

## SUSU FORMULA KEDELAI YANG DIPERKAYA LAKTOFERIN : PENGARUHNYA TERHADAP KADAR ZAT BESI, KOLESTEROL, TRIGLISERIDA, HDL DAN LDL DARAH ANAK TIKUS (*Rattus norvegicus*)

Enny Purwati Nurlaili

Staf Pengajar Fakultas Teknologi Pertanian UNTAG Semarang

### ABSTRAK

*A research in vivo experiment, on lactoferrin enrichment to soymilk has been conducted. The objectives of this research were to study on iron, cholesterol, triglyceride, HDL and LDL composition. Fifthly newly born rats and their mother (10 rats) were used. They were divided into 5 groups of 10 newly born and 2 mother rats, and were given five different soymilk formula respectively i.e. inorganic (inorganic Fe enrichment), organic (organic enrichment), mixture (inorganic and organic enrichment), control (without Fe), and placebo (added water).  $FeSO_4 \cdot 7 H_2O$  and lactoferrin were used as the source of inorganic and organic Fe respectively. During the experiment the rats baby also got regular milk from their mothers which were fed by AIN 93 diet. After 22 days of intervention, blood were withdrawn from the retroorbital plexus Fe, cholesterol, triglyceride, HDL and LDL determination. It was found that Fe enrichment of the soymilk formula have no effects on heavy on body, increase the total Fe of the serum (112,33  $\mu g/dl$ ), HDL of the serum (79,36  $mg/dl$ ) highest in mixture groups, but lowest in mixture groups the total cholesterol of the serum (102,87  $mg/dl$ ), triglyceride of the serum (65,31  $mg/dl$ ) and LDL of the serum (8,70  $mg/dl$ ).*

*Key words : Lactoferrin, Soymilk formula, Iron, Cholesterol, Triglyceride, HDL and LDL.*

### PENDAHULUAN

Saat ini Indonesia menghadapi masalah gizi ganda, yaitu gizi kurang dan lebih. Masalah gizi kurang hingga sekarang masih ada walaupun dalam taraf sudah berkurang, yaitu kurang energi protein (KEP), anemi gizi besi (AGB), gangguan akibat kekurangan iodium (GAKI) dan kurang vitamin A (KVA) (Almatsier, 2002 dan Ernawati, 2003).

Berdasarkan data Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) tahun 1995, prevalensi anemi gizi besi pada bayi dan anak balita di Indonesia masih tinggi yaitu sebesar 40,5 %, ibu hamil (50,9 %) dan menyusui sebesar 45,1 %, yang mempunyai implikasi sosial, ekonomi dan kesehatan masyarakat luas, dapat menyebabkan rentan terhadap infeksi, ketahanan fisik berkurang. Akibatnya angka sakit dan angka kematian meningkat, menurunkan daya kerja fisik, sehingga akan mengurangi laju pembangunan nasional (Ernawati, 2003)

Kekurangan zat besi dapat disebabkan oleh ketersediaan zat besi pada makanan yang rendah, ASI sebagai makanan bayi bukan merupakan sumber zat besi, oleh karena itu bayi berumur lebih dari 6 bulan perlu tambahan makanan yang mengandung zat besi. seperti susu formula bayi (Abdul, 2002). Upaya mengatasi masalah AGB tersebut dapat dilakukan melalui peningkatan jumlah dan kualitas zat besi misalnya dengan memberikan pil besi yang mengandung fero fumarat, fero glukonat ataupun fero sulfat dan dengan penambahan makanan yang mengandung vitamin C, untuk meningkatkan absorpsi zat besi serta fortifikasi zat besi pada susu formula bayi, tetapi berpengaruh pada warna, rasa, aroma, daya tahan, kenampakan susu formula serta menyebabkan mual, muntah, diare dan konstipasi

Laktoferin merupakan zat besi organik yang ditemukan pada kolustrum dan ASI mamalia (Teraguchi dkk. 1994), berfungsi sebagai penghambat bakteri patogen yang hidupnya tergantung pada zat



besi yang ada dalam saluran pencernaan dan sebagai pensusplai zat besi organik (Naim, 2005). Walaupun harganya sangat mahal tetapi bayi yang mengkonsumsi susu formula tersebut tidak mengalami diare.

Susu formula kedelai menurut Solahudin (2005) merupakan pengganti susu formula bagi anak yang alergi terhadap susu sapi (menderita laktose intoleranse). Penggunaan susu formula kedelai yang diperkaya dengan laktoferin pada penelitian ini agar bayi yang mengalami AGB sekaligus laktose intoleranse diharapkan dapat mengkonsumsi susu formula kedelai ini dengan aman. Selain itu susu formula kedelai meningkatkan kadar HDL dalam darah serta menurunkan kadar kolesterol, trigliserida dan LDL dalam darah.

Melihat potensi laktoferin tersebut di atas, maka perlu dilakukan penelitian ini yang sangat penting untuk konsumen supaya tidak hanya membeli susu formula kedelai yang mahal tetapi juga bermanfaat.

## METODE PENELITIAN

### Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah laktoferin, tikus putih jenis Wistar (LPPT UGM), susu formula kedelai untuk bayi (komposisi sama, berbeda sumber zat besinya.  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$  dan laktoferin digunakan sebagai sumber zat besi anorganik dan organik. Pakan induk tikus (AIN-93 G, komposisi tepung jagung, kasein, dekstrin, sukrosa, minyak kedelai, campuran vitamin AIN-93-VX, campuran mineral AIN-93 G-MX, L-sistin, kolin bitartrat, tert-butilhidroquinon), bahan-bahan kimia untuk analisis dengan kualitas pro analisis.

Alat yang digunakan antara lain spray drier (Lab plant), spektrometer DR/2000 Hach, AAS (Parkin elmer tipe 2380), Sentrifuse (Heraeus sepatech biofuge 15)

### Cara Penelitian

Penelitian secara *in vivo* ini didahului dengan pembuatan susu formula kedelai untuk bayi yang mengacu pada susu formula kedelai yang ada di pasaran,

kemudian dilanjutkan dengan pemberian susu formula kedelai tersebut pada anak tikus.

Penelitian diawali dengan adaptasi pakan tikus dengan pakan standar yang mengacu pada American Institute of Nutrition 1993 (AIN-93) pada calon induk tikus. Selanjutnya calon induk tikus tersebut dikawinkan dengan tikus jantan, dan diberi susu formula untuk induk hamil dengan cara dipaksa (*force feeding*) masing-masing sebanyak 4 ml perhari yang diberikan dalam 2 kali. Selama masa kehamilannya calon induk tikus diberi pakan AIN-93 G dan minuman induk diberikan secara tak terbatas (*ad libitum*).

Setelah anak tikus lahir dilakukan pada hari ke 6, dipilih secara acak anak tikus yang mempunyai berat badan antara 7-10 g sebanyak 5 ekor tiap induk tikus, dan kemudian dibagi kelompok untuk tiap-tiap perlakuan. Untuk anak tikus yang mempunyai berat badan lahir rendah tidak digunakan untuk penelitian ini. Setiap kelompok diberi susu formula kedelai dengan komposisi yang sama kecuali pada sumber zat besi yang berbeda, kelompok tersebut berturut-turut adalah kelompok anorganik, kelompok organik, kelompok campuran, kelompok kontrol, serta kelompok plasebo. Pemberian susu formula kedelai diberikan sampai usia sapih, pemberian dilakukan secara paksa (*force feeding*) sebanyak 0,1-0,4 ml, dua kali sehari.

Sementara adaptasi pakan untuk calon induk tikus baru dilaksanakan, dibuat susu formula kedelai untuk anak tikus. Komposisi susu formula kedelai untuk anak usia 6 bulan - 2 tahun (usia sapih) mengacu pada Codex Alimentarius, dibuat dengan komposisi sama kecuali untuk sumber zat besinya. Susu formula untuk induk (ibu hamil dan menyusui) dibeli dengan komposisi menurut Codex Alimentarius.

Pada akhir perlakuan tersebut di atas semua anak tikus dari masing-masing kelompok perlakuan diambil darahnya melalui *retroorbital plexus* dengan menggunakan suatu tabung mikro hematokrit untuk analisis kadar zat besi dari



serum, kadar kolesterol, trigliserida, HDL, LDL.

#### Parameter Yang Diamati

Parameter yang akan diamati pada penelitian ini, meliputi kadar zat besi serum (Astuti, 1992), kadar kolesterol, trigliserida, HDL dan LDL (Metoda CHOD-PAP : enzimatis kalorimetri).

#### Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan metoda Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari lima perlakuan yaitu kelompok anorganik (diberi ASI dan susu formula kedelai dengan  $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$  sebagai sumber zat besi anorganik), kelompok organik (diberi ASI dan susu formula kedelai dengan laktoferin sebagai sumber zat besi organik), kelompok campuran (diberi ASI dan susu formula kedelai dengan campuran  $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$  dan laktoferin sebagai sumber zat besi anorganik dan organik), kelompok kontrol (diberi ASI dan susu formula kedelai tanpa penambahan zat besi), kelompok plasebo (diberi ASI dan tambahan air). Masing-masing perlakuan menggunakan 10 ekor anak tikus (ulangan) dengan menggunakan 2 ekor induk. Dari hasil analisis, dievaluasi dengan analisis varian (anova) pada tingkat kepercayaan 5 % dan 1 %, jika terdapat beda nyata dilanjutkan dengan uji BNT.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 1. Kadar Total Zat Besi Pada Serum Anak Tikus

Hasil analisis kadar total zat besi pada serum (Tabel 1), menunjukkan bahwa terdapat beda nyata antar perlakuan pada taraf 5%.

Perlakuan pemberian susu formula kedelai dengan dengan penambahan zat besi anorganik dan organik cenderung mempunyai total zat besi pada serum yang paling tinggi. Artinya bahwa pengkayaan laktoferin berfungsi untuk menstabilkan kandungan zat besi anorganik yang terdapat dalam serum, pendapat ini dikemukakan oleh Nagasako, dkk. 1993 dan oleh Kawakami, dkk. 1993, yang juga

mengatakan bahwa zat besi fero mudah dirubah bentuk feri yang tak terlarut, tetapi kelarutan zat besi fero dapat distabilkan oleh laktoferin, dan aktivitas mengikat zat besi laktoferin yang sangat besar mungkin berhubungan dengan peranan laktoferin dalam absorpsi zat besi. Hal yang senada juga diungkapkan oleh Nurlaili (2002), mengatakan bahwa perlakuan pemberian susu formula dengan penambahan zat besi organik (laktoferin) dapat meningkatkan kadar total zat besi pada serum anak tikus.

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

Tabel 1. Kadar Zat Besi Serum Anak Tikus

Perlakuan	Kadar Fe Serum ( $\mu\text{g}/\text{dl}$ )
Anrganik	90,56 c
Organik	105,41 b
Campuran	112,33 a
Kontrol	49,26 e
Plasebo	50,03 d

Keterangan :

- \* Rata-rata dari sepuluh kali ulangan
- \*\* Huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata

#### 2. Kadar Total Kolesterol Pada Serum Anak Tikus

Hasil analisis kadar total kolesterol pada serum (Tabel 2), menunjukkan bahwa tidak terdapat beda nyata antar perlakuan pada taraf 5%, kecuali kontrol dengan perlakuan lain. Hal ini menunjukkan bahwa pada perlakuan dengan penambahan laktoferin ternyata mempengaruhi kadar total kolesterol pada serum anak tikus yang cenderung lebih rendah dibandingkan perlakuan lainnya. Menurut Renner (1989),



mengemukakan bahwa laktoferin mungkin berperan dalam transpor zat besi ke dalam sel reseptor yang berbeda. Kemungkinan, laktoferin mengikat (chelate) zat besi bebas secara terus menerus dalam saluran usus, pada saat zat besi bebas tersedia selama pencernaan zat besi terikat oleh lemak dan kasein. Laktoferin mempunyai kontribusi pada sistem kekebalan bersama dengan imunoglobulin IgA dan lisosim. Laktoferin mempunyai efek "promoting" pertumbuhan pada limfosit yang dihubungkan dengan transpor zat besi bebas ke permukaan sel melalui laktoferin.

Pengaruh laktoferin pada pertumbuhan limfosit dalam media bebas serum, dihubungkan dengan transportasi zat besi bebas ke permukaan sel melalui laktoferin (Hashizume, 1983). Fungsi bakterisidal neutrofil akan meningkat pada laktoferin yang dijenuhi zat besi dengan meningkatnya produksi radikal hidroksil sebesar 5000 kali (Kawakami, 1987).

Pendapat lain dikemukakan oleh Heinnermen (2003) yang mengemukakan bahwa penelitian yang dilakukan oleh Sirtori, C.R. dari Universitas Milan menemukan pasien yang diberi menu makanan yang mengandung protein kedelai, menunjukkan penurunan kolesterol sebesar 21%. Penelitian yang lain menunjukkan bahwa pasien yang diberi menu tambahan 500 mg kolesterol lain dalam bentuk bubuk telur dengan protein kedelai, ternyata penambahan kolesterol tidak mempengaruhi kemampuan kedelai menurunkan tingkat kolesterol.

Pendapat Rahardjo, (1999) mengatakan bahwa dari beberapa penelitian tentang konsumsi protein kedelai dan pengaruhnya terhadap kadar kolesterol total dan LDL dalam darah, diketahui memang ada sebagian menunjukkan hasil yang kontradiktif. Namun sebagian besar memberikan cukup bukti untuk menyatakan bahwa konsumsi protein kedelai berkaitan erat dengan penurunan kadar kolesterol total dan LDL dalam darah. Hal ini berarti menurunkan resiko timbulnya PJK.

### 3. Kadar Trigliserida Pada Serum Anak Tikus

Tabel 2 Perlakuan dengan pemberian susu formula kedelai dengan penambahan zat besi anorganik dan plasebo tidak berbeda nyata pada taraf 5% dan 1%, tetapi dengan perlakuan penambahan zat besi organik, campuran zat besi anorganik dan organik serta kontrol, menunjukkan berbeda sangat nyata. Perlakuan dengan penambahan zat besi organik tidak berbeda nyata dengan penambahan zat besi campuran anorganik dan organik tetapi berbeda nyata dengan perlakuan kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa pada perlakuan dengan penambahan laktoferin ternyata akan mempengaruhi pada kadar trigliserida pada serum yang cenderung mempunyai kadar yang lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan lainnya.

### 4. Kadar HDL Pada Serum Anak Tikus

Pada taraf 5%, perlakuan dengan pemberian susu formula kedelai dengan penambahan zat besi anorganik dan penambahan zat besi organik menunjukkan tidak berbeda nyata. Perlakuan penambahan dengan zat besi organik tidak berbeda nyata dengan perlakuan penambahan campuran zat besi anorganik dan organik, tetapi berbeda dengan perlakuan kontrol dan plasebo. Untuk perlakuan kontrol dan plasebo juga tidak berbeda nyata, tetapi berbeda nyata dengan perlakuan yang lain (Tabel 2). Hasil analisis menunjukkan bahwa terdapat kecenderungan perlakuan yang menggunakan laktoferin baik untuk penambahan zat besi organik dan campuran zat besi anorganik dan organik mempunyai kadar HDL yang lebih tinggi dibanding perlakuan lain (79,06 dan 79,36). Hal ini menunjukkan bahwa pada perlakuan dengan penambahan laktoferin ternyata akan mempengaruhi pada kadar HDL yang terdapat dalam darah, walaupun sampai saat ini belum ada penelitian yang menunjukkan atau memperkuat hal tersebut. Tetapi apabila dilihat media susu formula kedelai yang digunakan, memperkuat dugaan bahwa peranannya tidak sedikit dalam meningkatkan kadar HDL serum.



Telah diketahui bahwa lesitin, terutama lesitin HPF terhadap kolesterol dapat mencegah arterosklerosis, terutama dalam mengurangi kandungan kolesterol berlebih dalam darah. Di dalam dinding sel pembuluh darah, lesitin HPF dapat menyebabkan LCAT (*lecithine cholesterol acyl transferase*), yang berperan dalam menentukan sintesis kolesterol menjadi ester-kolesterol. Ester-kolesterol ini sangat penting dalam pembentukan HDL, yang berguna sebagai alat pembersih kolesterol berlebih. Ester-kolesterol bersifat lebih mudah bergerak dan nonasterogenik (tidak menyebabkan arterosklerosis) serta mudah dimetabolisasi di dalam hati (Heinnermen, 2003).

#### 5. Kadar LDL Pada Serum Anak Tikus

Perlakuan dengan pemberian susu formula kedelai pada taraf 5 %, dengan penambahan zat besi anorganik dan organik, menunjukkan tidak berbeda nyata tetapi berbeda nyata dengan perlakuan yang lain. Perlakuan penambahan campuran zat besi anorganik dan organik berbeda nyata dengan kontrol dan plasebo, sedangkan untuk perlakuan kontrol dan plasebo saling berbeda nyata. Apabila dilihat kecenderungannya hasil analisis kadar LDL yang ada, dapat diketahui bahwa terdapat kebalikan dari analisis HDL, perlakuan dengan penambahan zat besi organik dan

campuran anorganik dan organik, cenderung mempunyai kadar LDL yang lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan lain. Hal ini menunjukkan bahwa pada perlakuan dengan penambahan laktoferin ternyata akan mempengaruhi pada kadar LDL pada darah anak tikus, walaupun belum diketahui pasti mekanismenya ternyata dari hasil analisis menunjukkan kadar LDL pada perlakuan dengan penambahan zat besi organik lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Seperti yang sudah diutarakan oleh Heinnermen (2003) mengemukakan bahwa kedelai dapat mengurangi tingkat kolesterol dan LDL. Penelitian yang dikemukakan adalah bahwa anak-anak yang mengkonsumsi protein kedelai menggantikan protein hewani dalam menu makannya, mengalami penurunan LDL antara 20-37%.

Pendapat Rahardjo, (1999) mengatakan bahwa dari beberapa penelitian tentang konsumsi protein kedelai dan pengaruhnya terhadap kadar kolesterol total dan LDL dalam darah, diketahui memang ada sebagian menunjukkan hasil yang kontradiktif. Namun sebagian besar memberikan cukup bukti untuk menyatakan bahwa konsumsi protein kedelai berkaitan erat dengan penurunan kadar kolesterol total dan LDL dalam darah. Hal ini berarti menurunkan resiko timbulnya PJK.

Tabel 2. Kadar Total Kolesterol Serum, Kadar Trigliserida Serum, Kadar HDL Serum dan Kadar LDL Serum Anak Tikus

Perlakuan	Kadar Total Kolesterol Serum (mg/dl)	Kadar Trigliserida Serum (mg/dl)	Kadar HDL Serum (mg/dl)	Kadar LDL Serum (mg/dl)
Anorganik	102,99 b	67,88 b	78,81 b	10,60 c
Organik	102,87 b	65,94 c	79,06 ab	10,62 c
Campuran	102,87 b	65,31 c	79,36 a	8,70 d
Kontrol	104,86 a	69,52 a	78,20 c	12,76 a
Plasebo	103,35 b	68,12 b	78,14 c	11,59 b

Keterangan :

\* Rata-rata dari sepuluh kali ulangan

\*\* Huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata



## KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pengkayaan laktoferin pada susu formula kedelai perlakuan campuran paling efektif dalam meningkatkan kadar total Fe pada serum (112,33 µg/dl) dan kadar HDL serum (79,36 mg/dl), serta menurunkan kadar total kolesterol serum (102,87 mg/dl), kadar trigliserida serum (65,31 mg/dl) dan kadar LDL serum (8,70 mg/dl).

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdul, A. 2002. Pengaruh Pemberian Kombinasi Fero Sulfat Bersama Asam Askorbat dan Asam Sitrat Terhadap Status Zat Besi Pada Tikus *Rattus norvegicus* Dengan Keadaan Defisiensi Zat Besi, Airlangga University Library, Surabaya
- Almatsier, S. 2002. Prinsip Dasar Ilmu Gizi. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta
- Ernawati, F. 2003. Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Severitas Anenii Anak Balita dan Wanita Usia Subur, Center for Research and Development of Nutrition and Food, N1HRD
- Hashizume, S., Kuroda, K. dan Murakami, H. 1983. Identification of Lactoferrin as an Essential Growth Factor for Human Lymphocytic Cell Lines in Serum -free Medium. *Bichim. Biophys. Acta.* 763-777.
- Heinnermen, J. 2003. Khasiat Kedelai Bagi Kesehatan Anda. Prestasi Pustaka Publisher. Jakarta.
- Kawakami, H., Dosako, S. dan Nakajima, I. 1993. Note : Effects of Lactoferrin on Iron Solubility under Neutral Conditions. *Biosci. Biotech. Biochem.* 57(8) : 1376-1377.
- Kawakami, H., Shinmoto, H., Dosoko, S., dan Sogo, Y. 1987. One Step Isolation of Lactoferrin Using Immobilized Monoklonal Antibodies. *J. Dairy sci.* 70: 752-759.
- Kume, S.I. dan Tanabe, S. 1994. Effects of Twinning and Supplemental Iron-saturated Lactoferrin on Iron Status of Newborn Calves. *J. Dairy Sci.* 77 : 3118-3123.
- Kume, S.I. dan Tanabe, S.. 1996. Effects of Supplemental Lactoferrin with Ferrous Iron on Iron Status of Newborn Calves. *J. Dairy Sci.* 79 : 459-464
- Nagasako, Y., Saito, H., Tamura, Y., Shimamura, S., dan Tomita, M. 1993. Iron binding Properties of Bovine Lactoferrin in Iron Rich Solution. *J. Dairy Sci.* 76: 1876-1881.
- Naim, R. 2005 Protein Antimikroba Dalam Susu. IPB Bogor
- Nurlaili, E.P. 2002. Efek Suplementasi laktoferin Pada Susu Formula terhadap Availabilitas Zat Besi, Oksidasi Lemak, Dan Pertumbuhan *Escherichia coli* Pada Saluran Pencernaan Tikus. *Jurnal Teknologi & Industri Pangan.* Vol. XIII No. 3 Tahun 2002, hal 239-245.
- Rahardjo, S. 1999. Konsumsi Protein Kedelai Lebih Efektif Menurunkan Kolesterol Darah Dibandingkan Isoflavon. *Jurnal Agritech, Majalah Ilmu dan Teknologi Pertanian.* Vol 19. No. 4. tahun 1999, hal 149-159.
- Renner, E. 1989. Micronutrients in Milk and Milk Based Food Products. Elsevier Applied Science. London and New York.
- Solahudin, G. 2005. Mengapa Anak Perlu Minum Susu ?. <http://7www.mail-archive.com/milis-nakita@news.gramedia-majalah.com/>
- Teraguchi, S., Ozawa, K., Yasuda, S., Shin, K., Fukuwatari, Y., dan Shimamura, S. 1994. The Bacteriostatic Effects of Orally Administered Bovine Lactoferrin on Intestinal Enterobacteriaceae of SPF Mice Fed Bovine Milk. *Biosci. Biotech. Biochem.* 58: (3) 482-487.
- Ward, P.P., Paz, E., Connely, O.M. #2005. Multifunctional Roles of Lactoferrin: A Critical Overview. *Cellular and Molecular Life Sciences.* 62.(2005), p 2540-2548.