



Pengaruh Pemberian Kukis Kombinasi Tepung Ikan Tongkol (*Euthynnus affinis*) dan Tepung Bayam (*Amaranthus tricolor*) Dengan Penambahan Probiotik Dadih Terhadap Kadar Feritin Serum Pada Tikus Wistar Anemia

**Azizah Firda Azahra^{1*}, Nur Indrawaty Lipoeto², Zelly Dia Rofinda³,
Rauza Sukma Rita⁴, Desmawati⁵, Dwi Yulia⁶, Ulya Utí Fasrini⁷**

¹Magister Ilmu Biomedis/Fakultas Kedokteran, Universitas Andalas, Padang, Indonesia

^{2,5,7}Departemen Ilmu Gizi/Fakultas Kedokteran, Universitas Andalas, Padang, Indonesia

^{3,6}Departemen Patologi Klinik/Fakultas Kedokteran, Universitas Andalas, Padang, Indonesia

⁴Departemen Biokimia/Fakultas Kedokteran, Universitas Andalas, Padang, Indonesia

*Corresponding Author's e-mail: azzhfrdazhr@gmail.com

Article History:

Received: November 11, 2025

Revised: November 20, 2025

Accepted: November 22, 2025

Keywords:

anemia;
serum ferritin;
skipjack tuna;
spinach;
dadih;
probiotics

Abstract: Anemia is a global health problem characterized by low hemoglobin and ferritin levels due to iron deficiency, which affects growth, cognition, and disease risk, particularly in children and women of reproductive age. Local food-based nutritional interventions such as skipjack tuna (heme iron), spinach (non-heme iron), and dadih (probiotics) have the potential to provide synergistic effects in improving iron status. This study aimed to determine the effect of cookies made from a combination of skipjack tuna flour and spinach with the addition of dadih probiotics on serum ferritin levels, as well as the effectiveness of Sodium Nitrite (NaNO_2) in decreasing ferritin and hemoglobin levels as indicators of anemia. The study used a Post-Test Only Control Group design with 36 female Wistar rats induced with anemia using NaNO_2 at a dose of 25 mg/200 g BW for 18 days, then divided into six treatment groups for 28 days. Ferritin levels were measured using the ELISA method. The results showed that administering cookies made from the combination of skipjack tuna flour and spinach with dadih probiotics significantly increased ferritin levels ($P=0.000$) compared to the control and single-ingredient groups. NaNO_2 was proven effective as an anemia-inducing agent. This combined cookie formulation has the potential to improve serum ferritin levels.

Copyright © 2025, The Author(s).

This is an open access article under the CC-BY-SA license



How to cite: Azahra, A. F., Lipoeto, N. I., Rofinda, Z. D., Rita, R. S., Desmawati, D., Yulia, D., & Fasrini, U. U. (2025). Pengaruh Pemberian Kukis Kombinasi Tepung Ikan Tongkol (*Euthynnus affinis*) dan Tepung Bayam (*Amaranthus tricolor*) Dengan Penambahan Probiotik Dadih Terhadap Kadar Feritin Serum Pada Tikus Wistar Anemia. *SENTRI: Jurnal Riset Ilmiah*, 4(11), 2995–3004. <https://doi.org/10.55681/sentri.v4i11.4950>

INTRODUCTION

Anemia merupakan kondisi yang ditandai dengan penurunan kadar hemoglobin (Hb) dan jumlah sel darah merah di bawah tingkat normal, yaitu Hb <12.0 g/dL pada wanita dan <13.0 g/dL pada pria. Variasi distribusi normal Hb dipengaruhi oleh jenis kelamin, etnis, dan usia (Cappellini, 2015), sehingga ketidaksesuaian ini mengganggu kebutuhan fisiologis individu. Penurunan Hb, hematokrit (HCT), dan sel darah merah (RBC) menyebabkan berkurangnya suplai oksigen, berdampak pada tumbuh kembang anak, fungsi kognitif, dan meningkatkan risiko komplikasi kesehatan (Mentari, 2023).

Anemia defisiensi besi menyumbang 50% dari seluruh kasus anemia (Malesza, 2022). Prevalensinya mencapai 43% di negara berkembang dan 9% di negara maju, dengan kelompok rentan meliputi anak-anak dan wanita usia subur. Di Indonesia, termasuk peringkat kelima kasus anemia tertinggi di regional Asia Tenggara sebesar (35,5%) kesehatan (Mentari, 2023). Berdasarkan SKI 2023, prevalensi anemia mencapai 27.7%, menunjukkan adanya penurunan dibandingkan tahun-tahun sebelumnya (Riskesdas, 2013).

Penyebab utama anemia defisiensi besi adalah kurangnya asupan dan penyerapan zat besi. Faktor diet dan mikrobiota usus turut mempengaruhi (Muleviciene, 2018). Feritin sebagai indikator simpanan zat besi dalam tubuh sangat penting dalam diagnosis anemia (Seyoum, 2021). Pencegahan anemia defisiensi besi dapat dilakukan secara jangka pendek, menengah, dan panjang, dengan strategi yang disesuaikan menurut kelompok usia dan kondisi individu. Pada bayi, penting memastikan kecukupan zat besi melalui ASI eksklusif, MPASI yang diperkaya zat besi, pencegahan infeksi, dan pemberian obat cacing (Sundararajan, 2021). Anak prasekolah hingga remaja memerlukan suplemen zat besi, makanan kaya zat besi, dan upaya menjaga kebersihan. Pada wanita hamil dan menyusui, prioritasnya adalah suplemen zat besi dan asam folat, makanan bergizi, serta fortifikasi pangan. Pola makan seimbang dengan sumber zat besi hewani dan nabati, serta vitamin C untuk meningkatkan penyerapan juga penting (Rusu, 2020). Intervensi gizi melalui modifikasi makanan lokal menjadi pendekatan yang menjanjikan untuk memperbaiki status feritin.

Ikan tongkol (*Euthynnus affinis*) kaya zat besi heme dan memiliki nilai biologis tinggi, sedangkan bayam hijau (*Amaranthus tricolor*) mengandung zat besi non-heme dan vitamin C yang membantu penyerapan zat besi. Pengolahan menjadi tepung memungkinkan pemanfaatan lebih luas dalam pembuatan makanan fungsional seperti kukis (Nabila, 2022). Dadih sebagai probiotik tradisional mengandung bakteri asam laktat (BAL) yang berperan dalam meningkatkan penyerapan zat besi melalui mekanisme reduksi Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} (Skrypnik, 2019). Kombinasi antara sumber zat besi heme, non-heme, dan probiotik memiliki potensi sinergis dalam meningkatkan kadar feritin.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh kukis kombinasi tepung ikan tongkol (*Euthynnus affinis*) dan tepung bayam (*Amaranthus tricolor*) dengan penambahan probiotik dadih terhadap kadar feritin serum. Serta mengkaji efektivitas pemberian Natrium Nitrit (NaNO_2) terhadap kadar feritin dan hemoglobin sebagai indikator anemia pada tikus wistar. Dan diharapkan dapat berkontribusi dalam pengembangan intervensi gizi berbasis pangan lokal serta memberikan solusi potensial dalam pencegahan dan penanganan anemia.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan *true experimental laboratory* dengan rancangan *post-test only control group design*, menggunakan tikus Wistar betina sebagai hewan coba. Induksi anemia dilakukan dengan pemberian natrium nitrit (NaNO_2), diikuti intervensi berupa kukis kombinasi tepung ikan tongkol (*Euthynnus affinis*), tepung bayam (*Amaranthus tricolor*), dan probiotik dadih. Rancangan acak lengkap digunakan untuk menyusun perlakuan secara acak.

Sebanyak 36 ekor tikus dibagi ke dalam enam kelompok ($n=6$), yaitu: K (kontrol): tikus anemia yang hanya diberi pakan standar AIN-93M; P1: kukis tepung ikan tongkol + AIN-93M; P2: kukis tepung bayam + AIN-93M; P3: kukis kombinasi tongkol-bayam +

AIN-93M; P4: kukis kombinasi tongkol-bayam + probiotik dadih + AIN-93M; P5: probiotik dadih + AIN-93M. Setiap perlakuan diberikan selama 28 hari. Data diperoleh melalui perbandingan kadar feritin serum antar kelompok setelah perlakuan. Setiap perlakuan diberikan selama 28 hari. Data diperoleh melalui perbandingan kadar feritin serum antar kelompok setelah perlakuan.

Tempat pembuatan kukis dengan penambahan probiotik dadih dilakukan di Laboratorium Pangan dan Gizi Fakultas Kesehatan Masyarakat, Universitas Andalas. Pemeliharaan hewan coba dan pemberian intervensi dilakukan di *Animal House* Fakultas Farmasi, Universitas Andalas. Serta pengujian kadar feritin serum dilakukan di laboratorium Biomedis Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, kota Padang, Sumatera Barat.

Populasi dalam penelitian ini adalah tikus putih galur Wistar berjenis kelamin betina yang diperoleh dari Animal House Fakultas Farmasi Universitas Andalas. Sampel dipilih berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi. Kriteria inklusi mencakup tikus betina galur Wistar berumur 2–3 bulan dengan berat badan 180–250 gram, serta dalam kondisi sehat tanpa cacat fisik. Sementara itu, kriteria eksklusi meliputi tikus yang mengalami kerontokan atau kebotakan, mengeluarkan eksudat abnormal dari mata, mulut, genital, atau anus, serta tikus dalam kondisi hamil. Adapun kriteria drop out mencakup tikus yang mati selama masa penelitian atau tidak mengonsumsi pakan secara *ad libitum* selama tujuh hari berturut-turut.

Penentuan besar sampel menggunakan rumus Federer, dengan koreksi drop out 15%, sehingga diperoleh enam ekor tikus per kelompok. Total sampel sebanyak 36 ekor dibagi merata dalam enam kelompok. Pengambilan sampel dilakukan secara acak (*simple random sampling*) sesuai desain eksperimental posttest with control group design, untuk meminimalkan bias dan meningkatkan validitas internal.

Pada minggu pertama, tikus menjalani aklimatisasi, kemudian 36 ekor dipilih secara acak sesuai kriteria inklusi dan dibagi menjadi enam kelompok (K, P1–P5), masing-masing terdiri dari enam ekor. Tikus dipelihara berpasangan dalam kandang bersih, pada suhu 20–25°C, kelembaban 75%, pencahayaan cukup, serta diberi pakan dan minum *ad libitum*.

Tikus diinduksi anemia dengan pemberian NaNO₂ dosis 25 mg/200 grBB/Hari. Induksi dilakukan melalui oral yang dilarutkan dalam 10 cc akuades. Anemia terkonfirmasi dengan pengambilan darah melalui kanthus medial (perirbita) sebanyak 2 cc kemudian dilakukan pemeriksaan kadar feritin (metode ELISA dari serum hasil sentrifugasi 4000 rpm/10 menit) dan kadar Hb menggunakan POCT EasyTouch® GCHb. tikus dikategorikan anemia bila feritin <15 ng/mL dan Hb <12 g/dL (Wahyuni, 2024). Berat badan, aktivitas, konsumsi makan minum dipantau selama intervensi. Tikus sakit/mati diganti sesuai kriteria inklusi. Setelah perlakuan, dilakukan posttest dengan analisis kadar feritin serum antar kelompok.

Proses pembuatan tepung ikan tongkol mengikuti metode Hasyi (2023), dimulai dari pembersihan, perendaman dalam air jeruk nipis, pengukusan 30 menit, pemisahan daging dari tulang, pengeringan pada suhu 60°C selama 5 jam, dan penggilingan, lalu diayak dengan saringan 80 mesh (Hasyi, 2023). Tepung bayam dibuat berdasarkan modifikasi metode Chairul (2019), melalui sortasi, pencucian, pemotongan daun, pengeringan suhu 60°C selama 4 jam, penggilingan, dan pengayakan serupa. Kukis diformulasi mengacu pada Hasyi (2020), menggunakan bahan dasar standar, ditambahkan 60 g tepung ikan tongkol, 30 g tepung bayam, dan 30 g dadih. Penambahan bahan

disesuaikan dengan standar BPOM untuk memenuhi minimal 15% kebutuhan zat besi harian ($\geq 3,3$ mg/100 g). Adonan dicetak dan dipanggang pada suhu 60°C selama 80 menit. Pembuatan pakan menggunakan pakan standar AIN-93M yang komposisinya mengacu pada pedoman American Institute of Nutrition. Pakan tersebut diperoleh dari Animal House, Fakultas Farmasi, Universitas Andalas.

Pemberian intervensi berupa kukis kombinasi tepung ikan tongkol dan tepung bayam dengan penambahan probiotik dadih dilakukan melalui sonde sebanyak 1,49 gram per ekor tikus per hari selama 28 hari, sesuai masa hidup eritrosit tikus yaitu 20–30 hari (Mayasari, 2019). Dosis ditentukan berdasarkan konversi kebutuhan manusia ke tikus menggunakan rumus MBSA dengan faktor konversi 0,018 (Hasanalita, 2019), menghasilkan kebutuhan zat besi sekitar $445\text{ }\mu\text{g/hari}$, atau setara 85% dari kebutuhan harian tikus (Lee, 2022). Kukis mengandung 29,8 mg zat besi per 100 gram, dan dilarutkan dalam 50 cc akuades (konsentrasi 20g/50cc), dengan volume sonde 3,75 cc/hari/tikus. Volume ini masih dalam batas aman ($10\text{--}20\text{ mL/kgBB/hari}$) sesuai standar IACUC.

Pemeriksaan kadar feritin serum dilakukan menggunakan metode ELISA dengan Kit ELISA Rat Ferritin FineTest®. Sampel darah sebanyak ± 2 cc diperoleh melalui vena periorbita, disentrifugasi pada 4000 rpm selama 10 menit untuk mendapatkan serum, kemudian disimpan pada suhu -20°C hingga analisis dilakukan. Prosedur ELISA dimulai dengan menambahkan 40 μL sampel, 10 μL antibodi anti-FE, dan 50 μL streptavidin HRP ke dalam masing-masing well pada microplate, diikuti dengan inkubasi 60 menit pada suhu 37°C . Plate dicuci lima kali menggunakan akuades, kemudian ditambahkan 50 μL substrat A dan B, dan diinkubasi kembali selama 10 menit dalam kondisi gelap. Reaksi dihentikan dengan penambahan 50 μL stop solution hingga warna berubah dari biru menjadi kuning. Absorbansi dibaca menggunakan ELISA reader pada panjang gelombang 450 nm dalam waktu maksimal 10 menit setelah penambahan stop solution.

Pengolahan data dilakukan secara kuantitatif menggunakan SPSS versi 20, diawali dengan data clearance. Analisis univariat digunakan untuk mendeskripsikan variabel numerik seperti berat badan dan kadar feritin serum, yang disajikan dalam bentuk rerata, standar deviasi, nilai minimum, dan maksimum. Uji normalitas data dilakukan menggunakan Shapiro-Wilk untuk menentukan jenis uji statistik yang sesuai. Uji *paired sample t-test* dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian natrium nitrit terhadap kadar feritin dan hemoglobin ($p < 0,05$; CI 95%). Untuk mengetahui perbedaan kadar feritin antar kelompok intervensi, digunakan uji *One Way ANOVA* dengan *post hoc Bonferroni* pada tingkat kemaknaan $p < 0,05$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik subjek penelitian berdasarkan berat badan tikus Wistar ditunjukkan pada Tabel 1. Rata-rata berat badan sebelum intervensi adalah $200,22 \pm 9,96$ g dan meningkat menjadi $221,53 \pm 15,25$ g setelah intervensi. Uji *One Way ANOVA* menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan berat badan yang bermakna antar kelompok baik sebelum ($p = 0,842$) maupun sesudah intervensi ($p = 0,906$), sehingga dapat disimpulkan bahwa intervensi tidak berpengaruh signifikan terhadap berat badan.

Hasil uji *paired sample t-test* (Tabel 2) menunjukkan bahwa pemberian natrium nitrit (NaNO_2) selama 18 hari secara signifikan menurunkan kadar feritin serum dari $28,86 \pm 2,89$ ng/mL menjadi $6,69 \pm 1,25$ ng/mL ($p = 0,000$), dan hemoglobin dari $13,77 \pm 0,22$ g/dL menjadi $10,68 \pm 0,63$ g/dL ($p = 0,000$), yang mengindikasikan keberhasilan induksi anemia.

Tabel 3 memperlihatkan kadar feritin serum setelah intervensi. Rata-rata kadar feritin serum tertinggi ditemukan pada kelompok P4 ($26,47 \pm 1,21$ ng/mL), sedangkan terendah pada kelompok kontrol ($6,69 \pm 1,25$ ng/mL). Uji One Way ANOVA menunjukkan perbedaan yang bermakna antar kelompok ($p=0,000$).

Analisis lanjutan menggunakan uji *post hoc Bonferroni* (Tabel 4) menunjukkan perbedaan signifikan antara kelompok kontrol (K) dengan kelompok P1–P4 ($p<0,05$), sedangkan perbandingan antara K dan P5 tidak bermakna ($p=0,102$). Tidak terdapat perbedaan signifikan antara kelompok P1, P2, P3, dan P4 ($p>0,05$), yang mengindikasikan bahwa kukis tunggal maupun kombinasi tanpa probiotik memiliki efek peningkatan feritin yang setara.

Tabel 1. Rata-Rata Berat Badan Tikus Wistar Anemia Sebelum dan Sesudah Intervensi

Kelompok	n	Berat badan Tikus (Gram)	
		Sebelum	Sesudah
K	6	205.33 ± 13.337	219.33 ± 17.829
P1	6	198.17 ± 8.472	227.00 ± 13.236
P2	6	198.17 ± 12.497	217.67 ± 18.949
P3	6	200.33 ± 7.367	223.00 ± 14.213
P4	6	198.83 ± 11.873	218.50 ± 18.229
P5	6	200.50 ± 7.064	200.50 ± 7.064
P ¹	36	200.22 ± 9.963	221.53 ± 15.246
P ²	36	0.842	0.906

Keterangan :

Hasil disajikan dalam rata-rata + SD

n : Jumlah Tikus

P¹ : Jumlah rata-rata dan standar deviasi berat badan tikus sebelum dan sesudah intervensi

P² : Hasil analisis *one way ANOVA* antar kelompok dalam kolom yang sama

K : Tikus anemia diberi pakan standar; P1: tikus anemia diberi kukis tepung ikan tongkol; P2: tikus anemia diberi kukis tepung bayam; P3: tikus anemia diberi kukis kombinasi tepung ikan tongkol dan tepung bayam; P4: tikus anemia diberi kukis kombinasi tepung ikan tongkol dan tepung bayam dengan penambahan dadih; P5: tikus anemia diberi dadih

Tabel 2. Perubahan Kadar Feritin Serum dan Hemoglobin pada Tikus Wistar Sebelum dan Sesudah Induksi Natrium Nitrit (NaNO₂)

Variabel	n	Sebelum	Sesudah	P ¹
Feritin Serum	6	28.863 ± 2.886	6.693 ± 1.252	0.000
Hemoglobin	6	13.766 ± 0.216	10.683 ± 0.633	0.000

Keterangan :

Hasil disajikan dalam rata-rata $\pm$ SD

n : Jumlah Tikus

P¹ : Hasil analisis *Paired Sampel T-Test* sebelum dan sesudah induksi Natrium Nitrit (NaNO₂) dari kelompok yang sama.

Tabel 3. Nilai Rata-Rata Kadar Feritin Serum Antar Kelompok pada Tikus Wistar Anemia Sesudah diberikan Intervensi

Kelompok	n	Mean $\pm$ SD (ng/mL)	Min – Max (ng/mL)	P ¹
K	6	6.693 $\pm$ 1.252	5.518 - 8.787	0.000
P1	6	25.039 $\pm$ 1.262	22.764 - 26.037	
P2	6	23.860 $\pm$ 1.292	21.715 - 25.204	
P3	6	25.777 $\pm$ 0.662	24.696 - 26.387	
P4	6	26.468 $\pm$ 1.207	25.228 - 28.695	
P5	6	9.435 $\pm$ 3.044	6.037 - 14.804	

Keterangan :

n : Jumlah Tikus

P¹ : Hasil analisis *One Way Anova* antar kelompok dalam kolom yang sama

K : Tikus anemia diberi pakan standar; P1: Tikus anemia diberi kukis tepung ikan tongkol; P2: tikus anemia diberi kukis tepung bayam; P3: tikus anemia diberi kukis kombinasi tepung ikan tongkol dan tepung bayam; P4: tikus anemia diberi kukis kombinasi tepung ikan tongkol dan tepung bayam dengan penambahan dadih; P5: tikus anemia diberi dadih

Tabel 4. Hasil Analisis Pengaruh Pemberian Intervensi Terhadap Kadar Feritin Serum Antar Kelompok Tikus Wistar Anemia

Kelompok	K*	P1*	P2*	P3*	P4*	P5*
K	-	0.000	0.000	0.000	0.000	0.102
P1	0.000	-	1.000	1.000	1.000	0.000
P2	0.000	1.000	-	0.764	0.144	0.000
P3	0.000	1.000	0.764	-	1.000	0.000
P4	0.000	1.000	0.144	1.000	-	0.000
P5	0.102	0.000	0.000	0.000	0.000	-

Keterangan :

Hasil analisis *Post Hoc Bonferroni* antar kelompok disajikan dalam nilai signifikansi P value ($P < 0.05$) dengan *Confidence Interval* 95%

K : Tikus anemia diberi pakan standar; P1: tikus anemia diberi kukis tepung ikan tongkol; P2: tikus anemia diberi kukis tepung bayam; P3: tikus anemia diberi kukis kombinasi tepung ikan tongkol dan tepung bayam; P4: tikus anemia diberi kukis kombinasi tepung ikan tongkol dan tepung bayam dengan penambahan dadih; P5: tikus anemia diberi dadih

Pemberian natrium nitrit (NaNO_2) terbukti menurunkan kadar feritin dan hemoglobin secara signifikan, yang menunjukkan bahwa senyawa ini efektif dalam menginduksi anemia pada tikus Wistar. Penurunan kadar feritin di bawah 15 ng/mL menunjukkan terjadinya anemia defisiensi besi (Garcia, 2015). Temuan ini sejalan dengan laporan Sandy (2021) bahwa pemberian NaNO_2 menurunkan kadar Hb hingga 11,9 g/dL (Sandy, 2021). NaNO_2 bekerja dengan mengoksidasi hemoglobin ferro (Fe^{2+}) menjadi ferri (Fe^{3+}), yang tidak mampu mengikat oksigen, membentuk methemoglobin (Kusumatjahja, 2022). Akibatnya, kemampuan darah dalam mengangkut oksigen menurun, memicu hipoksia jaringan. Respon tubuh terhadap hipoksia berupa peningkatan eritropoiesis melalui aktivasi eritropoietin oleh ginjal dan globulin oleh hati (Maisaroh, 2019). Namun,

stres oksidatif akibat NaNO_2 memicu hemolisis dan kerusakan eritrosit serta hepatosit, yang pada akhirnya menurunkan sintesis ferritin akibat hambatan translasi oleh ikatan iron regulatory protein (IRP) pada mRNA ferritin. Aktivasi stres oksidatif juga menyebabkan peroksidasi lipid, penurunan glutathione, dan kerusakan membran sel darah merah yang memperparah anemia (Ansari, 2017).

Setelah pemberian intervensi selama 28 hari, kadar feritin serum meningkat signifikan pada semua kelompok perlakuan dibandingkan kelompok kontrol. Peningkatan ini menunjukkan perbaikan status besi dan efektivitas intervensi terhadap pemulihan anemia defisiensi zat besi. Kadar feritin tertinggi dicapai oleh kelompok P4 (26,468 ng/mL), yang menerima kombinasi kukis tepung ikan tongkol (zat besi heme), tepung bayam (non-heme), dan probiotik dadih. Ikan tongkol, sumber zat besi heme, memiliki bioavailabilitas tinggi (hingga 35%) karena diserap melalui transporter *Heme carrier protein 1* (HCP1) secara independen dari pH lambung dan inhibitor makanan (Kumar, 2022). Bayam, sebagai sumber zat besi non-heme, mengandung 3,9 mg zat besi per 100 g (Hasyi, 2023), namun penyerapannya dibatasi oleh fitat, oksalat, dan polifenol (Abbas, 2022). Meskipun begitu, kandungan vitamin C dan beta-karoten dalam bayam mendukung konversi Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} untuk meningkatkan penyerapan melalui transporter DMT1 (Andina, 2018). Probiotik dari dadih, seperti *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium*, berperan penting dalam meningkatkan bioavailabilitas zat besi dengan menurunkan pH usus, menghasilkan siderofor, serta menekan hormon hepcidin (Jurnalis, 2020). Probiotik juga meningkatkan ekspresi DMT1 dan ferroportin, memperkuat jalur absorpsi dan transportasi zat besi.

Kelompok P3 yang mendapat kombinasi tepung ikan tongkol (zat besi heme) dan bayam (non-heme) tanpa probiotik menunjukkan kadar feritin serum sebesar 25,777 ng/mL, sedikit lebih rendah dari kelompok P4 yang mendapat tambahan probiotik. Meskipun kombinasi zat besi heme dan non-heme memberikan efek sinergis, ketiadaan probiotik membatasi penyerapan zat besi non-heme karena tidak tercipta lingkungan usus yang cukup asam untuk mereduksi Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} . Sebaliknya, zat besi heme tetap diserap secara efisien melalui HCP1 (Kumar, 2022), dan turut meningkatkan absorpsi non-heme melalui mekanisme *meat factor* (Hurrell, 2019).

Kelompok P1 (zat besi heme) memiliki kadar feritin lebih tinggi (25,039 ng/mL) dibanding P2 (non-heme, 23,860 ng/mL), karena zat besi heme diserap lebih efisien dan tidak dipengaruhi inhibitor makanan (Kumar, 2020). Sebaliknya, zat besi non-heme dari bayam terhambat oleh fitat, oksalat, dan polifenol, serta tidak didampingi enhancer seperti vitamin C (Seyoum, 2021). Kelompok P5 yang hanya menerima probiotik menunjukkan peningkatan kadar feritin minimal (9,435 ng/mL), namun tetap lebih tinggi dari kelompok kontrol anemia. Probiotik berperan dalam meningkatkan absorpsi zat besi melalui penurunan pH usus, peningkatan ekspresi DMT1, dan penurunan hepcidin, namun tidak memberikan kontribusi langsung zat besi, sehingga efeknya terbatas tanpa asupan zat besi yang adekuat (Apte, 2025).

Uji Post Hoc Bonferroni menunjukkan bahwa kelompok P4 mengalami peningkatan kadar feritin serum yang signifikan dibanding kelompok kontrol dan perlakuan lain (P1, P2, P3), sedangkan P5 (probiotik saja) tidak berbeda bermakna dengan kontrol. Hal ini mengindikasikan bahwa probiotik tanpa asupan zat besi tidak cukup efektif meningkatkan status feritin. Efektivitas P1 dan P4 sejalan dengan literatur yang menunjukkan bahwa zat besi heme lebih mudah diserap dibandingkan non-heme karena mekanismenya tidak terpengaruh pH atau inhibitor (Kalman, 2025). Penambahan

probiotik dalam P4 memperkuat efek ini melalui penurunan pH lumen usus, peningkatan ekspresi DMT1 dan ferroportin, serta penurunan hepcidin yang menghambat pelepasan zat besi (Hadadi, 2021). Temuan ini diperkuat studi sebelumnya yang menunjukkan bahwa kombinasi zat besi dan probiotik lebih efektif meningkatkan kadar feritin dibanding zat besi saja (Axling, 2020). Dengan demikian, kombinasi zat besi heme dari ikan tongkol, non-heme dari bayam, dan probiotik dari dadih terbukti sebagai strategi gizi fungsional yang paling efektif dalam meningkatkan status feritin dan berpotensi digunakan untuk mengatasi anemia defisiensi besi.

Penelitian ini memiliki keterbatasan karena hanya menggunakan kadar feritin sebagai indikator status besi, tanpa melibatkan parameter tambahan seperti saturasi transferrin, kadar besi serum, dan Total Iron Binding Capacity (TIBC), yang sebenarnya dapat memberikan gambaran status besi tubuh secara lebih menyeluruh. Selain itu, pengukuran sitokin inflamasi belum dilakukan, padahal hal ini penting untuk mendukung interpretasi data, mengingat peran stres oksidatif dan inflamasi dalam mekanisme anemia yang diinduksi oleh NaNO_2 .

KESIMPULAN

Penelitian ini menyimpulkan bahwa pemberian natrium nitrit secara oral terbukti efektif sebagai agen induksi anemia, ditandai dengan penurunan kadar feritin serum dan hemoglobin pada tikus Wistar. Setelah dilakukan intervensi, kombinasi kukis berbahan tepung ikan tongkol dan tepung bayam dengan penambahan probiotik dadih menunjukkan pengaruh paling signifikan dalam meningkatkan status feritin dibandingkan kelompok kontrol maupun perlakuan tunggal. Temuan ini menunjukkan adanya potensi sinergis antara zat besi heme, non-heme, dan probiotik dalam memperbaiki status zat besi tubuh, serta mendukung pendekatan gizi fungsional sebagai strategi intervensi anemia defisiensi besi.

PENGAKUAN/ACKNOWLEDGEMENTS

Penulis menyampaikan terima kasih kepada Fakultas Kedokteran Universitas Andalas atas dukungan fasilitas laboratorium dan sarana penelitian. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada Laboratorium Farmasi dan Animal House Fakultas Farmasi Universitas Andalas atas bantuan teknis selama proses penelitian. Penulis menghargai kontribusi semua pihak yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian ini, baik secara langsung maupun tidak langsung.

DAFTAR REFERENSI

- [1] Cappellini MD, Motta. Anemia in clinical practice—Definition and classification: Does hemoglobin change with aging. *Semin Hematol* [Internet]. 2015;52(4):261–9. Available from: <https://doi.org/10.1053/j.seminhematol.2015.06.002>
- [2] Mentari D. *Mengenal Anemia : Patofisiologi, Klasifikasi, Dan Diagnosis*. BRIN. Jakarta; 2023.
- [3] Malesza IJ, Bartkowiak-Wieczorek J, Winkler-Galicki J, Nowicka A, Dzieciołowska D, Błaszczyk M, et al. The Dark Side of Iron: The Relationship between Iron, Inflammation and Gut Microbiota in Selected Diseases Associated with Iron Deficiency Anaemia—A Narrative Review. *Nutrients*. 2022;14(17).
- [4] Riskesdas K. *hasil utama riset kesehatan dasar (RISKESDAS)*. J Kesehat. 2013;
- [5] Muleviciene A, D'Amico F, Turrone S, Candela M, Jankauskiene A. Iron deficiency

- anemia-related gut microbiota dysbiosis in infants and young children: A pilot study. *Acta Microbiol Immunol Hung*. 2018;65(4):551–64.
- [6] Seyoum Y. Iron homeostasis in host and gut bacteria—a complex interrelationship. *Gut Microbes* [Internet]. 2021;13(1):1–19. Available from: <https://doi.org/10.1080/19490976.2021.1874855>
- [7] Sundararajan, Rabe. Prevention of iron deficiency anemia in infants and toddlers. *Pediatr Res*. 2021;89(1):63–73.
- [8] Rusu IG, Suharoschi R, Vodnar DC, Pop CR, Socaci SA, Vulturar R, et al. Iron supplementation influence on the gut microbiota and probiotic intake effect in iron deficiency—A literature-based review. *Nutrients*. 2020;12(7):1–17.
- [9] Nabila ZE. Pengaruh Substitusi Tepung Bayam Hijau (*Amaranthus hybridus* L.) Sebagai Alternatif Bahan Pangan Fungsional Terhadap Daya Terima, Kandungan Zat Gizi (Karbohidrat, Protein, Lemak, Kadar Air dan Kadar Abu), dan Kadar Zat Besi Pada Donat. *Skripsi*. 2022;1–106.
- [10] Skrypnik K, Bogdański P, Schmidt M, Suliburska J. The Effect of Multispecies Probiotic Supplementation on Iron Status in Rats. *Biol Trace Elem Res*. 2019;192(2):234–43.
- [11] Hasyi YI. Pengembangan Cookies Kombinasi Tepung Ikan Tongkol (*Euthynnus Affinis*) Dan Tepung Daun Bayam (*Amaranthus Tricolor*) Sebagai Cemilan Sehat Pada Remaja Putri Anemia Besi. Vol. 13, *Nucl. Phys. Universitas Andalas*; 2023.
- [12] Mayasari OR. Pengaruh Cookies Bar Berbasis Sukun (*Artocarpus Altilis*) Dan Kedelai (*Glycine Max* L.) Dengan Prebiotik Dan Fortifikasi Besi Terhadap Hemoglobin Dan Ferritin Tikus Sprague Dawley Anemia. *Universitas Gajah Mada*; 2019.
- [13] Hasanlita H, Amir A, Defrin D. Efektifitas Ekstrak Jambu Biji Terhadap Kadar Hemoglobin Pada Tikus Bunting. *J Kesehat Andalas*. 2019;8(2):290.
- [14] Lee JK, DeLellis R, Ebea P, Zhu S, R. T. Establishing dietary iron requirements for mouse and rat models of hereditary hemochromatosis. *FASEB J* [Internet]. 2022;36(1):R2602. Available from: <https://doi.org/10.1096/fasebj.2022.36.S1.R260236>
- [15] García López S, Rubio A, Poza V, Bermejo, García López S. Optimal management of iron deficiency anemia due to poor dietary intake. *Int J Gen Med*. 2015;741.
- [16] Sandy EN. Pengaruh Pemberian Ekstrak Rumput Laut Cokelat (*Sargassum Duplicatum*) Terhadap Peningkatan Kadar Hemoglobin Pada Darah Tikus Jantan (*Rattus Norvegicus*) Galur Wistar Anemia Yang Di Induksi Nano2. *Ocean Biomed J*. 2021;Vol 4(1):11–25.
- [17] Kusumatjahja GA. Pengaruh Vitamin C Pada Profil Darah Tikus (*Rattus norvegicus*) Jantan yang Diinduksi Natrium Nitrit (NaNO_2). *Univ Udayana*. 2022;2:186–98.
- [18] Maisaroh A. The Intervention Effect Of Spinach Juice (*Amaranthus Hybridus* L.) With Pineapple (*Ananas Comosus* (L) Merr) Against Hemoglobin Level In White Rats (*Rattus Norvegicus* L.) Sodium Nitrite-Induced Strain Of Wistar. 2019.
- [19] Ansari FA. Taurine mitigates nitrite-induced methemoglobin formation and oxidative damage in human erythrocytes. *Environ Sci Pollut Res Int* [Internet]. 2017;24(23). Available from: <https://doi.org/10.1007/s11356-017-9512-5>
- [20] Kumar A, Sharma E, Marley A, Samaan MA, Brookes MJ. Iron deficiency anaemia: Pathophysiology, assessment, practical management. *BMJ Open*

- Gastroenterol. 2022;9(1):1–9.
- [21] Abbas M, Hayirli Z, Drakesmith H, Andrews SC, Lewis MC. Effects of iron deficiency and iron supplementation at the host-microbiota interface: Could a piglet model unravel complexities of the underlying mechanisms. *Front Nutr*. 2022;9(1):1–12.
- [22] Andina R, Kuswari M, Melani V. Hubungan Asupan Zat Gizi dan Status Gizi Remaja Putri di SMK Ciawi Bogor. *Indones J Hum Nutr*. 2018;5(2):125.
- [23] Jurnal YD. Pengaruh Pemberian Dadih Terhadap Keseimbangan Mikroflora Usus dan Tinggi Vili Ileum. *Sari Pediatr*. 2020;21(4):207.
- [24] Hurrell RF EII. Iron bioavailability and dietary reference values. *Am J Clin Nutr* [Internet]. 2019;91(5). Available from: <https://doi.org/10.3945/ajcn.2010.28674F>
- [25] Apte A, Parge A, Nimkar R, Sinha A. Effect of probiotic and prebiotics supplementation on hemoglobin levels and iron absorption among women of reproductive age and children: a systematic review and meta-analysis. *BMC Nutr* [Internet]. 2025;11(1). Available from: <https://doi.org/10.1186/s40795-025-01015-3>
- [26] Kalman D, Hewlings S, Madelyn-Adjei A, Ebersole B. Dietary Heme Iron: A Review of Efficacy, Safety and Tolerability. *Nutr*. 2025;17(13):1–17.
- [27] Hadadi N, Berweiler V, Wang H, Trajkovski M. Intestinal microbiota as a route for micronutrient bioavailability. *Curr Opin Endocr Metab Res* [Internet]. 2021;20:10028. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.coemr.2021.100285>
- [28] Axling U, Önning G, Combs MA, Bogale A, Högström M, Svensson M. *Lactobacillus plantarum* 299v improves iron status in female iron-deficient athletes: A randomized controlled trial. *Nutrients* [Internet]. 2020;12(5). Available from: <https://doi.org/10.3390/nu12051279>