabel 2. Rerata persentase absorpsi Fe dan HRE (%)

Perlakuan		Absorpsi Fe (%)	HRE (%)
PH	L.P		
7	0'	12.85 ^{ab}	9.99 ^a
7	5'	8.91 ^d	4.08 ^b
7	15'	12.24 ^{ab}	5.07 ^b
7	25'	12.86 ^{ab}	7.14 ^c
4	0'	15.23 ^c	11.93 ^d
4	5'	11.78 ^a	4.62 ^b
4	15'	12.53 ^{ab}	5.56 ^{bc}
4	25'	13.38 ^b	8.81 ^a
Pkn Standar		12.30 ^{ab}	10.27 ^a
Pkn Pembanding		18.46 ^p	13.64 ^p
F		18.59	31.95
p		0.00	0.00

Keterangan:

Tanda huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$)

Hasil analisis varians dua jalur terhadap persentase absorpsi Fe dan efisiensi regenerasi Hb disajikan dalam Tabel 3 dan 4.

Analisis secara bersama-sama terhadap persentase absorpsi Fe dan efisiensi regenerasi Hb untuk melihat pengaruh pH dan lama perebusan serta interaksi pH dan lama perebusan menggunakan *Multivariate analysis of variance*; hasil analisis disajikan dalam Tabel 5.

Dari Tabel 3 dan 4 didapatkan bahwa perlakuan pH, lama perebusan dan interaksinya berpengaruh terhadap persentase absorpsi Fe maupun efisiensi regenerasi Hb. Demikian pula analisis pada Tabel 5 menunjukkan bahwa pH, lama perebusan dan interaksinya berpengaruh terhadap persentase absorpsi Fe dan efisiensi regenerasi Hb secara bersama-sama.

Hasil analisis varians dua jalur terhadap persentase Fe terikat disajikan dalam Tabel 6 berikut. Ditunjukkan bahwa lama perebusan, interaksi pH dan lama perebusan berpengaruh terhadap persentase Fe terikat.

Tabel 3. Rerata persentase absorpsi Fe (pengaruh pH dan lama perebusan)

PH	Lama Perebusan (menit)				Nilai		
	0	5	15	25	Rerata	F	P
7	12,85	8,91	12,24	12,86	11,71	14,65	0,00
4	15,23	11,78	12,53	13,38	13,23		
Rerata	14,04	10,35	12,38	13,12			
F		15,68				9,97	0,00
P		0,00					

Tabel 4. Rerata persentase HRE (pengaruh pH dan lama perebusan)

PH	Lama Perebusan (menit)				Nilai		
	0	5	15	25	Rerata	F	P
7	9,99	4,08	5,07	7,14	6,57	8,72	0,00
4	11,93	4,62	5,56	8,81	7,73		
Rerata	10,96	4,350	5,31	7,97			
F		57,13				26,13	0,00
P		0,00					

Tabel 5. Hasil uji manova terhadap persentase absorpsi Fe dan efisiensi regenerasi Hb

Efek	Wilks Lambda	Hotteling	F	P
PH	-	0,33	8,59	0,00
Lama Perebusan	0,24	-	16,90	0,00
PH-Lama Perebusan	0,19	-	8,54	0,00

Tabel 6. Rerata persentase Fe terikat (pengaruh pH dan lama perebusan)

PH	Lama Perebusan (menit)				Nilai		
	0	5	15	25	Rerata	F	P
7	85,93 ^b	79,89 ^{af}	81,48 ^e	75,71 ^d	85,93	3,77	0,06
4	80,81 ^{ae}	79,72 ^{ac}	78,58 ^{cf}	78,40 ^c	80,81		
Rerata	83,37	79,81	80,03	77,06		31,33	0,00
F		24,42					
P		0,00					

Keterangan: Tanda huruf yang berbeda pada kolom dan baris yang sama menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$)

PEMBAHASAN

Hasil analisis menunjukkan terdapat perbedaan absorpsi Fe dan efisiensi regenerasi Hb antara perlakuan diet tinggi serat pangan, pembanding, dan standar. Persentase absorpsi Fe dan efisiensi regenerasi Hb tertinggi adalah pada kelompok pakan pembanding, dan semua perlakuan berbeda terhadap kelompok pembanding ($p < 0,05$). Pakan kelompok pembanding tidak mengandung kacang panjang dan menggunakan $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ sebagai sumber utama Fe, oleh karena itu didapatkan absorpsi Fe dan efisiensi regenerasi Hb tertinggi.

Untuk kelompok perlakuan serat pangan, hasil tertinggi pada kelompok perlakuan pH 4– tanpa perebusan, dan terendah pada perlakuan pH 7– lama perebusan 5 menit; kedua kelompok perlakuan ini berbeda terhadap kelompok pakan standar ($p < 0,05$). Hasil perlakuan pH 4–lama perebusan 25 menit, pH 4–lama perebusan 15 menit, pH 7–tanpa perebusan, dan pH 7–lama perebusan 25 menit lebih tinggi dari perlakuan pakan standar ($p > 0,05$). Pada penelitian ini jumlah Fe pada kelompok pakan perlakuan serat pangan adalah sebesar $2\times$ dari pakan standar, tetapi ternyata persentase absorpsi Fe dan efisiensi regenerasi Hb kelompok pakan perlakuan serat pangan adalah sama atau lebih rendah daripada standar (kecuali pada perlakuan pH 4–tanpa perebusan). Hal ini menunjukkan bahwa pakan tinggi serat pangan dengan menggunakan kacang panjang (serat pangan $\pm 18\%$) mengakibatkan penurunan absorpsi Fe dan efisiensi regenerasi Hb, kecuali bagi perlakuan pH 4–tanpa perebusan.

Perlakuan pH 4–tanpa perebusan meningkatkan persentase absorpsi dan efisiensi regenerasi Hb secara bermakna terhadap kelompok standar. Hal ini sangat dimungkinkan akibat pengaruh asam-asam organik, buffer asam sitrat yang belum terdegradasi, faktor *confounding variable* lain yang berperan meningkatkan absorpsi Fe bukan hem.

Analisis pada Tabel 3 dan 4 menunjukkan pula bahwa pada proses perebusan, peningkatan absorpsi Fe dan efisiensi regenerasi Hb terjadi pada penurunan pH dan

peningkatan lama perebusan; sedangkan untuk proses tanpa perebusan, terjadi pada penurunan pH. Hasil pada Tabel 6 menunjukkan penurunan pH dan peningkatan lama perebusan (0–25') menyebabkan penurunan Fe terikat. Pola perubahan absorpsi Fe adalah sesuai dengan efisiensi regenerasi Hb, tetapi berbeda dengan Fe terikat pada perlakuan pH 4 tanpa perebusan.

Perlakuan tanpa perebusan (pH 4 atau 7) menghasilkan absorpsi Fe dan efisiensi regenerasi Hb tertinggi, walaupun juga diperoleh persentase Fe terikat tertinggi. Terdapatnya asam-asam organik pada sayuran (khususnya asam askorbat) pada kondisi tanpa perebusan sangat berperan dalam meningkatkan absorpsi Fe dengan mencegah terjadinya polimerisasi feri hidroksi hidrat $[\text{Fe}_x(\text{OH})_y(\text{H}_2\text{O})_n]^{(3x-y)+}$ pada pH duodenum. Menurut Kapanidis dan Chinglee (1995), asam organik rantai pendek pada sayuran yaitu asam askorbat, sitrat, malat, laktat, tartrat, dapat meningkatkan ketersediaan hayati Fe bukan hem karena efektif sebagai pengkelat yang membentuk kompleks larut dan bersifat stabil pada pH asam maupun alkalis. Khususnya asam askorbat yang stabil pada pH asam, bersifat sebagai pereduksi, pengkelat dan penghalang ikatan Fe dengan ligan pengendap misalkan fitat, tanin, oksalat, karbonat; dan masuknya Fe ke dalam lapisan membran dipermudah oleh asam-asam organik, di samping asam taurokolat dari empedu atau peptida yang mengandung sistein (Shils *et al.*, 1998)). Puyfouloux *et al.* (2001) mengemukakan, di antara berbagai faktor pendorong absorpsi Fe bukan hem, yang paling berperan meningkatkan absorpsi Fe dan regenerasi Hb adalah asam askorbat.

Di samping peran asam-asam organik pada kondisi tanpa perebusan, sakarida fruktosa dan sorbitol juga meningkatkan absorpsi Fe melalui pembentukan kompleks kelat Fe(III) yang larut dan stabil pada pH duodenum (Lee, 1982). Seperti dikemukakan oleh Mahan dan Stump (1996) bahwa agar Fe bukan hem dapat diabsorpsi harus berbentuk senyawa yang larut, yaitu dalam bentuk Fe(II) atau berbentuk kelat, misalkan dengan asam askorbat, sakarida atau asam amino yang mengandung gugus-SH. Maka berarti

pada kondisi tanpa perebusan, Fe terlarut secara efektif terabsorpsi.

Kestabilan asam-asam organik sangat tergantung pada suhu. Pada pemanasan sayur, asam-asam organik mengalami disosiasi. Walaupun pada peningkatan lama perebusan (pada 25 menit) diperoleh kadar asam askorbat, tetapi ternyata pada perlakuan serat pangan dihasilkan persentase absorpsi Fe dan efisiensi regenerasi Hb tertinggi. Sesuai dengan Monsen (1988) yang mengemukakan bahwa asam askorbat yang telah mengalami oksidasi hampir tidak mempunyai pengaruh dalam memperkuat absorpsi Fe. Frolich (1995) berpendapat bahwa proses pemasakan mempengaruhi ketersediaan hayati Fe terutama disebabkan karena reorganisasi terhadap komponen serat pangan dan pemecahan asam fitat, yang mengubah sifat pengkelat komponen-komponen tersebut. Valencia *et al.* (1999) mengemukakan, pada perebusan terjadi perubahan inositolpentafofat dan inositolheksafofat (asam fitat) menjadi inosoltetrafofat dan trifosfat, dan dapat membentuk kompleks larut dengan Fe(III).

Dari hasil penelitian didapatkan bahwa lama perebusan berpengaruh pada persentase Fe terikat. Proses perebusan menurunkan persentase Fe terikat pada pH 4 maupun pH 7. Pemanasan mengakibatkan kerusakan pada dinding sel, mengurangi adhesi antarselular dan meningkatkan reaksi kimia antarmolekul. Maka penurunan Fe terikat pada perebusan dengan medium pH 4 dan 7 disebabkan meningkatnya hidrolisis ikatan glikosidik pektat pada pH 4 dan eliminasi-b pada pH 7, hidrolisis asam terhadap hemiselulosa, kelabilan ikatan antarrantai selulosa serta perubahan faktor sterik struktur lignin. Perubahan ikatan antarmonomer dan polimer tersebut mengakibatkan perubahan jarak letak gugus-gugus fungsional yang mampu berikatan dengan Fe.

Berdasarkan kenyataan dan pendapat tersebut di atas, maka berarti bahwa pada proses perebusan, pengaruh perubahan komponen serat pangan adalah lebih berarti terhadap ketersediaan Fe daripada pengaruh asam-asam organik (misalnya asam askorbat) dan sakarida. Pada penurunan pH dan peningkatan lama perebusan, terdapat penurunan Fe terikat akibat perubahan terhadap komponen serat pangan meliputi perubahan ionisasi gugus $-OH$ dan $-COOH$, kestabilan ikatan dan pemutusan ikatan antar monomer atau polimer.

Peningkatan absorpsi Fe dan efisiensi regenerasi Hb pada peningkatan lama perebusan ini juga merupakan akibat denaturasi protein. Protein terdenaturasi lebih rentan terhadap enzim proteolitik sehingga lebih mudah terbentuk

peptida dan asam amino yang membentuk kompleks Fe larut dengan massa molekul relatif rendah.

Persentase absorpsi Fe dan efisiensi regenerasi Hb kelompok perlakuan pH 4 dengan berbagai lama perebusan lebih tinggi daripada perlakuan pH 7 dengan berbagai lama perebusan. Di samping terjadi denaturasi protein, kondisi pH 4 sangat menguntungkan bagi kestabilan asam-asam organik yang berperan meningkatkan absorpsi Fe. Misalkan asam askorbat yang dapat teroksidasi pada pH netral dan alkalis serta stabil pada pH asam. Medium buffer sitrat yang belum terdegradasi juga berperan dalam meningkatkan ketersediaan hayati Fe, disebabkan tingginya perbandingan citrat/Fe sehingga terbentuk kelat larut $[FeCit_2]^{-5}$ pada kondisi pH duodenum (Clydesdale, 1988).

Pada proses perebusan kondisi pH asam, terjadi pula reaksi antara fruktosa dan glukosa membentuk diasetilformosin dan berbagai senyawa hasil antara yaitu senyawa reduktan yang mampu mereduksi Fe(III) menjadi Fe(II). Keadaan tersebut akan meningkatkan kelarutan Fe hasil perlakuan perebusan pada pH 4, atau Fe terikat yang lebih kecil daripada pH 7.

Berdasarkan hasil analisis dan pembahasan dapat disimpulkan hal-hal berikut.

Pertama, terdapat perbedaan absorpsi Fe dan efisiensi regenerasi Hb antara perlakuan diet tinggi serat pangan, pembandingan dan standar; pola perubahan absorpsi Fe sesuai dengan efisiensi regenerasi Hb. Diet tinggi serat pangan kacang panjang mengakibatkan penurunan absorpsi Fe dan efisiensi regenerasi Hb; namun, pada perlakuan pH 4-tanpa perebusan, diperoleh absorpsi Fe dan efisiensi regenerasi Hb yang lebih tinggi daripada perlakuan pakan standar.

Kedua, perlakuan derajat keasaman, lama perebusan, dan interaksinya berpengaruh pada absorpsi Fe, efisiensi regenerasi Hb. Pada proses perebusan, penurunan pH, dan peningkatan lama perebusan akan meningkatkan absorpsi Fe dan efisiensi regenerasi Hb, akibat perubahan pada struktur serat pangan dan penurunan Fe terikat oleh serat pangan. Pada kondisi tanpa perebusan, penurunan pH akan meningkatkan absorpsi Fe dan efisiensi regenerasi Hb, akibat peran substansi pendorong absorpsi Fe bukan hem dalam bahan pangan.

Ketiga, disarankan dalam upaya mempertahankan ketersediaan mineral Fe untuk absorpsi, kombinasi penurunan pH dan peningkatan lama perebusan merupakan faktor yang perlu dipertimbangkan pada proses pengolahan serat pangan. Pada diet tinggi serat pangan dengan menggunakan kacang panjang, perlakuan tanpa perebusan dengan kondisi asam merupakan pilihan yang terbaik.

KEPUSTAKAAN

- Clydesdale FM, 1988. Mineral Interactions in Foods. In: *Nutrient Interactions*. Edited by: Howell CE and Erdman JW: 73–113. Marcel Dekker. Inc., New York.
- De Oliveira JED, Freitas MLS, Ferreira JF, Goncalves AL, Marchini JS, 1995. Iron Complex Salts and its Bioavailability to Rats. *Internat. J. Vit. Nutr. Res.* 65: 272–275.
- Frolich W, 1995. Bioavailability of Micronutrients in a Fibre Rich Diet, Especially Related to Minerals. *Eur. J. of Clin. Nut.* 49: S 116–122
- Idourine A, Khan MJ, and Weber CW, 1996. *In Vitro* Binding Capacity of Wheat Bran, Rice Bran, and Oat Fiber For Ca, mg, Cu and Zn Alone and In Different Combinations. *J. Agric. Food Chem.* 44: 2067–2072.
- Kapanidis AN and Chinglee T, 1995. Heating Cruciferous Vegetables Increases In-Vitro Dialyzability of Intrinsic and Extrinsic Iron. *J. of Food Sci.* 60 (1):128–131.
- Latunde-Dada GO and Neale RJ, 1986. Availability of Iron From Foods. *J. of Food Tech.* 21:255–268.
- Lee K, 1982. Iron Chemistry and Bioavailability in Food Processing. In: *Nutritional Bioavailability of Iron*. Edited by Kies C: 27–53. ACS Symposium Series 203. American Chemical Society, Washington:
- Mahan LK, Stump SE, 1996. *Food, Nutrition, Diet Therapy*. WB Saunders Company, Philadelphia:
- Monsen ER, 1988. Iron Nutrition and Absorption: Dietary Factors Which Impact Iron Bioavailability. In: *Dietetics in 90's*. Edited by Moyal MF: 19–26. John Libbey Eurotext, London:
- Muchtadi D, 2000. *Sayur-sayuran Sumber Serat & Antioksidan: Mencegah Penyakit Degeneratif*. Fateta Tek. Pangan & Gizi, Bogor.
- Puyfoulhoux G, Rouanet MJ, Besancon P, Baroux B, Baccou JC, Caporiccio B, 2001. Iron Availability from Iron- Fortified Spirulina by an In Vitro Digestion/Caco-2 Cell Culture Model. *J. Agric Food Chem.* 49:1625–1629.
- Shils ME, Olson JA, Shike M, Ross C, 1998. *Modern Nutrition in Health and Disease*. Williams & Wilkins, Baltimore.
- Valencia S, Svanberg U, Sanberg AS and Ruales J, 1999. Processing of Quinoa (*Chenopodium Quino, Wild*): Effect on In-Vitro Iron Availability and Phytate Hydrolysis. *Intrn. J. Food Sci. Nutr.* 50 (3):203–11.