

LAPORAN TEKNIS 2016

56/AIR 4/OT 02 02/01/2017

**PENGEMBANGAN TEKNIS PENGEMBANGAN TEKNIK
PERUNUT ISOTOP STABIL UNTUK MENGETAHUI STATUS
GIZI ANAK**

Ermin Katrin H., Susanto, Hendig Winarno



**PUSAT APLIKASI ISOTOP DAN RADIASI
BADAN TENAGA NUKLIR NASIONAL
2017**

LAPORAN TEKNIS 2016

56/AIR 4/OT 02 02/01/2017

PENGEMBANGAN TEKNIS PENGEMBANGAN TEKNIK
PERUNUT ISOTOP STABIL UNTUK MENGETAHUI STATUS
GIZI ANAK

Ermin Katrin H., Susanto, Hendig Winarno

Mengetahui/Menyetujui

Kepala Bidang Proses Radiasi



Dr. Darmawan
NIP. 1910108 198803 1 002

Kepala Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi



Totti Tjiptosumirat
NIP. 19630830 198803 1 002

**PENGEMBANGAN TEKNIK PERUNUT ISOTOP STABIL
UNTUK MENGETAHUI STATUS GIZI ANAK
(SERAPAN ZAT BESI PADA ANAK)**

ABSTRAK

Program pemerintah untuk mengatasi masalah KVA bergeser dari suplementasi vitamin A menjadi fortifikasi vitamin A dengan *vehicle* minyak goreng dan untuk mengatasi anemia pada anak dengan pemberian tablet tambah darah. Vitamin A dalam hati anak merupakan indikasi bahwa anak mempunyai cadangan vitamin A yang cukup. Teknik isotop stabil dilusi (*stable isotope dilution technique*) sangat bermanfaat untuk menilai efikasi dari suatu intervensi vitamin A di populasi. Selain itu isotop stabil D₂O diterapkan pada validasi kuesioner untuk ibu yang memberikan air susu ibu eksklusif kepada bayinya dan kuesioner kepada anak untuk menentukan komposisi tubuh anak melalui aktivitas fisik anak. Penelitian ini bertujuan untuk melihat dampak pemberian minyak goreng berfortifikasi vitamin A (45 IU) selama 6 bulan (Kelompok 1) terhadap status vitamin A dibandingkan dengan pemberian kapsul vitamin A dosis tinggi atau kombinasi kapsul vitamin A dosis tinggi (Kelompok 2) dan minyak goreng berfortifikasi vitamin A (Kelompok 3) dengan menggunakan teknik isotop stabil dilusi. Telah dilakukan pemberian isotop stabil ¹³C₁₀-retinil asetat kepada 62 anak balita usia 36 – 59 bulan di Puskesmas Ciomas Bogor, sampling darah, antropometri (berat dan tinggi badan), wawancara menggunakan kuesioner nutrisi yang mengandung vitamin A. Aplikasi isotop stabil D₂O telah diterapkan kepada ibu dan bayi usia 3 dan 6 bulan (terdapat 30 responden) di kota Bogor dan untuk mengetahui komposisi tubuh 121 anak usia 8-12 tahun di SD Pabrik Es, Bogor. Telah diperoleh data kandungan D₂O dalam saliva dari 30 pasang ibu dan bayi usia 3 dan 6 bulan, pengolahan data sedang dalam proses. Alat FTIR dari IAEA telah diperoleh, kadar D₂O dalam saliva 121 anak SD Pabrik Es sedang dianalisis. Protokol penelitian telah diajukan ke Komisi Etik, saat ini sedang ditelaah oleh Komisi Etik.

Kata kunci: isotop stabil, ¹³C₁₀-retinil asetat, deuterium oksida, Fe-58, teknik isotop stabil dilusi

PENDAHULUAN

Keberhasilan Indonesia dalam mengatasi masalah Kekurangan Vitamin A (KVA) ditunjukkan dengan adanya penurunan prevalensi xerophthalmia dari 1,34% pada tahun 1978 menjadi 0,35% di tahun 1992. Berdasarkan studi yang dilakukan oleh Susilowati, dkk di tujuh propinsi, dilaporkan bahwa kurang dari 15% (14,6%) Balita yang mempunyai kadar retinol serum $< 20 \mu\text{g/dl}$. Hal ini menunjukkan KVA bukan merupakan masalah kesehatan masyarakat (*cut-off* WHO 15%).

Vitamin A dalam hati anak merupakan indikasi bahwa anak mempunyai cadangan vitamin A yang cukup. Teknik isotop stabil dilusi (*stable isotope dilution technique*) sangat bermanfaat untuk menilai efikasi dari suatu intervensi vitamin A di populasi. Dengan teknik ini dapat diukur kadar vitamin A di hati secara kuantitatif dengan pendekatan total vitamin A tubuh dan mengatasi kesulitan evaluasi intervensi vitamin A karena penggunaan parameter serum retinol.

Anemia gizi masih merupakan salah satu masalah gizi utama di Indonesia yang sampai saat ini masih sulit untuk ditanggulangi. Anemia gizi adalah suatu keadaan kadar haemoglobin (Hb) dalam darah kurang dari normal yang berbeda menurut kelompok umur, jenis kelamin dan kondisi fisiologis. Di Indonesia sebagian besar anemia ini disebabkan karena kekurangan zat besi (Fe) hingga disebut Anemia Kekurangan Zat Besi atau Anemia Gizi Besi. Data Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2013 menunjukkan prevalensi anemia pada balita usia 12-59 bulan di Indonesia sebesar 28,1%, yang artinya 1 dari 4 balita di Indonesia menderita anemia. Defisiensi zat besi yang terjadi pada anak berhubungan erat dengan status gizi anak tersebut. Prevalensi anemia pada perempuan kelompok umur 5-12 tahun sebesar 29,4%, kelompok umur 13-18 tahun sebesar 17,5%, WUS 15-49 tahun 22,7% dan ibu hamil 37,1% sedangkan data Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) tahun 2012 menemukan hasil yang lebih tinggi dimana prevalensi anemia remaja putri usia 10-18 tahun sebesar 57,1% dan usia 19- 45 tahun sebesar 39,5% (1,2). Salah satu upaya pemerintah dalam menanggulangi masalah anemia pada ibu hamil maupun remaja adalah berupa pemberian suplementasi tablet tambah darah baik kepada ibu hamil maupun remaja puteri seperti yang telah diatur dalam Permkenkes no.88 tahun 2014. Kegiatan suplementasi TTD dilakukan secara baik oleh pemerintah maupun mandiri dengan dosis 1 tablet seminggu sekali minimal selama 16 minggu, dan dianjurkan minum 1 tablet setiap hari selama masa

haid/menstruasi dan 1 tablet per minggu setelah masa haid/menstruasi. Selain itu juga dianjurkan konsumsi makanan kaya besi dilaksanakan dengan mengacu pada gizi seimbang. Setiap tablet tambah darah mengandung Fero sulfat 200 mg atau setara 60 mg besi elemental dan 0,25 mg asam folat. Namun demikian upaya yang telah dilakukan pemerintah tersebut sampai saat ini belum memberikan hasil yang cukup signifikan dalam menurunkan prevalensi anemia. Hal tersebut dapat dilihat dari masih tingginya prevalensi anemia terutama pada kelompok yang rentan untuk menderita anemia.

Oleh karena itu sesuai Renstra BATAN 2015-2019 dilakukan kegiatan pemanfaatan teknik isotop stabil ^{58}Fe untuk mengetahui serapan zat besi pada anak dan status vitamin A dalam tubuh anak balita yang telah diberi makanan fortifikasi vitamin A (TC IAEA *“Using Stable Isotope Tracer for studying the vitamin A status of children”* (INS/6/019)). Aplikasi teknik analisis nuklir untuk memberikan gambaran akurat mengenai tingkat asupan mikronutrisi anak balita. Hasil yang diperoleh diharapkan dapat digunakan sebagai acuan berbasis ilmiah oleh berbagai pihak terkait untuk mengambil langkah dan kebijakan yang tepat dan terarah dalam upaya untuk menurunkan kasus malnutrisi di Indonesia. Penelitian ini akan melibatkan PAIR-BATAN bekerjasama dengan Balitbangkes-Kemkes, dan Pemerintah Daerah terkait. Outcome yang diperoleh yaitu dimanfaatkannya teknik isotop dan analisis nuklir untuk mendukung penanganan malnutrisi. Pada penelitian tahun 2016 ini peneliti ingin mengetahui korelasi nilai status gizi dengan menggunakan indeks BB/TB dan jumlah zat besi dalam darah anak usia 2-5 tahun. Feritin merupakan cadangan besi yang disimpan oleh tubuh dalam hati dan sumsum tulang. Dalam siklus metabolisme besi tanda awal anemia bisa dilihat dari menurunnya cadangan besi (feritin) dalam darah. Pada tahun 2016 telah disusun protokol penelitian **“Pengembangan Teknik Perunut untuk Mengetahui Absorpsi Zat Besi (Fe) pada Anak Remaja Putri (Usia 15 -18 tahun)”**, pada akhir tahun 2017 diharapkan menghasilkan output berupa data riset tentang status zat besi anak balita. Tujuan penelitian ini yaitu pemanfaatan isotop stabil ^{58}Fe untuk mengetahui serapan zat besi pada remaja putri usia 15-18 tahun, karena remaja putri sebagai calon ibu harus sehat tidak mengalami anemia.

Dalam forum-forum internasional seperti *International Atomic Energy Agency*

(IAEA), BATAN telah berperan aktif dalam kegiatan litbang teknik nuklir untuk kesehatan khususnya nutrisi, seperti dalam TC 2016-2017, RAS 6/073 dan RAS 6/080. Sejalan dengan misi BATAN yaitu mengembangkan iptek nuklir yang handal, berkelanjutan dan bermanfaat bagi masyarakat sertatugas dan fungsi BATAN yaitu “peningkatan peran iptek nuklir dalam pembangunan nasional”, maka salah satu rencana strategis (RENSTRA) BATAN 2015-2019 adalah pemanfaatan iptek nuklir untuk membantu permasalahan bangsa di bidang kesehatan melalui penyediaan basis data kandungan dalamvitamin A serum darah anak balita di daerah yang masih tinggi jumlah gizi kurang dan buruk.

Masalah gizi memiliki dampak yang luas, tidak saja terhadap kesakitan, kecacatan, dan kematian, tetapi juga terhadap pembentukan sumber daya manusia (SDM) yang berkualitas dengan produktifitas optimal. Kualitas anak ditentukan sejak terjadinya konsepsi hingga masa Balita. Gizi yang baik merupakan landasan kesehatan, gizi mempengaruhi kekebalan tubuh, kerentanan terhadap penyakit, pertumbuhan dan perkembangan anak. Kecukupan gizi ibu selama hamil hingga anak berusia di bawah 5 tahun serta pola pengasuhan yang tepat akan memberikan kontribusi nyata dalam mencetak generasi unggul. Mengutip data Riskesdas 2013, prevalensi gizi kurang pada balita (BB/U<-2SD) memberikan gambaran yang fluktuatif dari 18,4 % (2007) menurun menjadi 17,9 % (2010) dan kini meningkat lagi menjadi 19,6 % (tahun 2013), terdiri dari 5,7 persen gizi buruk dan 13,9 persen gizi kurang (1). Obesitas sentral merupakan kondisi sebagai faktor risiko yang berkaitan erat dengan beberapa penyakit kronis. Secara nasional, prevalensi obesitas sentral adalah 26,6 %, lebih tinggi dari prevalensi pada tahun 2007 (18,8%). Selanjutnya, masalah stunting atau pendek pada Balita ditunjukkan dengan angka nasional 37,2 %. Tingginya prosentase gizi kurang pada anak usia 2-5 tahun ini karena pada usia ini anak sudah tidak mendapat Air susu ibu (ASI) dari ibunya, sehingga pemenuhan zat gizi mutlak harus didapat dari asupan makanan harian dan mikronutrien.

Pemanfaatan teknik nuklir di bidang kesehatan untuk menelusur tingkat asupan zat besi dalam tubuh anak balita akan dikembangkan di PAIR-BATAN. Dalam forum-forum internasional seperti *International Atomic Energy Agency* (IAEA), BATAN telah berperan aktif dalam kegiatan litbang teknik nuklir untuk kesehatan

khususnya nutrisi, seperti dalam TC 2016-2017, RAS 6/073 dan RAS 6/080. Sejalan dengan misi BATAN yaitu mengembangkan iptek nuklir yang handal, berkelanjutan dan bermanfaat bagi masyarakat sertatugas dan fungsi BATAN yaitu “peningkatan peran iptek nuklir dalam pembangunan nasional”, maka salah satu rencana strategis (RENSTRA) BATAN 2015-2019 adalah pemanfaatan iptek nuklir untuk membantu permasalahan bangsa di bidang kesehatan melalui penyediaan basis data kandungan dalamvitamin A serum darah anak balita di daerah yang masih tinggi jumlah gizi kurang dan buruk.

Pada penelitian tahun 2016 peneliti ingin mengetahui korelasi nilai status gizi dengan menggunakan indeks BB/TB dan jumlah zat besi dalam darah remaja putri usia 15-18 tahun (15 subyek). Feritin merupakan cadangan besi yang disimpan oleh tubuh dalam hati dan sumsum tulang. Dalam siklus metabolisme besi tanda awal anemia bisa dilihat dari menurunnya cadangan besi (feritin) dalam darah. Tujuan penelitian ini yaitu untuk melihat sejauh mana korelasi status gizi dan asupan zat besi terhadap kadar feritin anak usia 2-5 tahun; teknik analisis perunut isotop stabil ^{58}Fe ini dapat dikuasai dengan baik. Pada tahun 2017 akan diteliti jumlah zat besi dalam darah anak usia 2-5 tahun dengan subyek yang lebih banyak di wilayah malnutrisi. Dengan informasi atau data tersebut, pemerintah dalam hal ini Kementerian Kesehatan dapat menetapkan kebijakan atau meluncurkan program yang tepat berkaitan dengan penanganan malnutrisi. Untuk mencapai sasaran yang tepat maka kegiatan ini tidak hanya melibatkan institusi BATAN tetapi juga institusi lainnya misalnya Pusat Penelitian dan Pengembangan Kesehatan-Kemenkes melalui para penelitiannya, guru / Kepala Sekolah dan Pemerintah Daerah terkait.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Isotop stabil $^{13}\text{C}_{10}$ -retinil asetat, minyak biji matahari, kapsul vitamin A dosis tinggi, deuterium oksida, Fe-58, pereaksi untuk analisis retinol serum dan isotop stabil $^{13}\text{C}_{10}$ -retinil asetat dalam serum, ferritin, transferrin, pereaksi untuk analisis D_2O dalam saliva dan pereaksi untuk analisis Fe-58 dalam darah dan serum. Selain itu digunakan minyak goreng kelapa sawit yang difortifikasi dengan vitamin A dan minyak goreng yang tidak difortifikasi vitamin A. Peralatan sampling darah terdiri

dari jarum kecil khusus untuk anak balita, tabung wadah darah, tabung mikrosentrifuge wadah serum, *cryo tubes* sebagai wadah saliva, syringe, kapas, *cotton bud* bertangkai panjang.

Peralatan

Pada penelitian ini digunakan alat-alat gelas seperti pipet tangkai panjang, gelas ukur, alat sentrifuge, *cool box*, gel pendingin, parafilm, plastik, aluminium foil, hazard box, mikropipet, dan vial berwarna gelap. Serum disimpan dalam freezer -80°C dan saliva disimpan dalam freezer -20°C . Instrumen untuk analisis vitamin A digunakan alat iCheck Chroma, Elisa, Liquid Chromatography/Mass Spectrophotometer/Mass Spectrophotometer (LC/MS/MS). Alat untuk analisis D_2O dalam saliva ibu dan bayi adalah (Isotope Ratio – Mass Spectrophotometer (IR-MS). D_2O dalam saliva anak-anak SD dianalisis dengan alat Fourier Transform Infra Red (FTIR).

Disain Penelitian

Penelitian ini merupakan studi eksperimental yang membandingkan pengaruh pemberian minyak goreng berfortifikasi vitamin A dengan pemberian kapsul vitamin A dosis tinggi atau kombinasi kapsul vitamin A dosis tinggi dan minyak goreng berfortifikasi vitamin A terhadap perubahan kadar vitamin A di hati.

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Kabupaten Bogor dan pengumpulan data akan dilakukan pada Agustus 2016 hingga Pebruari 2017. Penelitian yang dilakukan pada periode Agustus – Desember 2016 akan dibebankan pada dana DIPA tahun 2016, sedangkan kegiatan penelitian yang berlangsung pada bulan Januari – Maret 2017 (intervensi bulan ke 5 dan 6) akan dibebankan anggaran DIPA 2017.

Populasi dan Sampel

a. Subjek penelitian

Balita usia 2 – 5 tahun yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi.

Kriteria inklusi:

- Balita laki-laki dan perempuan
- Usia 24 – 59 bulan
- Mempunyai status gizi normal menurut BB/TB ($+2 > z \text{ skor} > -2$)

- Secara tertulis menyatakan kesediaan ikut serta dalam penelitian

Kriteria eksklusi:

- Menderita TB
- Terdapat gangguan fungsi hati
- Mempunyai kelainan/cacat bawaan

b. Besar sampel

Besar sampel ditentukan dengan menggunakan rumus sebagai berikut¹⁰:

$$n = \left[\frac{(Z\alpha + Z\beta) \cdot Sd}{d} \right]^2$$

n = minimal besar sampel per kelompok

$Z\alpha$ = batas kepercayaan pada kurva normal (1,96)

$Z\beta$ = kekuatan uji/ power (0,84)

Sd = simpang baku rerata selisih perubahan total vitamin A tubuh
(asumsi 0,365 mmol)

d = perbedaan klinis yang diinginkan (0,5 mmol)

Berdasarkan perhitungan di atas maka didapatkan besar sampel minimal yang diperlukan untuk masing-masing kelompok adalah sebesar 17 orang. Dengan mempertimbangkan kemungkinan drop-out sebesar 50% maka direncanakan untuk mengambil subjek sebanyak 30 Balita untuk tiap kelompok perlakuan.

Perlakuan

Kelompok minyak goreng:

Diberikan minyak goreng berfortifikasi vitamin A (45 IU setara dengan 13,5 μ g RAE) selama 6 bulan

Kelompok kapsul:

Diberikan kapsul vitamin A dosis tinggi (200.000 IU)

Kelompok minyak goreng plus kapsul

Diberikan kapsul vitamin A dosis tinggi (200.000 IU) dan minyak goreng berfortifikasi vitamin A (45 IU setara dengan 13,5 μ g RAE) selama 6 bulan

Variabel

Variable dependen:

- kadar total vitamin A tubuh
- kadar vitamin A di hati

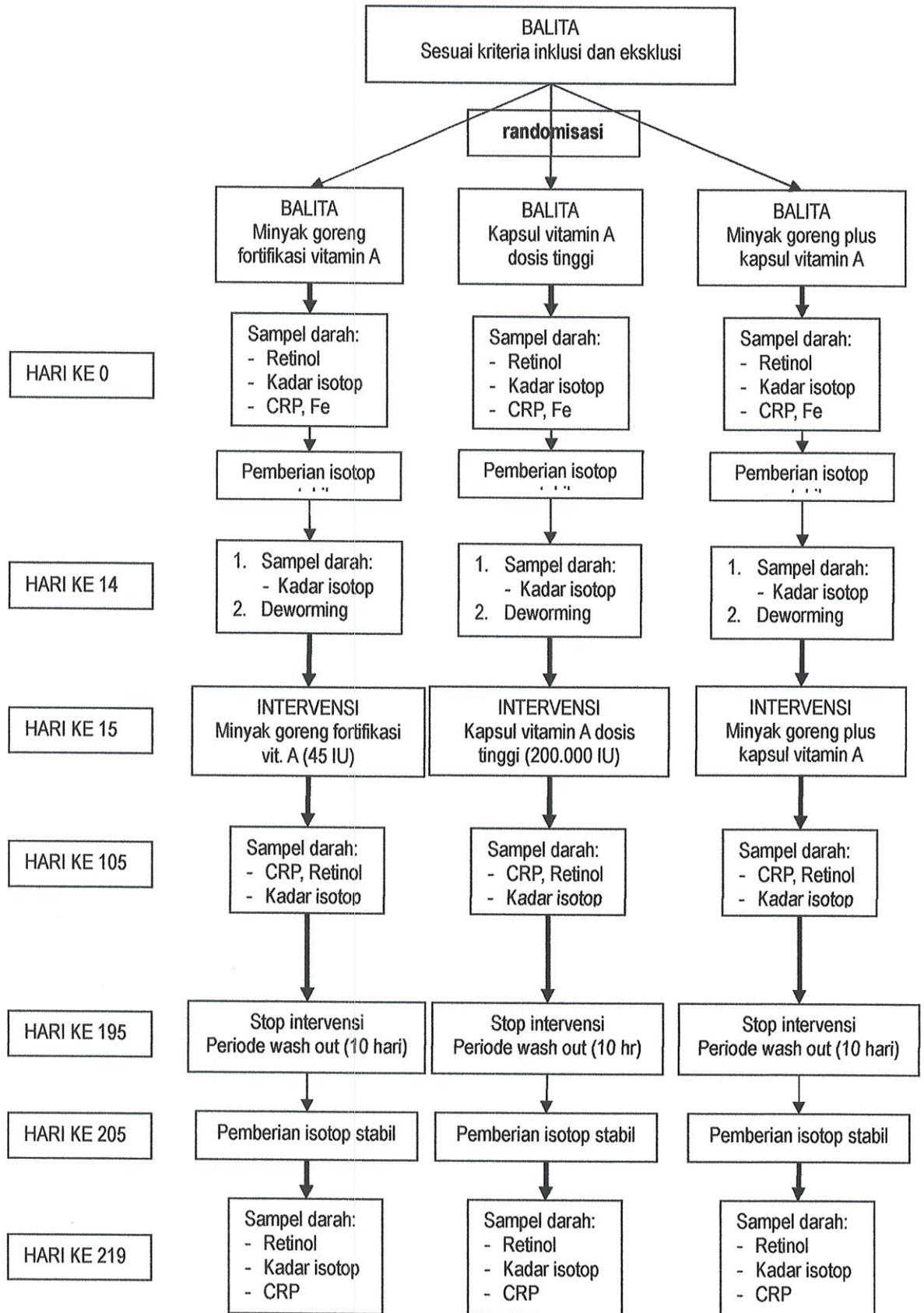
Variable independen:

- Umur
- Status gizi
- Asupan vitamin A
- Asupan harian
- Kadar ferritin serum

Dokumen/Formulir

Formulir untuk inform concern, wawancara nutrisi, Formulir Lembar persetujuan, formulir wawancara ASI eksklusif, wawancara nutrisi anak yang mengandung vitamin A, aktifitas fisik, antropometri ibu, bayi, anak balita dan anak SD.

Tahap penelitian



BAHAN DAN METODE

Bahan

- a. Sampel yang diuji untuk mengetahui kadar vitamin A dalam hati anak balita yaitu serum yang diambil dari darah anak balita (40 orang anak) di Puskesmas Sindang Barang, Bogor; isotop stabil $^{13}\text{C}_{10}$ -retinyl asetat (isotop stabil vitamin A) dan standar vitamin A (retinol); tabung cryo tube untuk menyimpan serum, jarum kecil untuk mengambil darah, tabung sentrifuge, pelarut etil asetat dan etanol.
- b. Sampel saliva dari pasangan ibu-bayi usia 3 dan 6 bulan, deuterium oksida (donasi dari IAEA), botol berisi air "akua", cotton lidi, kapas, syringe, sarung tangan, tabung cryo tube.
- c. Sampel saliva dari anak-anak SD, deuterium oksida, botol berisi air "akua", kapas, syringe, sarung tangan, tabung cryo tube.
- d. Sampel yang diuji dalam penelitian ini adalah kerang hijau yang diambil di sekitar teluk Hurun, Lampung. Bahan kimia yang digunakan antara lain ^3H -Saxitoxin, Saxitoxin di HCl, MOPS, pH 7,4, choline chlorida dan Phenyl methyl sulfonyl fluorida (sigma), HCl, Bovine serum albumin (BSA), Ammonium format, HCl, NaOH.
- e. Sampel padi varietas Ciherang, Sampel Beras, blender, lumpang, vial untuk NAA, botol plastik vol 700 ml, penyaring 20 μm , *sampling rig*, larutan Lugol, *deionized water*, vakum tangan.

Peralatan

- a. Peralatan yang digunakan untuk analisis vitamin A adalah LC/MS/MS di PT AnglerBioChemLab, Surabaya.
- b. Peralatan yang digunakan untuk analisis D_2O dalam sampel saliva ibu dan anak adalah IRMS di St. Johns Research Institute, Bangalore, India.
- c. Peralatan yang digunakan untuk analisis D_2O dalam saliva anak-anak SD Pabrik Es adalah FTIR (alat yang akan diberikan oleh IAEA, belum tiba).
- d. Peralatan yang digunakan untuk RAS 5062 dan RAS7/026 antara lain peralatan gelas, timbangan, sentrifuge, mcropipettor (1-1000 μl), 8 chanel pipettor (5-200 μl), 96-well microtiter filter plate, multiscreen vacuum manifold, pompa vakum, vortex, GC-14 B (Shimadzu), Liquid scintillation counter (Backman) dan IRMS.

Metode

a. Vitamin A dengan alat LC/MS/MS :

- Preparasi serum di ruang berlampu kuning:
 1. Ke dalam 1,0 ml sampel serum ditambahkan 20 μl (50 pmol) [$^{13}\text{C}_{10}$]-retinyl acetate (sebagai internal standar), lalu diekstraksi dengan campuran 5 ml etanol dan 5 ml etil asetat (etanol : etil asetat = 1/1).
 2. Campuran di vortex selama 1 menit.
 3. Campuran tersebut disentrifuge dengan kecepatan 10.000 rpm suhu 4°C, selama 30 menit.
 4. Supernatan diambil dan dipindahkan ke dalam tabung reaksi kecil, lalu dikeringkan dengan gas nitrogen/argon.
 5. Residu dilarutkan dengan 100 μl etil asetat, divortex sehingga residu larut homogen.
 6. Sampel ditaruh dalam tabung kecil siap dianalisis dengan LC/MS/MS.
- Analisis dengan LC/MS/MS
 1. Analisis dengan LC menggunakan pre kolom (4 x 3 mm) kolom C_{18} (3 μm ; 50 mm x 2 mm i.d.) pada suhu 30°C. Fase gerak ammonium asetat 0,1M pH 5 (A) dan 50:50 (w/w) metanol/isopropanol (B). Fase gerak menggunakan sistem gradien terdiri 80% to 99% B selama 1 menit, dipertahankan 99% B selama 3 menit, kemudian kembali menjadi 80% B selama 3 menit. Kecepatan alir 1,0 ml/menit, dan injeksi sampel dengan volume 10 μl .
 2. LC dihubungkan dengan API4000 triple quadrupole LC/MS/MS (Applied Biosystems) untuk analisis menggunakan APCI (atmospheric pressure chemical ionisation).

b. Sampling saliva ibu dan bayi

Pemberian D_2O :

1. Timbang botol putih dari IAEA, lalu masukkan D_2O dengan pipet plastik, kemudian timbang D_2O sampai seberat yang dibutuhkan 10 g/ibu.
2. Simpan D_2O dalam kulkas sampai esoknya diberikan kepada ibu/responden.

Antropometri dan Pengambilan saliva :

1. Pada hari ke 0, ukur berat dan tinggi badan ibu dan bayi.
2. Kumpulkan saliva ibu dan bayi sebagai baseline.

3. Berikan ibu 10 g D₂O melalui sedotan bersih, dijaga agar semua D₂O diminum habis oleh ibu.
4. Bilas botol dengan 2 x 50 mL air mineral, minta ibu meminumnya sampai habis.
5. Catat data antropometri dan waktu pengambilan saliva pada lembar data ibu dan bayi.
6. Beri label pada tabung : kode responden, tanggal, hari sampling, dan waktu sampling saliva.
7. Jelaskan kepada ibu agar datang kembali besok (hari ke-1), hari ke-2, hari ke-3, hari ke-4, hari ke-13 dan hari ke-14 untuk diambil saliva ibu dan bayi.
8. Simpan tabung saliva yang telah diambil di Freezer -20°C.
9. Sampel tetap dalam keadaan beku dalam dry ice selama pengiriman ke India dan dilanjutkan dengan analisis D₂O menggunakan alat IRMS.

c. Analisis D₂O dalam saliva dengan alat FTIR

1. Siapkan standar dengan konsentrasi 2,5; 5; 10; 15; dan 20% untuk membuat kurva baku standar.
2. Siapkan FTIR dengan menggunakan cell ATR.
3. Lakukan pengukuran sampel standard dan catat luas area dari masing-masing konsentrasi.
4. Lakukan pengukuran blanko (blanko menggunakan air mineral).
5. Lakukan pengukuran sampel saliva sebanyak 400 µl catat luas area dan adsorban yang di dapat.
6. Setiap penggantian sampel, cell ATR harus dicuci menggunakan air mineral (blanko).
7. Jika selesai pengukuran, matikan alat FTIR.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada pengukuran kadar vitamin A dalam serum anak balita di Puskesmas Ciomas, anak-anak berpuasa sejak bangun tidur sampai diberi isotop stabil vitamin A sebanyak 0,2 mg yang telah dilarutkan dalam minyak biji matahari. Anak-anak dibagi menjadi 3 kelompok (1 sampai 3) dengan 20

anak per kelompok. Setiap anak diambil darahnya 2 kali pada waktu tertentu (D0) dan pada hari ke-14 (D14). Anak-anak kelompok 1 adalah anak-anak yang mengkonsumsi minyak goreng kelapa sawit yang difortifikasi vitamin A, Kelompok 2 adalah anak-anak yang mengkonsumsi minyak goreng plus kapsul vitamin dosis tinggi. Kelompok 3 adalah anak-anak yang mengkonsumsi minyak goreng kelapa sawit. Anak-anak diberi isotop stabil vitamin A setelah pengambilan darah pada D0.

HASIL PEMBAHASAN

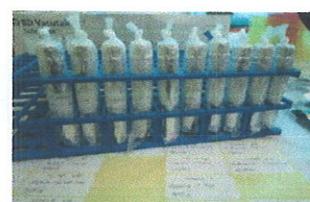
Pada sampling darah D0 (bulan Agustus 2016) darah anak telah diukur, hasilnya menunjukkan Hb anak-anak berkisar antara 10,6 – 15,6.

Rata-rata kadar retinol serum dan BB/TB Z-score anak-anak Kelompok 1, 2 dan 3 pada hari ke-0 (sampling bulan Agustus 2016) ditunjukkan pada Tabel 1. Kadar retinol serum anak-anak Kelompok 1, 2 dan 3 masih pada taraf normal. Sampling darah ke-2 (Desember 2016) yaitu 3 bulan setelah responden mengkonsumsi minyak goreng sedang dalam proses analisis. Sampling darah ke-3 akan dilakukan pada bulan Maret 2017. Analisis isotop stabil $^{13}\text{C}_{10}$ -retinil asetat akan dilakukan serentak untuk semua serum dari hasil sampling bulan Agustus 2016, Desember 2016 dan Maret 2017.

Tabel 1. Kadar retinol serum dan BB/TB Z-score

Parameter	Kel 1	Kel 2	Kel 3
Retinol serum (mmol/L)	1,11	1,02	1,1
BB/TB Z-Score	0,12	-0,18	-0,12

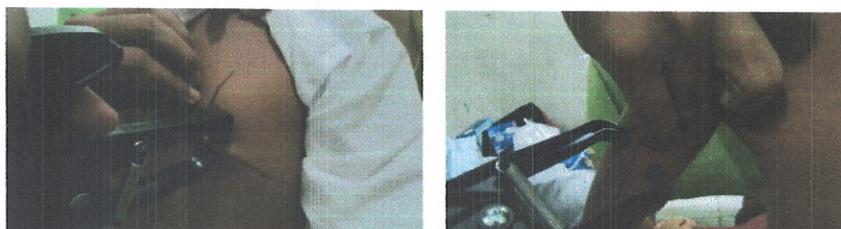
Secara umum kegiatan fisik anak-anak SD Pabrik Es enunjukkan aktivitas yang tinggi (bermain futsal, lompat tali), ada sebagian anak yang bermain game dan nonton TV. Hasil wawancara asupan nutrisi anak, secara umum anak-anak kurang suka makan sayuran.



Gambar 1. Kegiatan sampling darah, pemberian isotop $^{13}\text{C}_{10}$ -retinil asetat, preparasi serum, wawancara nutrisi anak pemberian minyak goreng kepada responden di Puskesmas Ciomas, Bogor



Gambar 2. Sosialisasi penelitian kepada anak-anak SD Pabrik Es; Persiapan sampling saliva anak-anak



Gambar 3. Antrophometri tebal lemak punggung, tebal lemak lengan, lebar lutut, lebar siku



Gambar 4. Pemberian D₂O kepada anak SD Pabrik Es, Bogor



Gambar 5. Preparasi D₂O dan sampling saliva ibu dan bayi, pemberian D₂O kepada ibu



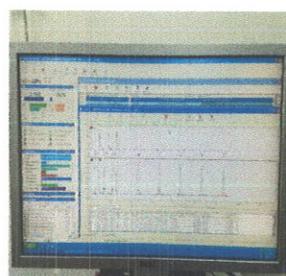
Sampel saliva responden anak Indonesia



Preparasi sampel

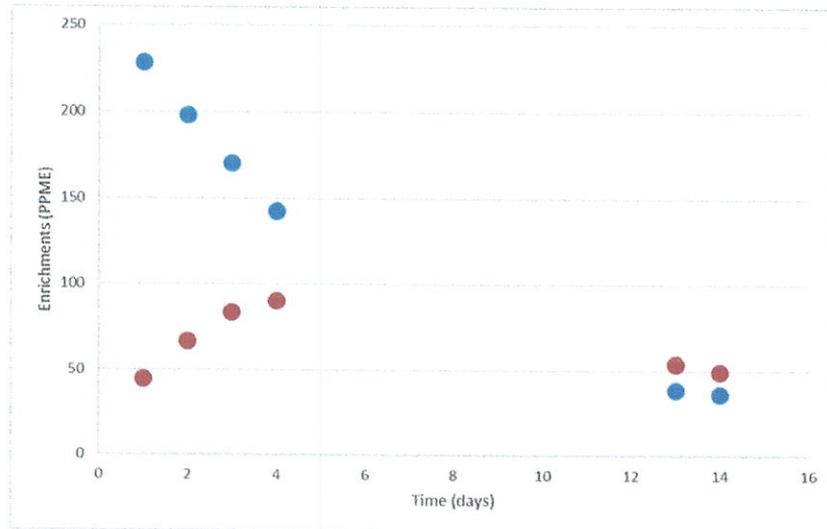


Alat IR-MS untuk menganalisis D₂O, di St Johns Research Institute.

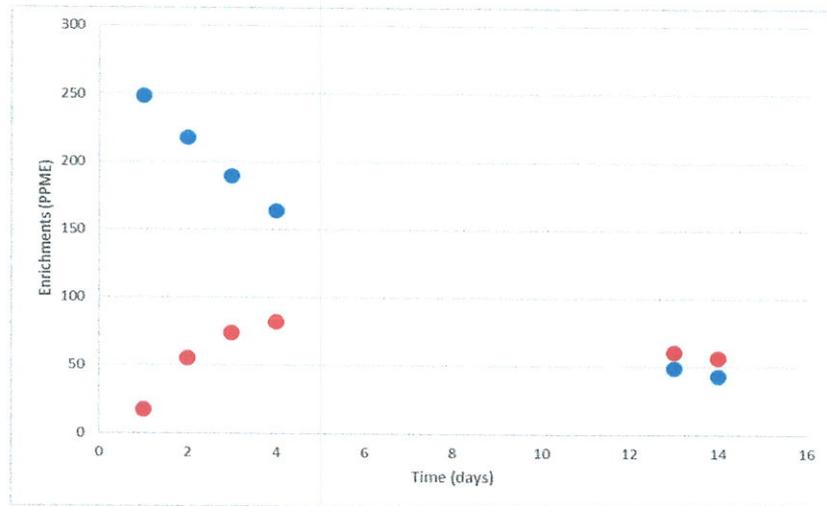


Spektrum hasil analisis D₂O dengan

Gambar 6. Preparasi saliva untuk analisis D₂O menggunakan alat IR-MS



Gambar 7. Grafik kadar D₂O dalam saliva ibu dan bayi usia 3 bulan



Gambar 7. Grafik kadar D₂O dalam saliva ibu dan bayi usia 6 bulan



Gambar 8. FGD Pemanfaatan isotop stabil Fe-58 dengan Nara Sumber dari Puslitbangkes

KESIMPULAN SEMENTARA

1. Telah diperoleh tabung serum dari sampling bulan Agustus dan Desember 2016. Kadar retinol dalam serum darah 60 anak di Puskesmas Ciomas, Bogor masuk kategori normal (rata-rata 1,02 - 1,11 mmol/L) dan Z-score baik,
2. Kadar D₂O dalam saliva ibu menurun dan sebaliknya D₂O dalam saliva bayi meningkat, lalu menurun kadarnya pada hari I sampai hari ke 14 setelah pemberian D₂O.
3. Telah diperoleh data sosio-ekonomi, antropometri ibu dan bayinya, hasil wawancara tentang pemberian ASI kepada bayinya.
4. Telah diperoleh data antropometri, sosio ekonomi, diet makanan, aktivitas fisik dan saliva dari 121 anak SDN Pabrik Es, Bogor.
5. Telah diperoleh data antropometri, sosio ekonomi, diet makanan 60 anak balita dan serum bulan ke 0 dan ke-3 setelah pemberian minyak goreng berfortifikasi kepada responden di Puskesmas Ciomas, Bogor.
6. Protokol penelitian **“Pengembangan Teknik Perunut untuk Mengetahui Absorpsi Zat Besi (Fe) pada Anak Remaja Putri (Usia 15 -18 tahun”** telah disusun dan diajukan ke Komisi Etik.
7. Pengolahan data sedang dalam proses.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis menyampaikan terimakasih kepada para staf Pusat Teknologi Terapan Kesehatan dan Epidemiologi Klinik, Balitbangkes Bogor yang telah membantu penelitian ini dan menyediakan fasilitas tempat sampling saliva di Cohort Tumbuh Kembang, Bogor sehingga berlangsung dengan baik, kepada pemerintah RI yang telah memberikan dukungan dana penelitian dan kepada IAEA yang telah memberikan deuterium oksida dan bahan sampling saliva melalui RAS6/073 dan RAS6/080. Terimakasih juga disampaikan kepada Dr. Georg Lietz (Universitas Newcastle, UK) yang telah memberikan saran pada penelitian ini, juga kepada dr. Ulfa (Kepala Puskesmas Ciomas), Bidan Dame dan para staf Puskesmas Ciomas, bapak Wahyudi (Kepala SDN Pabrik Es, Bogor), para kader dan para guru yang telah membantu penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Riset kesehatan Dasar 2013, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
2. Oxley, A., Berry, P., Taylor, G.A., Cowell, J., Hall, M.J., JohnHesketh, J., Lietz, G. and Boddy, AV., An LC/MS/MS method for stable isotope dilution studies of β -carotene bioavailability, bioconversion, and vitamin A status in humans, *J. Lipid Res.* 2014, Feb; 55(2): 319–328.
3. Tanumihardjo, S.A., Vitamin A : biomarkers of nutrition for development, *Am J Clin Nutr.*, 2011.
4. Force, V., Appropriate uses of Vitamin A Tracer (Stable Isotope) Methodology, Vitamin A Tracer Task, www-naweb.iaea.org/nahu/nahres/documents/vitatracer.pdf (diakses tgl 3 Maret 2016).
5. Jus'at, I., Sandjaja, Sudikno, Ernawati, F., Hubungan Kekurangan Vitamin A dengan Anemia pada Anak Usia Sekolah, *Gizi Indon* 2013, 36(1):65-74.
6. INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY, Stable Isotope Technique to Assess Intake of Human Milk in Breastfed Infants, IAEA Human Health Series No. 7, Vienna, 2010, 10-18.
7. Moore, SE, Prentice, AM, Coward, WA, Wright, A, Frongillo, EA, Fulford, AJ, Mander, AP, Persson, LA, Arifeen, SE, Kabir, I., Use of stable-isotope techniques to validate infant feeding practices reported by Bangladeshi women receiving breastfeeding counseling, *Am J Clin Nutr.* 2007 Apr; 85(4):1075-82.
8. INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY, Body Composition Assessment from Birth to Two Years of years, IAEA Human Health Series No. 22, Vienna, 2013, 4-12.
9. Bandara, T., Hettiarachchi, M., Liyanage, C., Amarasena, S. and Wong, WW, Body composition among Sri Lankan infants by ^{18}O dilution method and the validity of anthropometric equations to predict body fat against ^{18}O dilution *BMC Pediatrics* (2015) 15:52.
10. Muawanah, 2011, Kondisi terkini : Dominasi HAB's di Teluk Hurun, Balai Besar Pengembangan Budidaya Laut Lampung.
11. Receptor Binding Assay Technique for Harmfull Algal Bloom Toxins Quantification, UNDP/EAEA/ subproject Application of Nuclear Techniques to Address Specific harmful Algal Bloom Concerns, Regional Resource.
12. "Glossary," *ASME Boiler and Pressure Vessel Code*, Section III, Article NCA-9000.
13. Ghidini S, Ianieri A, Zanardi E, Conter M, Boschetti T, Iacumin P, Bracchi.

P. G. Stable, Isotopes determination in food authentication: a review, Ann. Fac. Medic. Vet. di Parma.(Vol. XXVI, 2006) pag. 193 - pag. 204.

14. L. Pillonela, R. Badertschera, P. Froidevauxb, G. Haberhauerc, S. Holzld, P. Hornd, A. Jakobe, E. Pfammatterf, U. Piantinig, A. Rossmannh, R. Tabacchii, J.O. Bosseta, Stable isotope ratios, major, trace and radioactive elements in emmental cheeses of different origins, Lebensm.-Wiss. u.-Technol. 36 (2003) 615–623.