

SIFAT PROOKSIDATIF FORTIFIKAN NaFeEDTA, DENGAN KECAP KEDELAI MANIS SEBAGAI MAKANAN PEMBAWA, DALAM SISTEM BIOLOGIS (TIKUS)

Oxidative Effect of NaFeEDTA Fortificant in Sweet Soy Sauce as Fortification Vehicle, on Biological System (Rats)

Sri Naruki, Mary Astuti, Yustinus Marsono, Sri Raharjo

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

ABSTRAK

Penelitian tentang pengaruh dosis fortifikan NaFeEDTA dalam kecap kedelai manis terhadap angka TBARS plasma dan hati, serta perubahan histopatologik organ hati, usus, dan lambung telah dilakukan pada tikus Sprague Dawley. Evaluasi sifat prooksidatif zat besi dari NaFeEDTA dilakukan dengan metoda deplesi-repleksi hemoglobin. Selama periode repleksi, tikus yang sebelumnya dibuat anemia, diberi diet basal bebas Fe dan minuman H₂O. NaFeEDTA diberikan sebagai sumber zat besi, dengan dosis bervariasi, yaitu dari 0,175 sampai dengan 1,40 mg Fe/ekor/hari. Kecap kedelai manis atau H₂O digunakan sebagai pembawa fortifikan. Fortifikan standar FeSO₄·7H₂O (0,35 mg Fe/ekor/hari) dalam H₂O digunakan sebagai pembanding. Periode repleksi dilakukan selama 42 hari. Pada akhir periode repleksi dilakukan analisa angka TBARS plasma dan hati. Preparat organ hati, usus, dan lambung dievaluasi secara histopatologik. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fortifikan NaFeEDTA dalam kecap kedelai manis tidak meningkatkan angka TBARS plasma, namun meningkatkan angka TBARS hati. Data histopatologik menunjukkan bahwa fortifikan NaFeEDTA dalam kecap kedelai manis sebesar 0,35 mg Fe/ekor/hari, tidak mengakibatkan perubahan histopatologik pada organ hati, usus, dan lambung.

Kata kunci: Kecap kedelai, NaFeEDTA, TBARS

ABSTRACT

In vivo study about the effect of NaFeEDTA fortificant in sweet soy sauce on TBARS value of plasma and liver, as well as on histopathologic changes of liver, intestine, and stomach of Sprague Dawley rats was conducted. The oxidative properties were determined using hemoglobin depletion-repletion method. During 42 days of repletion periode, iron-depleted rats were fed iron-free diet. NaFeEDTA was ingested in varied dosage, i.e. from 0.175 to 1.4 mg Fe/day for each rat. Sweet soy sauce H₂O (0.2 mL/day) was used as fortification vehicle and H₂O (0.2 mL/day) as a control. FeSO₄·7H₂O fortificant (0.35 mg Fe/day, with H₂O as vehicle) was used as reference standard. At the end of the repletion period, TBARS value of either plasma or liver was analyzed. The histopathologic changes of liver, intestine, and stomach were also evaluated. The data showed that NaFeEDTA fortificant in sweet soy sauce had no effect on TBARS value of plasma, but it resulted in increased TBARS value of liver. The histopathologic data showed that NaFeEDTA intake up to 0.35 mg Fe/day did not result in histopathologic changes of liver, intestine, and stomach, as well.

Keywords: Soy sauce, NaFeEDTA, TBARS

PENDAHULUAN

Defisiensi zat besi merupakan salah satu problema kesehatan dunia termasuk Indonesia. Problema ini banyak dijumpai pada kelompok beresiko tinggi, yang meliputi bayi dan anak-anak berusia 0,5-4 tahun, remaja pada masa pertum-

bahan, perempuan usia subur, hamil dan menyusui. (Anonim, 2004; Zhang dkk., 2004 dan Anonim, 2006). Menurut Pee dkk. (2002), sebanyak 40-45 % anak berusia 0-4 tahun di negara berkembang menderita anemia; bahkan di Asia Tenggara, angka tersebut mencapai 60-70 %. Di Indonesia, bayi penderita anemia gizi besi diduga melebihi 50 %, sedangkan

prevalensi anemia pada perempuan usia subur dan perempuan hamil masing-masing berkisar antara 22-47 % dan 20-65 % (Anonim, 2000; Untoro dkk., 2005).

Salah satu cara yang dapat ditempuh guna menurunkan prevalensi defisiensi zat besi adalah fortifikasi. Selama ini, fortifikasi dipercaya merupakan salah satu cara yang paling efektif untuk menanggulangi defisiensi mikronutrien, termasuk zat besi. Fortifikasi secara sosial mudah diterima karena tidak mengubah kebiasaan makan ("food habit"). Selain itu, fortifikasi dapat diterapkan secara legal dan mudah dipantau (Clift, 1997).

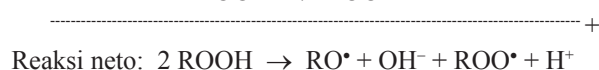
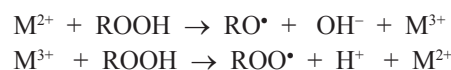
Dalam fortifikasi selalu diperlukan suatu makanan pembawa ("fortification vehicle"). Kecap kedelai manis merupakan salah satu makanan yang layak untuk dipertimbangkan sebagai pembawa dalam fortifikasi zat besi di Indonesia karena beberapa alasan. Alasan pertama adalah fakta bahwa kecap kedelai manis sangat populer dan dikonsumsi secara luas. Selain itu, produk fermentasi kedelai ini kaya asam amino bebas. Beberapa asam amino seperti sistein, histidin, dan lisin diketahui dapat memacu absorpsi zat besi (Glahn dkk., 1997). Ketiga, kecap kedelai manis mengandung senyawa gula reduksi yang dapat menciptakan kondisi reduktif sehingga bisa meningkatkan kelarutan zat besi. Kecap kedelai manis yang berupa cairan memungkinkan penyebaran fortifikan lebih homogen dan warna coklat gelap kecap kedelai manis bisa menutupi perubahan warna yang mungkin timbul akibat adanya zat besi. Citarasa kecap kedelai manis yang relatif kuat dipercaya dapat menutupi perubahan citarasa yang mungkin terjadi akibat fortifikasi. Selain itu, "Maillard Reaction Products" (MRP) pada kecap kecap kedelai manis diketahui mempunyai kemampuan mereduksi Fe³⁺ menjadi bentuk Fe²⁺ yang bersifat lebih larut (Yoshimura dkk., 1997).

Diet masyarakat Indonesia kebanyakan berbasis bahan nabati. Bahan tersebut diketahui banyak mengandung inhibitor bagi absorpsi zat besi, antara lain senyawa fitat. Pada makanan berbasis bahan nabati, fortifikan "sodium iron ethylenediaminetetraacetic acid" (disingkat NaFeEDTA) merupakan pilihan yang tepat. Fortifikan tersebut diketahui tetap memiliki bioavailabilitas yang tak berubah meskipun berada bersama dengan inhibitor (Lynch, 2002). Hal ini dibuktikan oleh Davidson dkk. (2001), yang mengevaluasi absorpsi zat besi pada diet sarapan pagi dengan komposisi sereal, susu, kedelai, dan fortifikan fero sulfat. Hasil menunjukkan bahwa penambahan Na₂EDTA dengan rasio molar Na₂EDTA : fero-sulfat sebesar 0,3 : 1,0 dapat meningkatkan absorpsi zat besi dari 2,9 % menjadi 3,8 %. Dengan demikian, Na₂EDTA dapat meningkatkan bagi absorpsi zat besi.

Selain dapat mendatangkan manfaat karena dapat meningkatkan asupan zat besi, fortifikasi zat besi pada kecap kedelai manis kemungkinan juga dapat mendatangkan kerugian bagi konsumen. Hal ini disebabkan karena zat besi dari for-

tifikan tersebut dapat berperan sebagai prooksidan sehingga berpotensi meningkatkan terjadinya oksidasi molekuler, baik dalam sistem pangan maupun biologis.

Zat besi sebagai metal prooksidan (ditulis dengan simbol M) dikenal sebagai metal transisi karena mempunyai dua bilangan oksidasi, yaitu Fe²⁺ dan Fe³⁺. Dalam reaksi Fenton, Fe²⁺ dapat bereaksi dengan senyawa hidroperoksida (ROOH). ROOH dapat terbentuk selama oksidasi lipid. Menurut Gordon (1990) dalam Hudson (1990), reaksi Fe²⁺ dan ROOH tersebut menyebabkan reaksi rantai radikal bebas sebagai berikut:



Dalam kondisi normal, radikal bebas yang terbentuk dapat dikendalikan oleh antioksidan tubuh. Namun apabila zat besi dalam tubuh berlebihan dan kronis, maka senyawa radikal dapat diproduksi secara berlebihan dan menyebabkan kerusakan oksidatif, seperti misalnya degradasi protein dan DNA, serta peroksidasi asam lemak tidak jenuh (Ibrahim dkk., 1999). Akibat kerusakan oksidatif tersebut antara lain adalah perubahan struktur sel usus besar, yang akhirnya dapat mengarah ke timbulnya tumor usus besar, dan angka TBARS hepatic yang tinggi. Oksidasi terhadap komponen lemak dalam plasma maupun organ hati dapat dievaluasi melalui angka TBARS. Selain itu, gangguan pada hati, usus, maupun lambung dapat dievaluasi melalui analisa histopatologik organ tersebut (Ibrahim dkk., 1999).

Berkaitan dengan hal tersebut, dilakukan penelitian tentang pengaruh asupan kecap kedelai manis yang difortifikasi dengan NaFeEDTA terhadap angka TBARS plasma dan hati, serta perubahan histopatologik organ hati, usus, dan lambung.

METODE PENELITIAN

Bahan

Dalam penelitian ini digunakan kecap kedelai manis yang diketahui dibuat dari kedelai hitam (*Glycine max* L.) dan gula kelapa tanpa penambahan rempah-rempah, dan tersedia secara komersial. Selain itu digunakan pula fortifikan NaFeEDTA (Akzo Nobel), fero sulfat (FeSO₄·7H₂O) dan bahan kimia untuk analisis (MERCK). Sebagai hewan percobaan digunakan tikus *Sprague Dawley* jantan sapihan berusia sekitar 21 hari, yang diperoleh dari Balai POM, Jakarta. Sebagai pakan tikus, digunakan pakan standar AIN 93 bebas Fe. Aquades yang telah mengalami deionisasi ("deionized distilled water") digunakan sebagai pelarut dan minuman tikus. "Deionized distilled water" tersebut selanjutnya ditulis sebagai H₂O.

Pelaksanaan Penelitian

Evaluasi tentang sifat prooksidatif zat besi dalam Na-FeEDTA secara *in vivo* dilaksanakan dengan menggunakan 81 ekor tikus. Pertama kali, semua tikus menjalani masa adaptasi selama 3 hari dengan pemberian pakan standar AIN-93G (Reeves dkk., 1993) dan minuman H₂O secara *ad libitum*. Selanjutnya tikus dengan sengaja dibuat anemia dengan pemberian pakan (AIN-93G) bebas Fe sampai dicapai kadar Hb ≤ 6,0 g/dL (periode deplesi), yang berlangsung selama 14 hari.

Tikus yang telah menderita anemia selanjutnya dibagi menjadi 9 kelompok, masing-masing 9 ekor. Semua tikus dipelihara dalam kandang individual untuk menjalani periode replasi selama 42 hari. Selama periode replasi, semua kelompok diberi diet basal (AIN-93G) bebas Fe dan minuman H₂O secara *ad libitum*. Tikus kelompok 1 diberi 0,35 mg Fe/ekor/hari dalam bentuk fero sulfat yang dilarutkan dalam H₂O. Tikus kelompok 2, 3, 4, dan 5 masing-masing diberi kecap kedelai manis yang difortifikasi dengan NaFeEDTA (0,2 mL kecap kedelai manis/ekor/hari). Dosis Fe dalam kecap kedelai manis untuk kelompok 2, 3, 4, dan 5 berturut-turut adalah 0,175; 0,35; 0,70; dan 1,40 mg Fe/ekor/hari. Adapun tikus kelompok 6, 7, 8, dan 9 masing-masing diberi NaFeEDTA yang dilarutkan dalam H₂O (0,2 mL H₂O /ekor/hari). Dosis Fe dalam H₂O untuk tikus kelompok 6, 7, 8, dan 9 tersebut berturut-turut adalah 0,175; 0,35; 0,70; dan 1,40 mg Fe/ekor/hari. Asupan kecap kedelai manis maupun H₂O yang mengandung fortifikan zat besi dilakukan secara paksa ("force feeding"). Pada akhir periode replasi, dilakukan analisa angka TBARS plasma dan hati menggunakan metode Wuryastuti (1996) serta Jo dan Ahn (1998). Preparat histologi organ hati, usus, dan lambung dibuat menurut metode Anonim (1957) untuk evaluasi histopatologik. Pembuatan preparat dan evaluasi histopatologik dilakukan dengan bantuan Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

Analisis Statistik

Data angka TBARS plasma dan hati diolah menggunakan analisa variansi (ANOVA) pada α 0,05. Bila terdapat perbedaan yang bermakna, analisa dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil "Duncan's Multiple Range Test" (DMRT). Semua pengujian dilakukan dengan menggunakan "Statistical Product and Service Solution" (SPSS) versi 11.0 "General Linier-Model Univariate".

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1 menunjukkan data pengaruh jenis makanan pembawa dan dosis asupan NaFeEDTA terhadap angka TBARS plasma tikus. Hasil analisa statistik menunjukkan

bahwa pemberian NaFeEDTA dalam kecap kedelai manis tidak meningkatkan angka TBARS plasma. Hal ini didukung dengan hasil penelitian lain yang menunjukkan bahwa pemberian NaFeEDTA (bervariasi dari 0,175 sampai 1,40 mg Fe/ekor/hari) dalam kecap kedelai manis selama 14 hari, tidak mempengaruhi kadar Fe serum tikus (Naruki, 2009). Kondisi tersebut menyebabkan angka TBARS plasma juga tidak berubah seiring dengan peningkatan asupan NaFeEDTA.

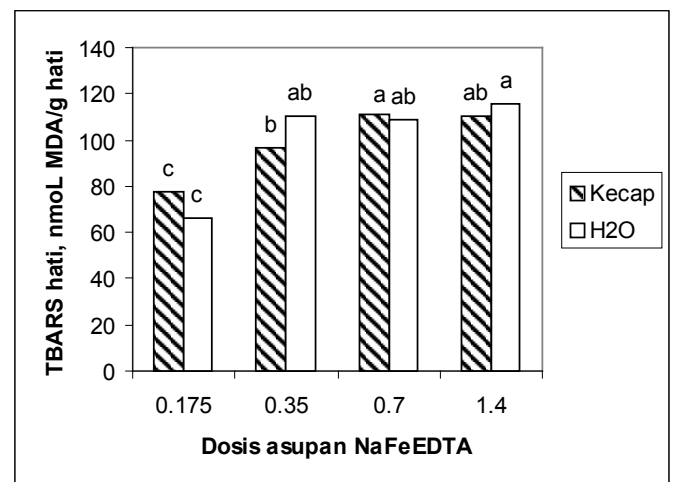
Tabel 1. Angka TBARS plasma tikus dengan asupan fortifikan NaFeEDTA yang bervariasi dengan makanan pembawa kecap kedelai manis atau H₂O

Makanan pembawa	Asupan NaFeEDTA (mg Fe/ekor/hari)	Angka TBARS (nmol MDA/L)
Kecap	0,175	2,118 ^a
	0,35	2,118 ^a
	0,70	1,986 ^a
	1,40	1,996 ^a
	0,175	1,955 ^a
H ₂ O	0,35	2,180 ^a
	0,70	2,118 ^a
	1,40	2,139 ^a

Catatan:

1. Angka-angka yang diikuti dengan huruf yang sama menunjukkan antar nilai TBARS tidak berbeda nyata pada α 0,05
2. Angka TBARS plasma tikus yang diberi Fe-sulfat (0,35 mg Fe/ekor/hari) dalam H₂O adalah 2,046 nmol MDA/L plasma

Gambar 1 menunjukkan bahwa kenaikan asupan Na-FeEDTA mengakibatkan peningkatan angka TBARS hati. Hal ini sejalan dengan fakta bahwa asupan Fe yang semakin



Gambar 1. Pengaruh makanan pembawa (kecap kedelai manis dan H₂O) dan dosis asupan NaFeEDTA (mg Fe/ekor/hari) terhadap angka TBARS hati tikus. Huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan nyata pada α 0,05. Angka TBARS hati tikus yang diberi Fe-sulfat (0,35 mg Fe/ekor/hari) dalam H₂O adalah 111,36 nmol MDA/g hati

meningkat (sampai dengan 1,40 mg Fe/ekor/hari, selama 14 hari) terbukti dapat meningkatkan kadar Fe hati (Naruki, 2009). Zat besi dapat berperan sebagai prooksidan yang dapat memicu oksidasi. Oleh karena itu, peningkatan kadar Fe hati dapat mengakibatkan kenaikan angka TBARS hati, sebagai akibat dari naiknya tingkat oksidasi komponen lemak hati. Jadi dosis asupan NaFeEDTA memang harus dibatasi sehingga konsumsi dalam jangka panjang tidak menimbulkan dampak negatif.

Hasil analisa histopatologik terhadap organ hati, usus, dan lambung tikus dapat dilihat pada Tabel 2. Ternyata asupan NaFeEDTA dalam kecap kedelai manis sebesar 0,35 mg Fe/ ekor/hari tidak menyebabkan perubahan histopatologik pada organ hati, usus, dan lambung tikus. Namun demikian, meskipun dalam prosentase rendah (hanya 11%), asupan Fe-sulfat maupun NaFeEDTA dalam H₂O sebesar $\geq 0,35$ mg Fe/ekor/hari berpotensi menyebabkan terjadinya kongesti dan radang pada usus halus, serta radang pada lambung.

Tabel 2. Perubahan histopatologik organ tikus dengan asupan fortifikan NaFeEDTA yang bervariasi dalam kecap kedelai manis atau H₂O sebagai pembawa fortifikan

Kelompok	Fortifikan	Pembawa fortifikan	Dosis asupan Fe (mg Fe/ ekor/hari)	Histopatologi		
				Hati	Usus	Lambung
1	FeSO ₄ ·7H ₂ O	H ₂ O*	0,35	Infiltrasi glikogen 11%	Kongesti 11%	-
2	NaFeEDTA	Kkm	0,175	-	-	-
3	NaFeEDTA	Kkm	0,35	-	-	-
4	NaFeEDTA	Kkm	0,70	-	-	Radang 11%
5	NaFeEDTA	Kkm	1,40	Infiltrasi glikogen 11%	Kongesti 11%	Radang 11%
6	NaFeEDTA	H ₂ O	0,175	-	-	-
7	NaFeEDTA	H ₂ O	0,35	-	Radang 11%	Radang 11%
8	NaFeEDTA	H ₂ O	0,70	-	-	-
9	NaFeEDTA	H ₂ O	1,40	-	Kongesti 11%	Radang 11%

Catatan:

Kkm = kecap kedelai manis

* Fortifikan standar FeSO₄·7H₂O digunakan sebagai pembanding

Infiltrasi glikogen pada organ hati dijumpai pada tikus kelompok 1 dan 5, masing-masing sebesar 11 %. Infiltrasi glikogen pada hati menggambarkan adanya akumulasi glikogen di hati dan diduga tidak berkaitan dengan asupan zat besi. Sebelum otopsi dilakukan, semua tikus dipuasakan terlebih dahulu sehingga seharusnya tidak ada akumulasi glikogen di hati. Kemungkinan besar, tikus pada kelompok 1 dan 5 tersebut mempunyai cacat pada metabolisme glikogen. Pada manusia, cacat tersebut dikenal sebagai "von Gierke's disease". Individu penderita "von Gierke's disease" memiliki enzim glikogen fosforilase dan $\alpha(1 \rightarrow 6)$ glukosidase yang cacat. Cacat pada glikogen fosforilase dan $\alpha(1 \rightarrow 6)$ glukosidase mengakibatkan molekul glikogen tidak dapat dihidrolisa menjadi glukosa secara sempurna sehingga terakumulasi di organ hati (Lehninger, 1982).

Kongesti di usus, yang mencerminkan reaksi awal masuknya benda asing ke dalam tubuh, dijumpai dalam persentase rendah (11%) pada tikus kelompok 1, 5, dan 9. Ada kemungkinan kongesti tersebut terjadi sebagai reaksi awal masuknya NaFeEDTA dalam jumlah yang relatif tinggi. Zat

besi dari NaFeEDTA tersebut dapat berperan sebagai katalis dalam pemecahan hidroperoksida, yang menghasilkan senyawa radikal yang reaktif dan dapat bersifat toksik (Ibrahim dkk., 1999). Penelitian lain menunjukkan bahwa kongesti pembuluh darah usus dapat terjadi sebagai akibat dari intoksikasi per oral senyawa arsen dan selenium (Anonim, 2008 dan Novriani, 2008).

Sel radang dapat dijumpai pada preparat usus yang berasal dari tikus kelompok 7, dengan persentase yang rendah, yaitu 11 %. Pada lambung, sel radang dapat ditemui pada tikus kelompok 4 dan 5, serta kelompok 7 dan 9, masing-masing dengan persentase yang relatif rendah (11 %). Kemungkinan besar asupan NaFeEDTA yang berlebihan dapat menyebabkan radang. Zat besi dari NaFeEDTA tersebut dapat bereaksi dengan hidroperoksida, menghasilkan senyawa radikal bebas yang reaktif. Hal ini sejalan dengan penelitian yang mengungkapkan bahwa inflamasi atau radang jaringan dapat terjadi sebagai akibat dari produksi radikal bebas yang berlebihan (Pincemail dalam Favier dkk., 1995). Oleh karena itu, dosis NaFeEDTA dalam fortifikasi kecap sebaiknya tidak

terlalu tinggi sehingga dalam jangka panjang tidak mengakibatkan gangguan kesehatan pada konsumen.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan, dapat disimpulkan bahwa asupan fortifikan NaFeEDTA dalam kecap kedelai manis tidak meningkatkan angka TBARS plasma, namun meningkatkan angka TBARS hati. Data histopatologik menunjukkan bahwa asupan fortifikan NaFeEDTA sebesar 0,175 mg Fe/ekor/hari, baik dalam kecap kedelai manis maupun H₂O sebagai pembawa, tidak mengakibatkan perubahan pada organ hati, usus, dan lambung tikus.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan banyak terima kasih kepada PT. Unilever Indonesia Tbk., Jakarta, Indonesia dan QUE Project, Jurusan Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, atas bantuan finansial yang diberikan demi kelancaran penelitian ini. Peneliti juga mengucapkan terima kasih kepada Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada atas bantuan yang diberikan dalam pembuatan preparat dan evaluasi histopatologik organ tikus.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim (1957). *Manual of Histologic and Special Staining Technics*. Armed Forces Institute of Pathology General Pathology Laboratory. Walter Rice.
- Anonim (2000). High prevalence of anemia among young children in urban and rural areas. *Indonesia Crisis Bulletin* 1 : 1 – 4.
- Anonim (2004). Satu dari dua orang Indonesia menderita anemia. Pusat Data dan Informasi Departemen Kesehatan RI, Jakarta. <http://www.depkes.go.id/index.php?option=newstask=viewarticle&sid=483&temid=2> [8 Juli 2004]
- Anonim (2006). Jangan kalah oleh kurang darah. Indonesian Nutrition Network. <http://www.gizi.net/cgi-bin/berita/fullnews.cgi?newsid1165478381,19428>. [8 Desember 2006]
- Anonim (2008). Deteksi dini dan tatalaksana intoksikasi arsen. <http://www.freewebs.com/arsenpapdi/distribusiarsen.htm> [9 Juni 2008].
- Clift, E. (1997). Food for the body, fuel for life. *Perspectives in Health* 2: 1-5.
- Davidson, L., Walczyk, T., Zavaleta, N. dan Hurrell, R.F. (2001). Improving iron absorption from Peruvian school breakfast meal by adding ascorbic acid or Na₂EDTA. *The American Journal of Clinical Nutrition* 73: 283-287.
- Glahn, R., Raymond, P. dan Campen, V.D.R. (1997). Iron uptake is enhanced in Caco-2 cell monolayers by cysteine and reduced cysteinyl glycine. *Journal of Nutrition* 127: 642-647.
- Gordon, M.H. (1990). The mechanism of antioxidant action *in vitro*. Dalam: Hudson, B.J.F. (Ed.). *Food Antioxidants*, hal 1-18. Elsevier Applied Science. London, New York.
- Ibrahim, W., Ung, S.L., Che, C.Y., Szabo, J., Bruckner, G. dan Chow, C.K. (1999). Oxidative stress and antioxidant status in mouse kidney: Effects of dietary lipid, vitamin E plus iron. *Journal of Nutrition* 127: 1401-1406.
- Jo, C. dan Ahn, D.U. (1998). Fluorometric analysis of 2-thio-barbituric acid reactive substances in turkey. *Poultry Science* 77: 475-480.
- Lehninger, A.L. (1982). *Principles of Biochemistry*. Worth Publishers, Inc. New York.
- Lynch, S. (2002). Food iron absorption and its importance for the design of food fortification strategies. *Nutrition Reviews* 60: S3-S6.
- Naruki, S. (2009). Fortifikasi kecap manis dengan NaFeEDTA. Disertasi S-3. Sekolah Pasca Sarjana Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.
- Novriani, H. (2008). Selenosis ternak, pengaruhnya pada manusia. Cermin Dunia Kedokteran. <http://www.kalbe.co.id/files/09SelenosisTernak103.pdf/09S>. [6 September 2008].
- Pee, S., Bloem, M.W., Sari, M., Kiess, L., Yip, R. dan Kosen, S. (2002). The high prevalence of low hemoglobin concentration among Indonesian infants aged 3-5 months is related to maternal anemia. *Journal of Nutrition* 132: 2215-2221.
- Pincemail, J. (1995). Free radical and antioxidants in human diseases. Dalam: Favier, A.E., Cadet, J., Kalyanaraman, B., Fontecave, M., dan Pierre, J.L.(Eds). *Analysis of Free Radicals in Biological Systems*, hal. 83-98. Birkhauser Verlag. Basel.
- Reeves, P.G., Neilson, F.H., dan Fahey Jr., G.C. (1993). Purified diet for laboratory rodents. *Journal of Nutrition* 123: 1939-1951.
- Untoro, J, Karyadi, E., Wibowo, L., Erhardt, M.W. dan Gross, R. (2005). Multiple micronutrient supplements improve

micronutrient status and anemia but not growth and morbidity of Indonesian infants: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Journal of Nutrition* **135**: 639S – 645S.

Wuryastuti, H. (1996). The influence of dietary proteins and fats on plasma lipids in *Sprague-Dawley* rats. *Indonesian Food and Nutrition Progress* **7**: 37-41.

Yoshimura, Y., Iijima, T., Watanabe, T. dan Nakazawa, H. (1997). Antioxidative effects of Maillard reaction using glucose-glycine model system. *Journal of Agricultural Food Chemistry* **45** 4106-4109.

Zhang, J., Lewis, R.M., Wang, C., Hales, N. dan Byrne, C.D. (2004). Maternal dietary iron restriction modulates hepatic lipid metabolism in the fetuses. *American Journal of Physiology* **288**: R104-R111.