

Stabilitas dan Bioavailabilitas *In Vitro* Zat Besi Sebagai Fortifikan Dalam Bumbu Mi Instan

(Stability and In Vitro Bioavailability of Iron as Fortificant in Noodle Seasoning)

Alina P. Priambudi¹⁾, Feri Kusnandar²⁾, dan Nurheni Sri Palupi²⁾

¹⁾Department of Biotechnology Al Azhar University, Indonesia,

²⁾Department of Food Science and Technology and SEAFast-Center, Bogor Agricultural University, Indonesia
Korespondensi: alina.priambudi@gmail.com

ABSTRACT

Indonesia is classified as a severe anaemia prevalence. One of the basic strategy for addressing this problem is food fortification. The objective of this reseach was to determine suitable Fe fortificant and level of fortification to be used in instant noodle seasoning and measure the stability and in vitro bioavailability of iron fortified instant noodle seasoning during storage. In this study, ferrous fumarate/FF and ferrous sulfate/FS were used as fortificants. The use of 1500 ppm FF or FS was sensorically acceptable in terms of color, taste and aroma. After six week storage, water content of the seasoning increased from 1.58% to 2.05%, 1.44% to 2.08%, and 1.40% to 1.89% for control, FF and FS fortified seasoning respectively. Color of control, FF and FS fortified seasoning showed the same tendency to be stable during storage. Sensory analysis showed that color and aroma of fortified noodle seasoning was relatively stable. Iron content remain in the sample after six week storage was 88.4% for FS and 89.5% for FF. After six week storage, the in vitro analysis showed that the percentage of Fe bioavailability did not change significantly for FF and FS fortified seasoning.

Keywords : fortification, ferrous sulfate, ferrous fumarate, stability, bioavailaibility

ABSTRAK

Indonesia merupakan negara dengan prevalensi anemia berat. Salah satu strategi untuk mengatasi permasalahan ini adalah melalui fortifikasi pangan. Tujuan penelitian ini adalah menentukan jenis fortifikan zat besi dan tingkat fortifikasi yang digunakan dalam bumbu mi instan, serta mengukur stabilitas dan bioavailabilitas zat besi selama penyimpanan. Fortifikan yang digunakan adalah fero fumarat (FF) atau fero sulfat (FS) sebanyak 1500 ppm. Setelah penyimpanan selama enam minggu, kadar air bumbu mi meningkat dari 1.58% menjadi 2.05% untuk kontrol, 1.44% menjadi 2.08% untuk FF, dan 1.40% menjadi 1.89% untuk FS. Warna bumbu mi stabil selama penyimpanan. Analisis sensori menunjukkan bahwa aroma, dan warna bumbu mi stabil. Kadar zat besi setelah 6 minggu 88.4% untuk FS dan 89.5% untuk FF. Bioavailabilitas in vitro zat besi tidak berubah secara signifikan setelah penyimpanan.

Kata kunci: fortifikasi, ferrous sulfate, ferrous fumarate, stabilitas, bioavailabilitas

PENDAHULUAN

Anemia merupakan permasalahan kesehatan dunia yang mempengaruhi masyarakat baik di negara kaya maupun miskin, baik negara maju maupun negara berkembang. Menurut WHO (2015), anemia gizi besi yang parah dapat menyebabkan kerugian yang lebih tinggi dibandingkan penyakit lain selain tuberkulosis. WHO memperkirakan bahwa anemia mempengaruhi 800 juta wanita dan anak-anak dari populasi global. Prevalensi anemia yang paling tinggi di dunia terjadi di Afrika, tetapi jumlah penderita yang paling banyak ditemukan di Asia Tenggara (WHO, 2015).

Anemia dapat terjadi pada semua golongan tetapi lebih sering terjadi pada wanita hamil dan anak-anak. Menurut data *The Global Prevalence of Anaemia* tahun 2011 yang dikeluarkan oleh WHO pada tahun 2015, Indonesia termasuk dalam prevalensi anemia menengah untuk golongan anak-anak usia pra-sekolah dan wanita hamil dengan jumlah penderita 32% dan 30%. Masih berdasarkan data yang sama, prevalensi anemia untuk wanita usia produktif yang tidak hamil termasuk dalam golongan menengah dengan jumlah penderita 23% dari total penduduk. Informasi yang tepat tentang status zat besi populasi di Indonesia sangat diperlukan untuk merencanakan dan melakukan intervensi yang efektif dalam rangka penanggulangan kekurangan zat besi maupun anemia.

Salah satu pangan pembawa fortifikan zat besi yang potensial digunakan di Indonesia adalah mi instan karena tingkat konsumsi yang terus meningkat, terjangkau oleh semua lapisan masyarakat dan merupakan bagian dari makanan sehari-hari.

Konsumsi mi instan oleh masyarakat menghadapi beberapa isu kesehatan. Beberapa golongan masyarakat mengurangi konsumsi mi instan karena khawatir kandungan pewarna dan pengawet pada mi instan, juga MSG pada bumbu mi. Namun hal tersebut tidak perlu dikhawatirkan karena mi instan di Indonesia diproduksi oleh produsen pangan besar dan kandungan Bahan Tambahan Pangan yang digunakan sesuai dengan peraturan yang berlaku. Meskipun demikian, konsumsi mi instan yang berlebihan juga tidak dianjurkan, bahkan jika mi instan merupakan bahan pangan pembawa fortifikan zat besi. Konsumsi pangan yang seimbang lebih dianjurkan untuk menjaga kesehatan.

Pada tataran penelitian telah dilakukan fortifikasi zat besi pada bahan pangan antara lain pada bumbu rempah (Marliyati 1995), bumbu mi instan (Palupi 1995), *cookies* (Sayuti 2002), bahun (Sartika 2003), garam (Soeid 2005), kecap serta saus cabe (Prasetyawati 2006), mi instan (Aritonang 2007) dan biskuit (Widayani 2007). Dibandingkan dengan penelitian sejenis sebelumnya, penelitian ini memiliki kelebihan antara lain bumbu mi instan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bumbu mi instan komersial, sehingga hasil penelitian lebih dapat diterapkan pada dunia industri pangan dan memberikan informasi terbaru kepada industri pangan tentang fortifikasi zat besi pada bumbu mi dalam rangka mendorong

pemanfaatan hasil riset agar lebih aplikatif. Selain itu, metode yang digunakan untuk menguji bioavailabilitas zat besi secara *in vitro* merupakan metode yang lebih baru dan telah mengalami banyak perbaikan dibandingkan yang digunakan pada penelitian sebelumnya, sehingga diharapkan hasil yang diperoleh lebih akurat terutama data bioavailabilitas zat besi.

Dilatarbelakangi oleh permasalahan di atas maka disusun penelitian ini dengan tujuan mengetahui kadar zat besi yang terkandung dalam bumbu mi instan komersial, menentukan konsentrasi fortifikan zat besi yang sebaiknya ditambahkan ke dalam bumbu mi instan komersial, mengevaluasi stabilitas dan bioavailabilitas *in vitro* zat besi yang difortifikasikan ke dalam bumbu mi instan komersial selama penyimpanan, serta menentukan jenis fortifikan yang sesuai digunakan pada bumbu mi instan.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah bumbu mi instan. Bumbu mi instan diperoleh dari PT. Sentrafood Indonusa, Jakarta, Indonesia. Bumbu mi instan disimpan dalam *refrigerator* sampai digunakan. Bahan pengemas yang digunakan adalah *aluminium foil* berlapis polietilen yang diperoleh dari PT. Sentrafood Indonusa, Jakarta, Indonesia.

Sumber zat besi untuk fortifikasi bumbu mi instan adalah fero sulfat heptahidrat ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) dan fero fumarat ($\text{C}_4\text{H}_2\text{FeO}_4$) dari Ferro Pharma, Hungary. Bahan kimia yang digunakan untuk analisis kadar air adalah toluen (*Merck Chemicals*). Pereaksi yang digunakan untuk analisis kadar besi total adalah larutan H_2SO_4 , HClO_4 , HNO_3 (*Merck Chemicals*) dan air bebas ion. Bahan kimia yang digunakan untuk analisis ketersediaan zat besi adalah enzim pepsin (Sigma P-7000), pankreatin (Sigma P-1750), ekstrak empedu (Sigma B-8631), bufer PIPES [piperazine-NN'-bis(2-ethane-sulfonic acid)] disodium salt (Sigma P-3768), HCl (*Merck Chemicals*), NaHCO_3 , KOH dan air bebas ion.

Peralatan yang digunakan untuk analisis antara lain seperangkat alat distilasi Bidwell-Sterling, penangas air bergoyang (Geselifchaft fur Labortechnik Type 1083), spektrofotometer sinar ultra violet-sinar tampak (Spectronic 20D+), pH meter (Orion model 220A), neraca analitik (Precisa XT-220A), tabung dialisis Spectra/Por[®] I dengan MWCO 6000-8000 (Spectrum, USA), tabung dialisis ukuran diameter 5 cm, kromameter (Minolta Chromameter CR-310), Spektrofotometer Absorpsi Atom (Solaar MS), oven (Thelco Model 15), *stirrer* (MAG-MIXER Type MH-61), desikator dan peralatan gelas untuk keperluan analisis.

Penelitian ini terdiri dari dua tahap. Tahap pertama merupakan tahap analisis bahan baku dan penentuan konsentrasi zat besi yang dipilih melalui analisis sensori. Tahap kedua menguji stabilitas bumbu mi fortifikasi selama penyimpanan serta bioavailabilitas zat besi

secara *in vitro*. Penelitian dilakukan dengan dua kali ulangan dan analisis dilakukan secara triplo.

Analisis Bahan Baku dan Penentuan Konsentrasi Fortifikan

Fortifikasi menggunakan dua macam senyawa besi, yaitu fero fumarat ($C_4H_2FeO_4$) atau fero sulfat heptahidrat ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$) dengan tiga tingkat konsentrasi, yaitu 1000, 1500 dan 2000 ppm. Sebelum difortifikasi, bumbu mi instan dianalisis kadar air menggunakan metode distilasi azeotropik (AOAC 1997), kadar protein dengan metode Kjeldahl (AOAC 1997), kadar zat besi total menggunakan metode AAS (Apriyantono *et al.* 1989).

Selanjutnya dilakukan pengujian sensori terhadap atribut warna, rasa, dan aroma bumbu mi menggunakan uji diferensiasi yang dilakukan oleh panelis terlatih. Uji sensori dilakukan untuk bumbu mi yang tidak difortifikasi dan yang difortifikasi setelah diseduh dengan air matang. Konsentrasi terpilih untuk fero fumarat dan fero sulfat digunakan untuk tahap penelitian selanjutnya.

Pengujian Stabilitas

Tahap ini merupakan penyimpanan bumbu yang telah difortifikasi dengan konsentrasi terpilih. Bumbu mi yang tidak difortifikasi juga disimpan sebagai kontrol. Penyimpanan bumbu mi dilakukan dalam kemasan *aluminium foil* berlapis polietilen berukuran 5 x 9 cm dengan berat satuan empat gram dan diletakkan di atas nampan terbuka pada suhu ruang selama enam minggu.

Bumbu mi instan dianalisis secara periodik setiap dua minggu selama penyimpanan meliputi analisis kadar air, kandungan zat besi total, analisis sensori terhadap atribut warna dan aroma, analisis warna menggunakan kromameter, serta analisis ketersediaan zat besi secara *in vitro* (Wolfgor *et al.* 2002).

Analisis Bioavailabilitas Zat Besi Metode *In vitro* (Kapsoketalou dan Miller 1991 yang dimodifikasi oleh Wolfgor *et al.* 2002)

Air bebas ion digunakan selama percobaan. Semua bahan kimia yang dipakai adalah pro-analis. Semua alat gelas yang dipakai dicuci dengan sabun, dibilas dengan air, direndam dalam HCl 0.1 N selama semalam, dibilas air lagi dan dikeringkan. Alat gelas yang digunakan untuk dialisis adalah gelas dengan ukuran diameter 5 cm. Ukuran erlenmeyer dipilih agar kantung dialisis dapat terendam dengan baik di dalam alikuot hasil pencernaan pepsin. PIPES garam disodium (piperazin-NN'-bis(2-etan-asam sulfonat)) (Sigma P-3768) dilarutkan di dalam air bebas ion sehingga menghasilkan konsentrasi sesuai hasil perhitungan dan ditambah dengan HCl 6 N untuk menghasilkan nilai pH 6.3. Kantung dialisis Spectra/Por® I

(Spectrum, USA) berdiameter 14.6 mm dengan MWCO 6000-8000 dipotong sepanjang 20 cm dan direndam dalam air setidaknya 1 jam sebelum digunakan.

Penentuan konsentrasi bufer PIPES untuk mengatur pH selama dialisis. Faktor utama yang menentukan nilai pH akhir dari sistem dialisis adalah kapasitas bufer dari matriks produk pangan, yaitu jumlah HCl yang dibutuhkan untuk mencapai pH 2. Jenis dan jumlah protein juga mempengaruhi pH karena pembentukan asam atau basa sebagai hasil dari hidrolisis enzimatis selama proses pencernaan *in vitro*. Nilai pH intrinsik sampel dapat mempengaruhi konsentrasi bufer yang dibutuhkan untuk mengatur pH. Untuk itu perlu dihitung juga kapasitas bufer dari matriks produk pangan yang diuji.

Keasaman intrinsik matriks pangan. Sebanyak 15 gram sampel homogen dengan pH kurang dari 6.5 dititrasi sampai mencapai pH 6.5 dengan KOH 0.1 N.

Asam dan basa yang dihasilkan selama hidrolisis enzimatis in vitro. Sejumlah 15 g alikuot hasil pencernaan pepsin ditambah dengan 3.75 ml larutan pankreatin/bile dititrasi sampai mencapai pH 6.5 dengan KOH 0.1 N atau 1 N (tergantung pada matriks bahan pangan) lalu diinkubasi selama 120 menit pada suhu 37°C. Titrasi berikutnya dengan KOH 0.1 N untuk mencapai pH 6.5 mengukur mEq asam yang dihasilkan saat hidrolisis protein digunakan untuk menghitung konsentrasi bufer PIPES sebagai mEq yang dihasilkan saat hidrolisis.

Konsentrasi bufer PIPES dihitung berdasarkan rumus sebagai berikut:

Total mEq = mEq HCl + mEq pepsin + mEq keasaman intrinsik + mEq hasil hidrolisis

$$M = \frac{(\text{total mEq} + f \times \text{total mEq})}{(f \times V)}$$

Keterangan:

$$f = 1.995 = 10^{-\text{pH}}/10^{-\text{pK}_a}$$

Nilai tersebut dihitung untuk menghasilkan pH 6.5, mencakup perhitungan pK_a bufer PIPES (6.8) dan menggunakan rumus $[\text{H}^+] = k_a \cdot [\text{asam}]/[\text{garam}]$.

V = volume bufer yang dimasukkan ke dalam kantung dialisis.

Persiapan sampel. Sebanyak 5 g sampel (setara dengan 2 g protein) ditimbang dan dihomogenisasi dengan 10 ml air bebas ion. Sampel homogen diatur pHnya menjadi 2.0 dengan penambahan HCl 4 N. Air bilasan pH meter pada saat pengaturan pH juga dimasukkan ke dalam sampel.

Pencernaan oleh pepsin. Suspensi pepsin segar sebanyak 0.48 ml ditambahkan ke dalam alikuot dan campuran diinkubasi dalam penangas air bergoyang pada suhu 37°C selama 2 jam.

Pencernaan oleh pankreatin. Kantung dialisis yang berisi 18.75 ml bufer PIPES dengan konsentrasi yang sudah dihitung sebelumnya dimasukkan ke dalam gelas dialisis yang berisi aliquot hasil pencernaan dengan pepsin. Diatur posisi kantung dialisis agar terendam di dalam larutan sampel. Sampel diinkubasi selama 30 menit dalam penangas air bergoyang bersuhu 37°C. Kemudian ditambahkan campuran pankreatin/bile sebanyak 3.75 ml dan inkubasi dilanjutkan selama 2 jam. Gelas dialisis ditutup dengan parafilm untuk mengurangi kehilangan CO₂. Setelah proses inkubasi selesai, kantung dialisis diangkat dan dicuci dengan air bebas ion. Isi kantung dialisis diukur volumenya. Bagian dalam kantung dicuci dua kali dengan 1 ml air. Berat hasil dialisis digenapkan menjadi 25 g dengan ditambahkan air lalu digunakan untuk analisis kadar besi.

Analisis kadar besi. Analisis kadar besi dilakukan dengan metode AAS karena tidak ada matriks sampel yang mengandung besi hem. Pengukuran kadar besi juga dilakukan untuk aliquot hasil pencernaan dengan pepsin dengan metode AAS setelah dilakukan pengabuan basah.

Bioavailabilitas zat besi dinyatakan dalam persentase Fe yang terdialisa. Jumlah Fe yang terdialisa dinyatakan dalam persentase terhadap jumlah total zat besi yang ada di dalam sampel.

$$\text{Bioavailabilitas Fe (\%)} = \frac{D}{W \times A} \times 100$$

Keterangan:

D = jumlah Fe terdialisa (µg)

W = berat sampel makanan dalam pencernaan pepsin (g)

A = konsentrasi zat besi di dalam sampel (µg/g)

Kadar Besi Total Metode *Atomic Absorption Spectrofotometer* (Apriyantono et al. 1989)

Sampel melalui proses pengabuan basah terlebih dahulu. Ditimbang sejumlah sampel, kemudian dimasukkan ke dalam labu Kjeldahl. Ke dalam labu ditambahkan 4 ml HClO₄, beberapa batu didih dan HNO₃ secukupnya untuk menyempurnakan oksidasi zat organik (±7 ml/g sampel yang digunakan). Ditambahkan pula 5 ml H₂SO₄ sambil diaduk perlahan. Panaskan perlahan-lahan dengan panas rendah selama 5-10 menit sampai timbul asap tebal.

Matikan pemanas dan dinginkan larutan. Panaskan lagi larutan dengan panas rendah selama 5-10 menit sampai timbul asap putih tebal (H₂SO₄). Besarkan panas dan lanjutkan pemanasan selama 1-2 menit. Larutan pada tahap ini tidak berwarna atau kuning muda jika mengandung besi. Jika diperkirakan masih mengandung karbon, tambahkan 1-2 ml HNO₃ dan dipanaskan. Didinginkan dan encerkan sampai volume tertentu dengan menggunakan akuades.

Pindahkan larutan abu ke dalam labu takar. Tepatkan sampai tanda tera dengan akuades. Campur sampai merata. Larutan standar dibuat dengan cara mengencerkan larutan stok besi standar dengan akuades sampai konsentrasinya berada dalam kisaran kerja logam besi.

Konsentrasi total zat besi dapat dihitung dengan rumus berikut:

Kadar besi (mg/1000 g atau ppm basis basah/bb) =

$$\frac{(a - b) \times \text{volume aliquot (ml)} \times \text{fp}}{w}$$

Keterangan:

a = konsentrasi larutan sampel (ppm atau $\mu\text{g/ml}$)

b = konsentrasi larutan blanko (ppm atau $\mu\text{g/ml}$)

fp = faktor pengenceran

w = berat sampel (g)

Perlakuan dan Rancangan Percobaan

Pelakuan yang diberikan pada penelitian tahap pendahuluan adalah jenis zat besi yang ditambahkan, yaitu ferro fumarat dan ferro sulfat heptahidrat dengan tiga tingkat konsentrasi, yaitu 1000, 1500 dan 2000 ppm. Perlakuan pada penelitian tahap lanjutan adalah lama penyimpanan, yaitu 0, 2, 4 dan 6 minggu untuk bumbu dengan tingkat konsentrasi zat besi terpilih pada masing-masing jenis zat besi. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap Faktorial 2 x 4 dengan dua kali ulangan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Komposisi Kimia Bumbu Mi Instan

Analisis kimia bumbu mi komersial yang digunakan meliputi kadar air, protein, dan zat besi. Komposisi kimia bumbu mi instan ditampilkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi kimia bumbu mi instan sebelum fortifikasi

Komposisi Kimia	Kadar
Air	1.30 ± 0.06%
Protein	6.20 ± 0.17%
Zat besi	28.88 ± 5.24 ppm

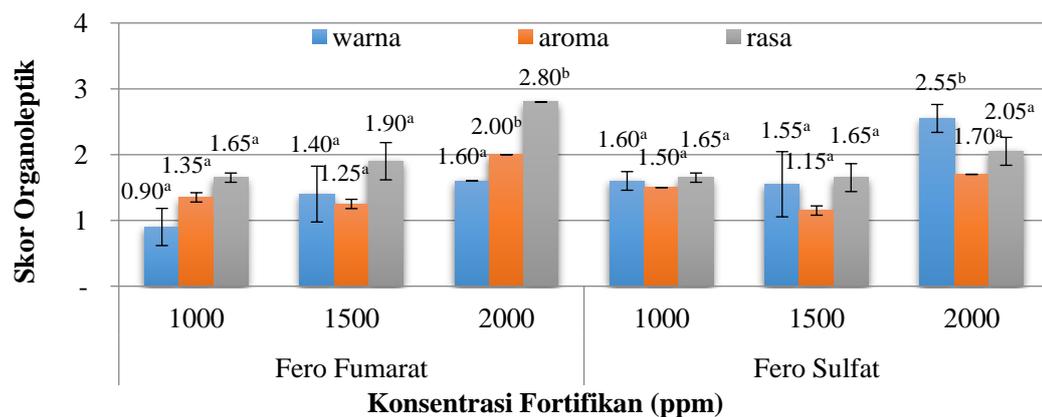
Bumbu mi instan komersial diproduksi secara massal dengan kondisi yang lebih terkontrol sehingga menghasilkan produk dengan kualitas yang lebih baik. Kadar air bumbu mi komersial yang rendah memberikan keuntungan karena tidak mempengaruhi fortifikan yang ditambahkan dan umur simpannya bisa lebih lama. Tetapi bumbu mi komersial juga bersifat higroskopis sehingga selama proses penanganannya membutuhkan kehati-hatian.

Fortifikasi Zat Besi

Fortifikasi bumbu mi instan dilakukan dengan dua jenis fortifikan yaitu fero fumarat/FF ($C_4H_2FeO_4$) atau fero sulfat heptahidrat/FS ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$). Kedua jenis fortifikan ini dipilih karena banyak terdapat di pasaran, harganya relatif lebih murah dibandingkan jenis fortifikan zat besi lain serta bioavailabilitasnya yang telah diketahui cukup tinggi (Hurrell dan Cook 1990), sehingga penerapannya pada industri pangan secara massal akan lebih mudah.

Menambahkan fortifikan ke dalam bumbu memiliki keuntungan dibandingkan ke dalam tepung untuk mi instan, antara lain fortifikan tidak terpapar oleh panas dan air seperti selama proses pembuatan mi, serta fortifikan akan terlindung lebih baik dalam kemasan terpisah.

Tingkat konsentrasi fortifikan terpilih adalah yang berdasarkan analisis sidik ragam dan Uji Tukey masih dinilai sama dengan kontrol oleh panelis pada semua atribut yang diuji. Hasil uji organoleptik menunjukkan bahwa perbedaan warna, aroma dan rasa bumbu mi terfortifikasi dengan kontrol semakin meningkat dengan semakin meningkatnya konsentrasi fortifikan, baik fero fumarat maupun fero sulfat (Gambar 1). Tetapi tingkat perbedaan sampel dengan kontrol tidak melebihi skor tiga yang artinya tidak berbeda jauh dengan kontrol.



Gambar 1. Mutu organoleptik warna, aroma dan rasa bumbu mi dengan penambahan fortifikan fero fumarat atau fero sulfat pada berbagai konsentrasi. Skor organoleptik 0/tidak berbeda dengan kontrol, sampai dengan 10/amat sangat berbeda dengan kontrol. Error bar menunjukkan standar deviasi. Huruf yang sama menunjukkan bahwa secara statistik skor organoleptik tidak berbeda.

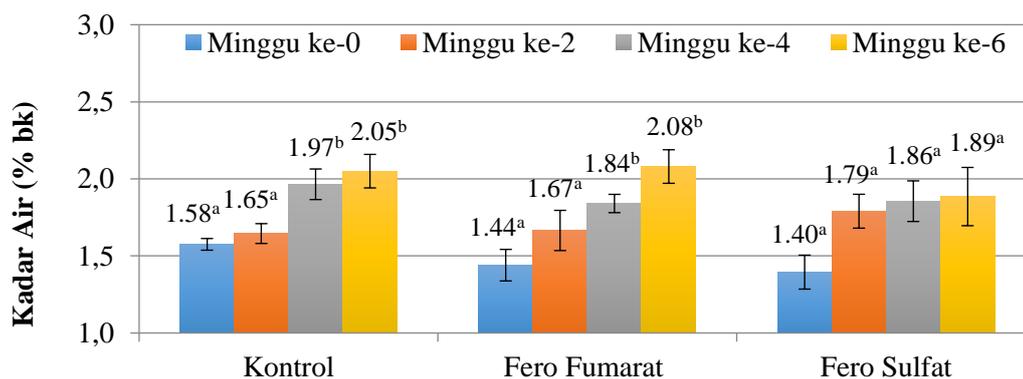
Berdasarkan hasil uji statistik di atas maka diputuskan bumbu mi instan tersebut dapat difortifikasi dengan FS atau FF sampai 1500 ppm (1.48 g/kg atau 5.92 mg/4 g bumbu). Meskipun terdapat perbedaan antara bumbu mi yang difortifikasi dengan bumbu mi kontrol, secara keseluruhan bumbu mi masih diterima oleh panelis.

Penyimpanan Bumbu Mi

Bumbu mi instan yang disimpan telah difortifikasi dengan FF atau FS dengan konsentrasi 1500 ppm (1.48 g/kg atau 5.92 mg/4 g bumbu). Bumbu mi yang tidak difortifikasi juga disimpan sebagai kontrol. Bumbu mi dikemas masing-masing sebanyak empat gram menggunakan kemasan alumunium berlapis polietilen yang biasa digunakan sebagai pembungkus bumbu mi instan komersial. Penyimpanan dilakukan selama enam minggu pada suhu ruang di atas nampan terbuka dengan pengamatan berkala setiap dua minggu.

Kadar Air

Kadar air bumbu mi meningkat selama penyimpanan (Gambar 2). Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa lama penyimpanan berpengaruh nyata terhadap kadar air bumbu mi, tetapi jenis fortifikan yang ditambahkan tidak berpengaruh nyata terhadap kadar air bumbu mi. Tidak ada interaksi antara jenis fortifikan dan lama penyimpanan bumbu.

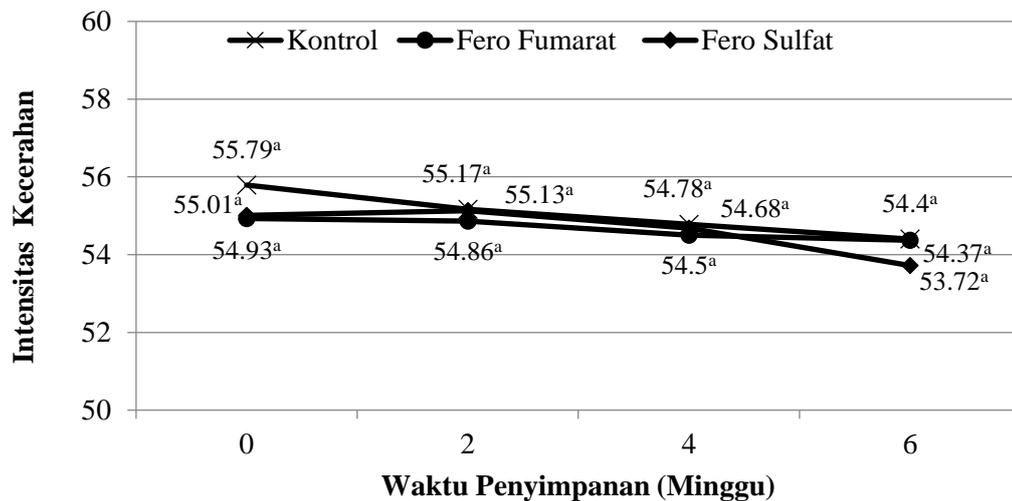


Gambar 21. Kadar air bumbu mi kontrol dan terfortifikasi selama penyimpanan. Error bar menunjukkan standar deviasi. Huruf yang sama menunjukkan bahwa secara statistik nilai kadar air tidak berbeda.

Kadar air merupakan penentu kualitas bumbu mi instan, selain kandungan material asing seperti serangga, bakteri dan/atau kapang (Fabrizio *et al.* 2010). Bumbu mi komersial dengan kadar air yang rendah bersifat higroskopis. Kadar air juga merupakan titik kritis yang digunakan sebagai penentu umur simpan bumbu mi karena menyebabkan penggumpalan sehingga bumbu mi tidak lagi diterima oleh konsumen. Untuk menghindari penggumpalan bumbu mi umumnya ditambahkan bahan anti-kempal seperti silikon dioksida yang ditambahkan sejumlah $\leq 1\%$ (Fabrizio *et al.* 2010). Kadar air selama penyimpanan. Peningkatan kadar air akibat terjadinya transmisi uap air melalui bahan pengemas bumbu, terutama karena Indonesia memiliki suhu udara (24-32°C) dan nilai RH (70-98%) yang relatif tinggi.

Warna Bumbu Mi Secara Objektif

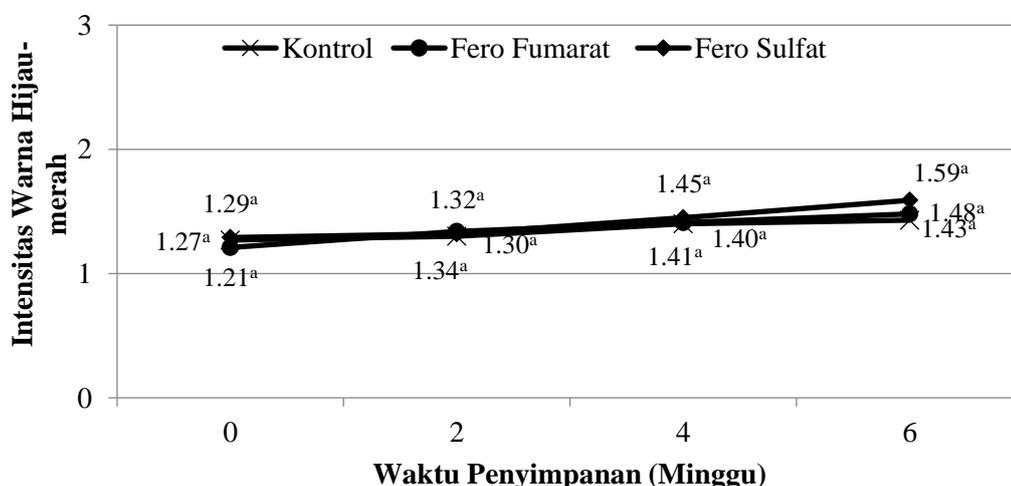
Warna bumbu mi instan komersial secara visual adalah krem muda. Penambahan fortifikan tidak mempengaruhi warna bumbu mi. Hal ini terlihat dari intensitas kecerahan, warna hijau-merah dan warna biru-kuning bumbu mi terfortifikasi yang tidak berbeda dengan kontrol. Warna bumbu mi baik kontrol maupun yang difortifikasi stabil selama penyimpanan. Secara visual tidak ada perubahan warna mencolok yang teramati (Gambar 3, 4, dan 5).



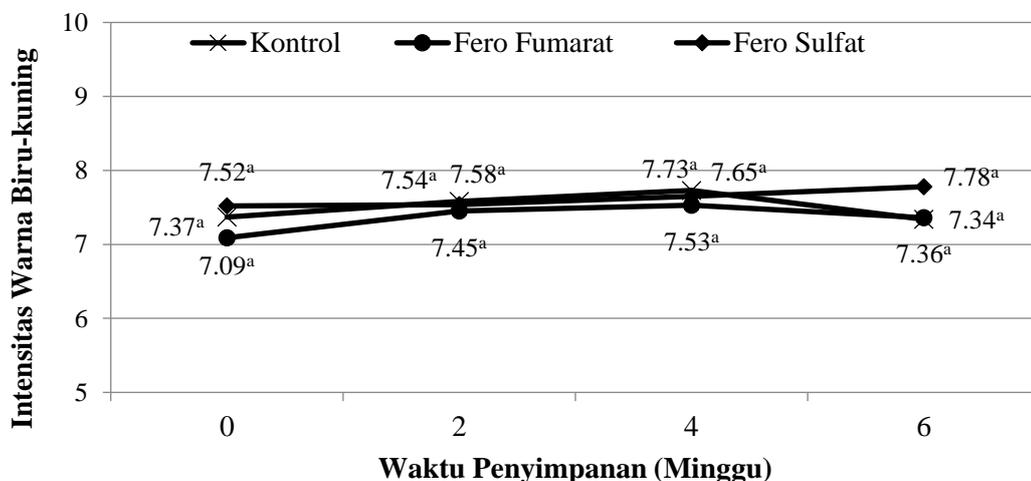
Gambar 3. Intensitas kecerahan bumbu mi selama penyimpanan. Huruf yang sama menunjukkan bahwa secara statistik nilai kecerahan tidak berbeda.

Mutu Organoleptik Warna dan Aroma

Hasil uji organoleptik menunjukkan bahwa secara subjektif warna dan aroma bumbu mi baik kontrol maupun yang difortifikasi stabil selama penyimpanan (Gambar 6 dan 7). Warna dan aroma bumbu mi yang difortifikasi sama dengan kontrol sampai akhir penyimpanan. Hasil uji organoleptik ini juga mengkonfirmasi hasil uji warna menggunakan kromameter yang menunjukkan bahwa warna bumbu mi stabil selama penyimpanan.

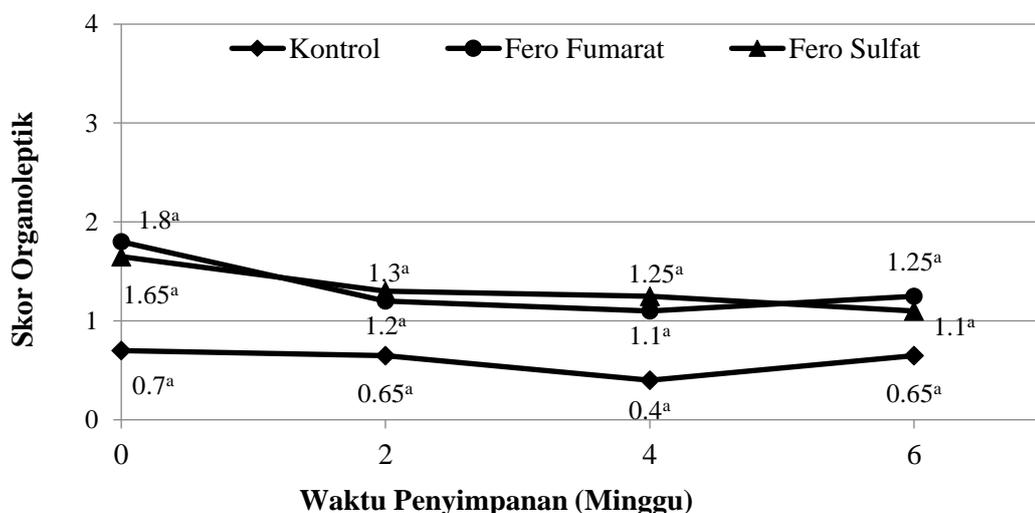


Gambar 4. Intensitas warna hijau-merah bumbu mi selama penyimpanan. Huruf yang sama menunjukkan bahwa secara statistik nilai warna hijau-merah tidak berbeda.

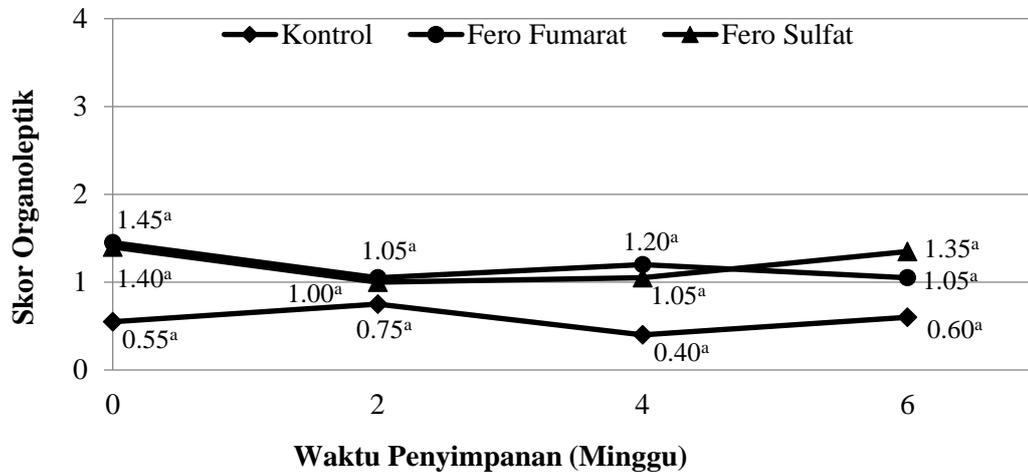


Gambar 5. Intensitas warna biru-kuning bumbu mi selama penyimpanan. Huruf yang sama menunjukkan bahwa secara statistik nilai warna biru-kuning tidak berbeda.

Sifat sensori produk pangan sangat penting untuk menentukan pilihan bagi konsumen, terutama atribut warna yang merupakan kesan pertama yang ditangkap oleh konsumen. Senyawa besi larut air seperti fero sulfat pada umumnya mudah menimbulkan warna dan cita rasa yang tidak dapat diterima pada pangan yang difortifikasi. Senyawa fero sulfat menimbulkan rasa logam, terutama pada produk pangan cair seperti jus buah (Hurrell 2002). Senyawa besi seperti fero fumarat yang kurang larut air sebaliknya menyebabkan sedikit atau tidak ada perubahan warna dan cita rasa pada pangan pembawa fortifikan.



Gambar 6. Perubahan warna bumbu mi secara organoleptik selama penyimpanan. Skor organoleptik 0/tidak berbeda dengan kontrol, sampai dengan 10/amat sangat berbeda dengan kontrol. Huruf yang sama menunjukkan bahwa secara statistik warna bumbu mi tidak berbeda.



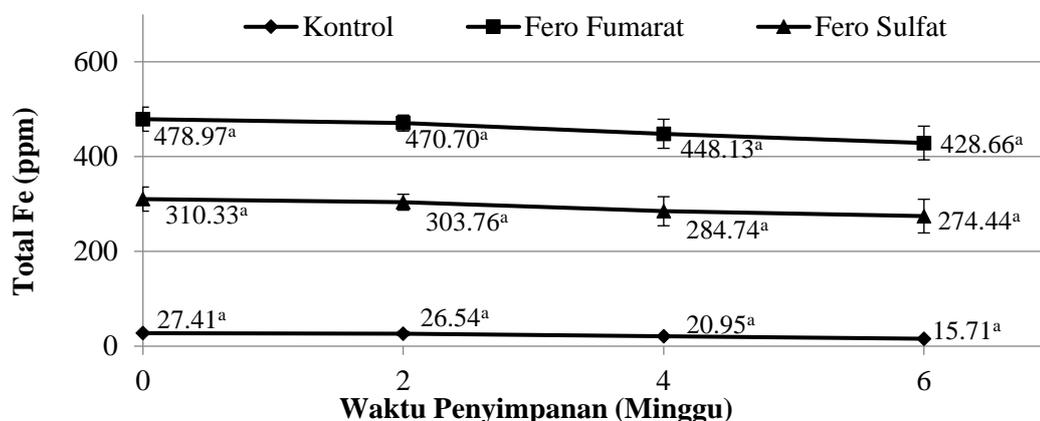
Gambar 7. Perubahan aroma bumbu mi secara organoleptik selama penyimpanan. Skor organoleptik 0/tidak berbeda dengan kontrol, sampai dengan 10/amat sangat berbeda dengan kontrol. Huruf yang sama menunjukkan bahwa secara statistik aroma bumbu mi tidak berbeda.

Kadar Zat Besi Total

Fortifikasi bumbu mi dengan FF atau FS sebesar 1500 ppm dapat meningkatkan kandungan zat besi total bumbu mi sebesar kurang lebih 11-17 kali lipat dibandingkan bumbu mi yang tidak difortifikasi. Kadar zat besi total stabil selama penyimpanan baik pada bumbu mi kontrol maupun yang difortifikasi dengan FF atau FS (Gambar 8). Kadar zat besi total minggu ke-0 pada bumbu mi yang difortifikasi dengan FF menurut hasil analisis adalah 478.97 ppm sedangkan untuk FS adalah 310.33 ppm. Jika dihitung berdasarkan berat molekul, maka kadar zat besi pada FF adalah 494.12 ppm sedangkan pada FS adalah 302.16 ppm. Adanya perbedaan kadar zat besi antara perhitungan dan hasil analisis dapat disebabkan oleh perbedaan tingkat kemurnian fortifikan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa fortifikan yang ditambahkan mempengaruhi kadar zat besi bumbu mi tetapi selama penyimpanan kadar zat besi total tidak berubah secara signifikan. Fortifikasi pada tepung gandum utuh dan sejenis roti pita (*naan*) dengan fero sulfat yang dilakukan oleh Alam *et al.* (2007) menunjukkan bahwa selama 60 hari penyimpanan kandungan total zat besi tidak berubah secara signifikan. Hasil yang sejalan juga dikemukakan oleh Watanapaisantrakul *et al.* (2006) yang menyatakan bahwa kandungan zat besi

total pada kecap dengan berbagai jenis fortifikan tidak berubah selama tiga bulan penyimpanan.

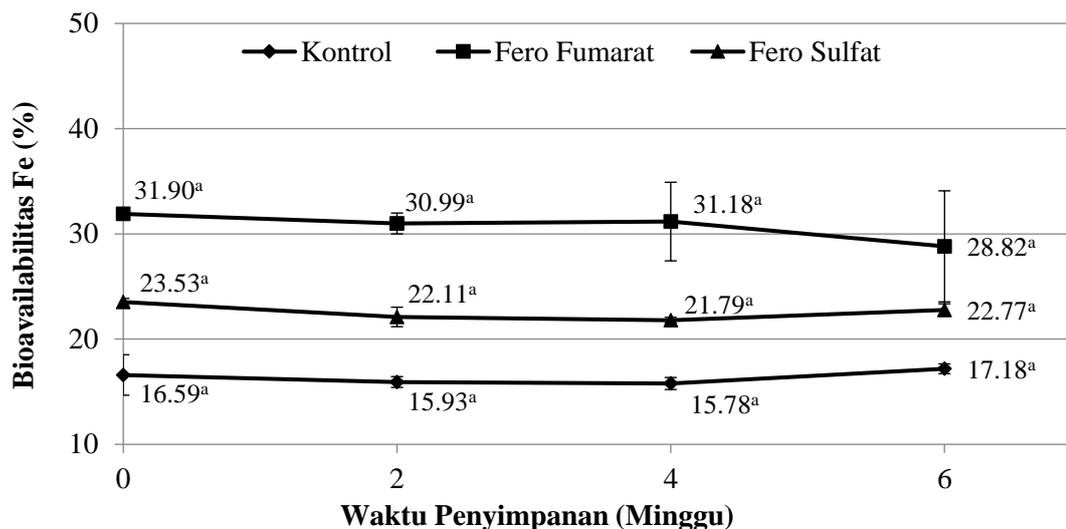


Gambar 8. Perubahan kadar zat besi total bumbu mi selama penyimpanan. Error bar menunjukkan standar deviasi. Huruf yang sama menunjukkan bahwa secara statistik nilai kadar zat besi total tidak berbeda.

Bioavailabilitas Zat Besi

Bioavailabilitas merupakan faktor penting dalam bidang nutrisi karena variasinya pada produk pangan, komponen pangan dan kondisi gastrointestinal yang berbeda (Haro-Vicente *et al.* 2006). Pengukuran bioavailabilitas dilakukan secara *in vitro*. Pengukuran secara *in vitro* dapat memperkirakan bioavailabilitas zat besi makanan pada manusia lebih akurat dibandingkan penelitian dengan tikus. Metode *in vitro* mengevaluasi produk pangan berdasarkan larutan besi kimia sehingga tidak dipengaruhi oleh perbedaan antar individu atau status gizi besi individu yang bersangkutan. Keuntungan lain metode *in vitro* adalah karena merupakan metode kimia, maka tingginya variasi alami pada sistem biologi dapat dikurangi. Selain itu, dapat dilakukan dalam waktu yang cepat dengan biaya yang relatif lebih murah dibandingkan metode *in vivo* (Schricker *et al.* 1981).

Hasil analisis menunjukkan bahwa selama penyimpanan, bioavailabilitas zat besi tidak berubah secara signifikan (Gambar 9). Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa waktu penyimpanan tidak berpengaruh nyata terhadap bioavailabilitas zat besi, tetapi jenis fortifikan berpengaruh nyata terhadap bioavailabilitas zat besi. Hal ini berarti bahwa jenis fortifikan yang berbeda memiliki bioavailabilitas *in vitro* zat besi yang berbeda, tetapi waktu penyimpanan sampai enam minggu tidak mempengaruhi bioavailabilitas *in vitro* zat besi.



Gambar 9. Perubahan bioavailabilitas *in vitro* zat besi bumbu mi selama penyimpanan. Error bar menunjukkan standar deviasi. Huruf yang sama menunjukkan bahwa secara statistik nilai bioavailabilitas zat besi tidak berbeda.

Jika dihitung bioavailabilitas rata-rata fortifikan fero fumarat adalah 30.7% dan fero sulfat 22.5% dan jumlah konsumsi Fe dari 1 bungkus bumbu mi adalah 1.82 mg, maka jumlah Fe yang terserap adalah 0.56 mg untuk fero fumarat dan 0.41 mg untuk fero sulfat. Kebutuhan harian zat besi yang secara fisiologis digunakan oleh tubuh adalah 1-2 mg per hari. Dengan tingkat penyerapan tersebut berarti kebutuhan harian dapat terpenuhi 20-25%. Tingkat penyerapan Fe masing-masing orang dapat berbeda tergantung kondisi fisiologis.

Fero fumarat merupakan senyawa besi yang sulit larut dalam air tetapi larut dalam asam encer seperti asam lambung dan dapat diserap sama baiknya dengan fero sulfat oleh orang dewasa (Hurrel *et al.* 1991; Fidler *et al.* 2003). Tingkat bioavailabilitas fero fumarat lebih tinggi dibandingkan dengan fero sulfat disebabkan konsentrasi zat besi dalam 1500 ppm fero fumarat lebih tinggi dibandingkan dalam 1500 ppm fero sulfat. Penelitian yang dilakukan oleh Prom-u-thai (2009) tentang fortifikasi zat besi pada beras pra-tanak menyatakan bahwa ada korelasi positif antara penyerapan zat besi dan konsentrasi total zat besi pada sampel beras yang diuji. Semakin tinggi konsentrasi zat besi maka semakin tinggi pula penyerapan zat besi tersebut. Disebutkan juga bahwa senyawa besi yang larut air lebih mudah diserap dibandingkan yang kurang larut air, akan tetapi zat besi larut air juga lebih mudah bereaksi dengan senyawa lain sehingga dapat mempengaruhi bioavailabilitasnya. Fero sulfat merupakan senyawa besi yang lebih larut air dibandingkan fero fumarat sehingga kemungkinan fero sulfat yang lebih reaktif tersebut bereaksi dengan senyawa lain termasuk senyawa anti-nutrisi yang ada pada bumbu mi seperti fitat atau tanin sehingga bioavailabilitasnya lebih rendah.

Ukuran partikel dari fero fumarat yang jauh lebih kecil dibandingkan dengan fero sulfat juga mempengaruhi penyerapannya. Pada beberapa penelitian sebelumnya juga telah diketahui bahwa ukuran partikel fortifikan mempengaruhi penyerapan zat besi (Fidler *et al.* 2004; Haro-Vicente *et al.* 2006). Perubahan bioavailabilitas zat besi selama penyimpanan disebabkan oleh oksidasi zat besi dari bentuk fero (Fe^{2+}) menjadi feri (Fe^{3+}) yang lebih rendah bioavailabilitasnya karena meningkatnya kadar air selama penyimpanan (Alam *et al.* 2007; Prom-u-thai *et al.* 2010).

KESIMPULAN

Fotifikasi bumbu mi instan komersial menggunakan fero fumarat atau fero sulfat dapat dilakukan sampai konsentrasi 1500 ppm atau sebesar 5.92 mg fortifikan per bungkus bumbu mi. Pada konsentrasi tersebut sifat sensori bumbu mi seperti warna, aroma dan rasa dinilai sama dengan bumbu mi yang tidak difortifikasi oleh panelis. Penambahan fortifikan tidak mempengaruhi kelarutan bumbu mi.

Kadar air bumbu mi mengalami peningkatan selama enam minggu penyimpanan tetapi jenis fortifikan tidak mempengaruhi peningkatan kadar air. Tidak tampak adanya penggumpalan pada bumbu mi sampai akhir penyimpanan. Warna bumbu mi yang diukur dengan kromameter stabil selama penyimpanan. Penambahan fortifikan tidak mempengaruhi warna bumbu mi. Secara visual tidak ada perubahan warna yang teramati setelah enam minggu penyimpanan. Warna dan aroma bumbu mi secara subjektif baik kontrol maupun yang difortifikasi stabil selama penyimpanan dan tetap dinilai sama dengan kontrol. Kadar zat besi total dan bioavailabilitas zat besi selama penyimpanan tidak mengalami perubahan yang signifikan baik pada bumbu mi kontrol maupun yang difortifikasi dengan fero fumarat atau fero sulfat.

Berdasarkan kandungan zat besi yang masih ada di dalam bumbu mi instan dan nilai bioavailabilitasnya selama penyimpanan, penggunaan fero fumarat sebagai fortifikan pada bumbu mi instan komersial lebih baik dibandingkan fero sulfat heptahidrat.

DAFTAR PUSTAKA

- Alam S, Shah H, Saleemullah, Riaz A. 2007. Comparative studies on storage stability of ferrous iron in whole wheat flour and flat bread (*naan*). *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 58(1): 54-62.
- AOAC. 1997. *Official Method of Analysis of The Association of Official Agricultural Chemistry*. Washington DC: Association of Official Agricultural Chemistry.
- Apriyantono A, Fardiaz D, Puspitasari NL, Sedarnawati, Budiyanto S. 1989. *Analisis Pangan*. Bogor: IPB Press.

- Aritonang E. 2007. Pengaruh Pemberian Mi Instan Fortifikasi pada Ibu Menyusui Terhadap Kadar Seng dan Besi ASI serta Pertumbuhan Linear Bayi. [Desertasi]. Bogor: Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Fabrizio K, Potineni R, Gray K. 2010. Instant Noodle Seasoning. Di dalam: Hou GG. Editor. *Asian Noodles: Science, Technology, and Processing*. Canada: John Wiley & Sons Inc.
- Fidler MC, Davidsson L, Zeder C, Walczyk T, Hurrell RF. 2003. Iron absorption from ferrous fumarate in adult women is influenced by ascorbic acid but not by Na₂EDTA. *British Journal of Nutrition*. 90: 1081-1085.
- Fidler MC, Walczyk T, Davidsson L, Zeder C, Sakaguchi N, Juneja LR. 2004. A micronised, dispersible ferric pyrophosphate with high relative bioavailability in man. *British Journal of Nutrition*. 91: 107-112.
- Food and Nutrition Board, Institute of Medicine. 2001. *Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc*. Washington, DC: National Academies Press.
- Haro-Vicente JF, Martínez-Graciá C, Ros G. 2006. Optimization of in vitro measurement of available iron from different fortificants in citric fruit juices. *Journal of Food Chemistry*. 98: 639-648.
- HunterLab. 2008. *CIE L*a*b* Color Scale*. Applications Note Vol. 8 No. 7. Virginia.
- Hurrell RF, Cook JD. 1990. Strategies for iron fortification of foods. *Trends in Food Science & Technology*. 1: 56-61.
- Hurrell RF, Reddy MB, Dassenko SA, Cook JD. 1991. Ferrous fumarate fortification of a chocolate drink powder. *Br. J. Nutr.* 65: 271-283.
- Hurrell RF. 2002. How to ensure adequate iron absorption from iron fortified food. *Nutrition Reviews*. 60: 7S-15S.
- Marliyati SA. 1995. Pengaruh Pengeringan Terhadap Kadar Senyawa Antinutrisi yang Mempengaruhi Ketersediaan Zat Besi Serta Fortifikasi Zat Besi Pada Rempah-rempah. [Tesis]. Bogor: Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Palupi NS. 1995. Pengaruh Fortifikasi Zat Besi Pada Berbagai Bumbu Mi Instan Terhadap Ketersediaan Zat Besi *In vitro*. [Tesis]. Bogor: Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Prasetyawati RC. 2006. Pendugaan Umur Simpan, Stabilitas Serta Pengujian Biologis Kecap dan Saus Cabe yang Difortifikasi dengan Iodium, Zat Besi dan Vitamin A. [Tesis]. Bogor: Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Prom-u-thai C, Glahn RP, Cheng Z, Fukai S, Rerkasem B, Huang L. 2009. The bioavailability of iron fortified in whole grain parboiled rice. *J. Food Chemistry*. 112: 982-986.
- Prom-u-thai C, Rerkasem B, Fukai Shu, Huang L. 2010. Key factors affecting Fe density in Fe-fortified-parboiled rice: Parboiling conditions, storage duration, external Fe-loading rate and genotypic differences. *J. Food Chemistry*. 123: 628-634.

- Sartika D. 2003. Pengaruh Penambahan Zat Besi pada Bihun yang Diformulasi dari Beras dengan Suplementasi Kedelai Terhadap Nilai Biologis Protein dan Retensi Zat Besi *In Vivo*. [Tesis]. Bogor: Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Sayuti K. 2002. Profil Biokimia Darah Ibu Hamil yang Diberi *Cookies* Difortifikasi Zat Besi, Asam Folat, Vitamin A, Vitamin C, Seng dan Iodium. [Desertasi]. Bogor: Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Soeid NLS. 2005. Fortifikasi Ganda Garam dengan Iodium dan Besi: Pengembangan Formula, Uji Stabilitas, Bioavailabilitas dan Efikasi. [Desertasi]. Bogor: Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Schricker BR, Miller DD, Rasmussen RR, Van Campen D. 1981. A comparison of in vivo and in vitro methods for determining availability of iron from meals. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 34: 2257-2263.
- Watanapaisantrakul R, Chavasit V, Kongkachuichai R. 2006. Fortification of soy sauce using various iron sources: Sensory acceptability and shelf stability. *Food and Nutrition Bulletin*. Vol. 27 No. 1.
- Widayani S. 2007. Efikasi dan Preferensi Biskuit yang Difortifikasi Vitamin A dan Zat Besi dan Kaitannya dengan Konsentrasi, Status Gizi dan Respon Imun Anak Balita. [Desertasi]. Bogor: Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Wolfgor R, Drago SR, Rodriguez V, Pellegrino NR, Valencia ME. 2002. In vitro measurement of available iron in fortified foods. *Food Research International*. 35: 85-90.
- World Health Organization. 2015. The Global Prevalence Of Anaemia In 2011. Geneva, Switzerland.